

CanAg CA15-3 EIA



肿瘤相关抗原 CA15-3 测定试剂盒（酶联免疫法）

【产品名称】

通用名称：肿瘤相关抗原 CA15-3 测定试剂盒（酶联免疫法）

英文名称：CanAg CA15-3 EIA

【包装规格】

96 人份/盒

【预期用途】

本产品用于体外定量检测人血清中 CA15-3 抗原的含量。

本产品可用于确认为乳腺癌患者的动态监测以辅助判断疾病进程或治疗效果。CA15-3 浓度的高低与肿瘤的大小、生长、恶性程度以及分级/分期并无直接关系，不宜用于一般人群的肿瘤筛查、早期诊断等用途。

【检验原理】

肿瘤相关抗原 CA15-3 测定试剂盒（酶联免疫法）采用直接夹心技术基础上的固相、非竞争性检测法。标准品，质控品，病人标本与生物素标记的抗 CA15-3 抗体以及辣根过氧化物酶标记的抗 CA15-3 示踪液，在链霉亲和素包被的微孔中一起温育。清洗后，加入底物/显色缓冲液（过氧化氢和 3,3',5,5'-四甲基联苯胺）使其发生酶反应。如果血清中存在抗原，就会显示为蓝色。颜色的深度与标本中的 CA15-3 浓度呈正比。

颜色的深度可用酶标仪在 620nm（也可选择加入终止液后在 405 nm）进行检测。每次试验均需根据每个标准液的浓度与其相对应的吸光度绘制标准曲线，病人标本中的 CA15-3 浓度即可从标准曲线上读出。

【主要组成成份】

1. 微孔板

链霉亲和素包被的微孔板 1 个

12×8，链霉亲和素包被的微孔板，可拆分。打开包装后，应立即将未用的微孔板条放入装有干燥剂的铝箔袋中，密封并保持干燥。

2. 标准品 5 瓶

标准品 0 0U/mL 1×0.75mL

标准品 15 15U/mL 1×0.75mL

标准品 50 50U/mL 1×0.75mL

标准品 125 125U/mL 1×0.75mL

标准品 250 250U/mL 1×0.75mL

直接使用，保存在 Tris-盐酸缓冲液中，内含牛血清白蛋白，惰性黄染料及作为防腐剂的 0.01% 甲基-异噻唑酮（MIT）。标准品浓度标示在瓶上标签，由于没有适合于 CA15-3 抗原的标准的参考品，我公司建立了一套自己的室内质控标准品来标定肿瘤相关抗原 CA15-3 测定试剂盒（酶联免疫法）中的标准品的值。

3. 质控品 2 瓶

质控品 1 1×0.75mL

质控品 2 1×0.75mL

直接使用，保存在 Tris-盐酸缓冲液中，内含牛血清白蛋白，作为防腐剂的 0.01% 甲基-异噻唑酮（MIT）。质控品允许范围标示在瓶上标签，不同批号其允许范围不同。

4. 生物素标记的抗-糖类抗原 15-3 抗体 1×15mL

生物素标记的抗 CA15-3 鼠单克隆抗体，浓度约为 2.5g/mL。其中含磷酸盐缓冲液（pH 7.2），牛血清白蛋白，封闭剂，吐温，惰性蓝染料及作为防腐剂的 0.01% 甲基-异噻唑酮（MIT）。使用前，与 HRP 标记的抗 CA15-3 示踪液混合。

5. 示踪液，辣根过氧化物酶标记的抗-糖类抗原 15-3 抗体 1×0.75mL

含 HRP 标记的鼠抗 CA15-3 单克隆抗体的浓缩液，浓度约 50g/mL。使用前用生物素标记的抗-CA15-3 溶液稀

CanAg CA15-3 EIA



释。

6. 样品稀释液 2×50mL

直接使用，保存在 Tris-盐酸缓冲液中，内含牛血清白蛋白，惰性黄染料及作为防腐剂的 0.01% 甲基-异噻唑酮（MIT）。如果需要订购样品稀释液，CA15-3 样品稀释液的订货号为 200-24。

7. 底物液 1×12mL

直接使用。含过氧化氢缓冲液和 3,3',5,5' 四甲基联苯胺（TMB）。

8. 终止液 1×15mL

直接使用。含 0.12M 盐酸。

9. 清洗浓缩液（25×） 1×50mL

使用前 25 倍稀释。此溶液为吐温 20 的 Tris-HCl，Germall II 作为防腐剂。

试剂盒中除底物液，终止液及清洗液，其它组分不同批号间不可互换。

不稳定性说明

TMB HRP 缓冲液应该为无色或呈很浅的蓝色。溶液完全变为蓝色则提示试剂被污染了，应丢弃，禁止使用。

【储存条件及有效期】

试剂盒贮存于+2℃~+8℃，避免冷冻，有效期为 18 个月。生产日期及使用期限见标签。

【适用仪器】

1. 微板振荡器

振荡强度应从弱到强。纵向振动约 200 次/分钟，摆动 700-900 次/分钟。

2. 洗板机

带有一个真空泵或喷水真空泵和一个回水槽或半自动微孔板清洗，可循环清洗 1 次及 6 次的自动清洗器。

如果没有全自动洗板机，推荐 Nunc Immunno-8 手动洗板机。

3. 酶标仪

波长 620 nm 和/或 405nm，可读吸光度范围 0-3.0 的酶标仪。

4. 移液器

用一次性塑料吸头的可移液 25μL，50μL，100μL 及 1mL 的精密移液器。最好使用 8 道的 100μL 精密移液器，但非必需。

【样本要求】

CanAg CA15-3 EIA 试剂盒用于检测血清标本。静脉穿刺采血，常规分离血清（可室温下静置 20-30 分钟或 800-1000rpm 离心 10 分钟）。标本在+2℃至+8℃可贮存 24 小时。长期保存可在-70℃存放。冷冻仅限一次。冷冻标本可在+2℃至+8℃过夜缓融。检测前将标本恢复到室温。

【检验方法】

试剂配制

配制试剂	配制试剂的稳定性
清洗液	+2℃至+25℃ 在密闭容器中 2 周
将 50mL 浓缩的清洗液倒入洁净的容器中，加入 1200mL 蒸馏水或去离子水，25 倍稀释后则为所需的清洗液。	
抗体溶液	+2℃至+8℃ 3 周
根据所需要的量配制抗体溶液。每条微孔板所需的量为 50μL 示踪液（HRP 标记的抗 CA15-3）和 1mL 生物素标记的抗 CA15-3 溶液混合。	

CanAg CA15-3 EIA

板条数	示踪液, HRP 标记的抗 CA15-3 (μL)	生物素标记的 CA15-3 (mL)
1	50	1
2	100	2
3	150	3
4	200	4
5	250	5
6	300	6
7	350	7
8	400	8
9	450	9
10	500	10
11	550	11
12	600	12

确保使用洁净的塑料瓶或玻璃瓶配制抗体液。

替代方法: 将示踪液倒入生物素标记的抗 CA15-3 小瓶中并轻轻混匀。注意要将示踪液全部倒入生物素标记的抗 CA15-3 小瓶中。

注意: 稀释好的示踪液可于+2°C至+8°C存放 3 周。不要配制多于在此期间所能使用的示踪液, 并且确保正确贮存示踪液。

检测流程

每次均应复孔检测标准液和患者标本。

每次检测均应绘制标准曲线。

检测前所有的试剂和血清标本均应平衡至室温 (+20°C至+25°C)。

- 按照产品说明书准备清洗液及示踪工作液。使用洁净的容器是非常必要的。
- 用标本缓冲液 1: 41 稀释血清标本, 25 μL 血清加入 1mL 标本缓冲液。注意: 标准品及质控品直接使用。
- 将所需的微孔板条移至板条架上 (剩余的未使用的板条放回塑料袋中并密封好)。在 30 分钟内用清洗液清洗一次微孔板条。
- 按照以下的加样方案分别滴加 25 μL 的 CA15-3 标准品 (CAL 0, 15, 50, 125, 250), CA15-3 质控品 (C1, C2) 及稀释过的患者标本 (未知浓度-Unk) 至微孔中。

	1	2	3	4	5	6	7etc.
A	Cal 0	Cal 250	2 nd Unk				
B	Cal 0	Cal 250	2 nd Unk				
C	Cal 15	C1	etc.				
D	Cal 15	C1					
E	Cal 50	C2					
F	Cal 50	C2					
G	Cal 125	1 st Unk					
H	Cal 125	1 st Unk					

- 用 100 μL 精密移液器 (或 8 道 100 μL 精密移液器) 吸取 100 μL 抗体溶液加入每一孔中。精密移液器的吸头要稍高于孔的底端, 避免触及塑料微孔或液面。
- 微孔板振荡器上室温 (+20°C至+25°C) 振荡反应 2 小时 (± 5 分钟)。
- 温育后将孔内液体吸干, 清洗 6 次。按照操作程序注意事项中第四步所描述的清洗方法进行。

CanAg CA15-3 EIA



- 同步步骤 4，每孔中加入 100 μ L TMB HRP-底物液。加液速度越快越好，从第一孔到最后一孔的加液时间不要超过 5 分钟。
- 微孔板振荡器上室温（+20 $^{\circ}$ C 至 +25 $^{\circ}$ C）闭光振荡反应 30 分钟（ \pm 5 分钟）。
- 立刻在 620nm 的酶标仪上测定吸光度。

替代方法 1

如果实验室的酶标仪不能测定 620nm，可选择以下步骤测定。

加入 100 μ L HRP 终止液，15 分钟内在酶标仪 405nm 测定吸光度。

质量控制

为建议使用内部质控品以确保每次检测结果的准确性，每个质控品的可接受范围标示在瓶子的标签上。如果质控品的值超出了标示的范围，应确认试剂和酶标仪是否正确，并重新试验。推荐实验室建立自己的不同水平的血清库作为内部质控品。

结果计算

最好使用能进行数据处理的酶标仪。根据 CA15-3 标准品的浓度建立一个程序。推荐采用下列方法之一进行 CA15-3 自动结果计算：

- 3 次方拟合曲线法，标准曲线应包括标准品 0（0U/mL）。
- 拟合平滑曲线法，标准液品 0（0U/mL）应作为微孔板的空白对照。
- 点对点内插估算法，标准曲线应包括标准品 0（0U/mL）。
- 二项式拟合曲线法，标准曲线应包括标准品 0（0U/mL）。

注意：不能采用 4 参数或线性回归的计算方法。

手工计算方法：用 CA15-3 标准品的浓度（U/mL）与其对应的吸光度（A）作标准曲线（见下图）。每个患者标本中的未知的 CA15-3 浓度可根据其平均光吸收值就可以从标准曲线上读出。

如果初次检验标本的 CA15-3 浓度值高于标准品 250，则需要按 1/10 和 1/100 进行稀释以期获得准确的数据。

最终结果应按下列公式计算：

1/10 稀释 = 50 μ L 样品 + 450 μ L 样品稀释液

1/100 稀释 = 50 μ L 1/10 稀释样品 + 450 μ L 样品稀释液

未稀释样品中 CA15-3 的浓度按以下方法计算：

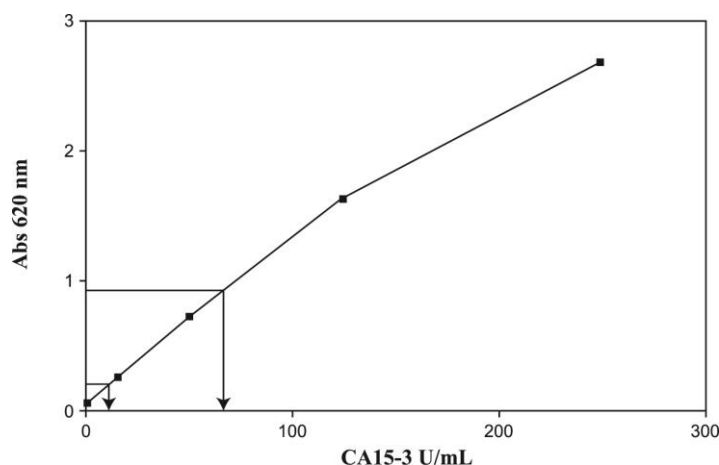
1/10 稀释：10 \times 测定值

1/100 稀释：100 \times 测定值

检测结果示例

标本	标准品的值	吸光度均值	CA15-3 (U/mL)
CAL CA15-3 0	0U/mL	0.044	
CAL CA15-3 15	15U/mL	0.252	
CAL CA15-3 50	50U/mL	0.723	
CAL CA15-3 120	120U/mL	1.612	
CAL CA15-3 250	250U/mL	2.680	
标本 1		0.241	14.1
标本 2		0.895	63.1

CanAg CA15-3 EIA



图例（不要根据此曲线计算检测结果）

【参考值（参考范围）】

检测 51 例健康女性献血员，检测平均值为 15U/mL，标准偏差为 6.8。中间值为 13.8U/mL，检测范围为 6-36U/mL 对于正常检测值范围的最低值和最高值，其置信区间按照 IFCC 推荐的非参数方法统计获得。参考值的区间涵盖了其中间 95% 的部分，因此参考范围按照 2.5%（低值）和 97.5%（高值）为分界点，该范围在参考值分布的两个尾端各去除了 2.5%，非参数方法统计：

分界点	参考范围 (U/mL)
2.5 th (低值)	7
97.5 th (高值)	36

94% 的健康女性的检测值低于 30U/mL。

考虑到当地的环境因素如饮食，气候，居住条件及患者的选择等，建议每一个实验室建立自己的正常参考范围。随着年龄的增长 CA15-3 水平也会增高，建议采用年龄特异性参考值^(2, 3)。同时，我们也应该建立这样的概念就是每一个患者自身的基线结果为标志物结果的解释提供了最重要的参考点。

【检测结果的解释】

CanAg CA15-3 EIA 检测试剂盒的检测范围为 1-250U/mL。如果 CA15-3 的浓度高于检测范围，推荐采用样品缓冲液 1/400 和 1/4000 进行稀释后再检测。

【检验方法的局限性】

CA15-3 的水平不能用作恶性疾病的存在与否的绝对证据，也不能应用于癌症的筛查。在患者的诊断与治疗中，CA15-3 的检测可以联合其它诊断检测手段，它不能取代任何已存在的临床检查。

尽管试剂盒中的缓冲液含有特异性封闭剂，但是患者标本中的抗-试剂抗体（人抗鼠抗体或嗜异性抗体）可能会干扰检测。

【产品性能指标】

精密度

总精密度是按照 NCCLS 指南 EP5-A⁽⁸⁾ 要求，采用 4 份冷冻人血清标本，其中含有预先加入不同浓度的 CA15-3 抗原。每份标本复孔随机加样，在 20 天内每天 2 次进行检测。

总精密度的检测由不少于 3 位技师，使用 20 个不同批号的试剂盒在 40 个月内按此方法进行检测。

标本	重复次数	均值 U/mL	同一批号的标准差(U/mL)	同一批号的重复性%	不同天的标准差(U/mL)	不同天的重复性%
CA15-3 1	80	15.8	0.55	3.5	1.16	7.3
CA15-3 2	80	57.0	1.73	3.0	6.37	11
CA15-3 3	80	78.6	2.93	3.7	5.29	6.7

CanAg CA15-3 EIA



CA15-3 4	80	148	4.86	3.3	8.37	5.6
----------	----	-----	------	-----	------	-----

最低检出限

CanAg CA15-3 EIA 试剂盒的最低检出限为 $<1\text{U/mL}$ 。检测范围的定义是根据 CA15-3 标准品 0 的平均吸光度值所对应的浓度值，加上 2 倍标准偏差计算所得。计算公式为： $\bar{x}+2\times\text{SD}$

回收率

将不同浓度的 CA15-3 抗原加入到正常人血清中，通过检测计算回收率。抗原的回收率范围为 95-110%。

倒钩效应

CA15-3 浓度达到 7500U/mL 时无倒钩效应。**注意：**高浓度的标本，在底物反应的颜色将由蓝色变为绿色（在浓度极高的标本中甚至变为黄色），这将导致 620nm 波长的吸光度值为错误的低吸光度值。浓度极高的标本，其吸光度值将落到标准曲线以外，就像倒钩效应一样。

线性

用正常人血清稀释病人标本后进行检测，检测值为期望值范围 25-250U/mL 的 93%-102%。

特异性

CanAg CA15-3 EIA 试剂盒是建立在两株鼠单克隆抗体，Ma695 作为捕捉抗体，识别粘蛋白分子中的唾液酸化的糖基决定簇，Ma552 作为示踪抗体，直接针对蛋白核心的 TRPAPG7 肽。NCCLS 指南 EP7-P⁽⁸⁾ 罗列了可能引起干扰的物质。在相应浓度下的该物质对实验检测未见干扰。

相应浓度 ($\pm 10\%$) 未见干扰	
脂血 (Intralipid®)	10mg/mL
未结合的胆红素	0.6mg/mL
血色素	5mg/mL

质量保证说明

根据实验操作程序获得实验数据。Fujirebio Diagnostics 公司不建议对实验操作步骤作任何修改。任何修改都有可能影响实验结果。对此 Fujirebio Diagnostics 公司将不承诺对商品稳定性和适应性的保证。

【注意事项】

仅供体外诊断用





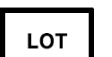

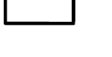






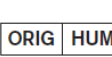
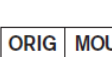
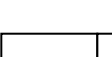
- 请参照美国健康和人类服务部 (Bethesda, Md, USA) 公布的出版号为 (CDC)88-8395 的有关实验室安全和其他地区与国家的相应规定。
- 患者标本应视为潜在传染物进行处理。
- 避免直接接触过氧化氢或盐酸溶液。一旦接触，需用大量的水冲洗。
- 试剂中含有防腐剂叠氮钠。叠氮钠可与铅和铜反应，形成具有很强爆炸力的叠氮金属。正确的处理方法是大量流水冲洗以防止叠氮物累积。
- 参照当地的废物处理原则进行废物处理。
- 要完全理解产品说明书，以保证正确使用 CanAg CA15-3 EIA 试剂盒。试剂盒中提供完整的一套试剂。
- 检测前试剂应有效的平衡到室温 (20°C 至 25°C)。为保证结果的准确，实验操作应在室温 (20°C 至 25°C) 进行检测。冷冻血清化冻后应轻轻摇匀。
- 在开始滴加标准液和患者标本前，建议在微孔板条上作记号以便在实验中或实验完成后能清楚的分清每一份标本。
- 细心的清洗微孔板是必须的。要确保每孔都完全注满清洗液，抽吸要彻底，抽吸后要使孔底干燥。如果孔中有残留液体，应将微孔板翻过来在吸水纸上轻轻地拍打。
自动洗板机：参照仪器说明进行操作，每步孵育后按要求冲洗所需的次数。
清洗液不宜长时间滞留于洗板装置中，以免针头堵塞。
- 用洁净的一次性吸头吸取 TMB HRP 底物液。如果要从试剂瓶中量取 TMB HRP 底物液，使用洁净的容器或一次性塑料器皿以避免试剂污染。TMB HRP 底物液应是无色或轻微蓝色。蓝色表明试剂已被污染应丢

CanAg CA15-3 EIA

弃。

- 在处理标本和试剂过程中，要使用正确的加样技术。使移液器的吸头稍高于孔的平面，不要触及微孔板或孔中的液体，以避免液体从一孔带入另一孔。在加入 TMB HRP 底物液时，正确的加样技术尤为重要。
- 用于制备人源试剂的每一个献血员都通过检测，HBsAg、抗 HCV、抗 HIV-1 和抗 HIV-2 抗体均为阴性。但是没有一种方法能完全排除血清中不存在病原体，因此试剂盒中含人源的组分都应被视作潜在传染源。

【标识的解释】

	产品编号
	体外诊断试剂
	CE 标识
	失效日期
	批号
	生产日期
	储存温度：2°C-8°C
	含有足够 96 人份检测
	参见使用说明书
	试剂盒组成
	生物风险
	人/来源
	鼠源/来源
	牛血清/来源
	复溶于
	生产商

CanAg CA15-3 EIA



【参考文献】

1. Bon, G., Kenemans, P., Yedema, C.A., vanKamp, G.J., Nijman, H.W., and Hilgers, J. (1990) Clinical relevance of the tumor marker CA15.3 in the management of cancer patients in "From Clone to Clinic" p. 111-122, Crommelin and Schellekens (eds.) Kluwer Academic Publishers
2. Nilsson O., Karlsson B., Lindholm L., Pettersson A. (1994) Development of assays for determination of MUC-1 breast cancer antigen, 7th Symposium on Tumor Markers, Hamburg 1993, R Klapdor (ed) Current Tumor Diagnostics: Applications, Clinical Relevance, Research, Trends. W. Zuckschwerdt Verlag München, 1994.
3. Bäckström D., Nilsson O., Price MR, Lindholm L., and Hansson GC. (1993) Discrimination of MUC1 mucins from other Sialyl-Le^x-carrying glycoproteins by colon carcinoma cells using a novel monoclonal antibody. *Cancer Res.*, 53:755.
4. Blockzijl A, Nilsson K, and Nilsson O. (1998) Epitope characterization of MUC1 antibodies *Tumor Biology* 19 suppl. 1:46-56
5. Price M.R. et al., (1998) Summary Report on the ISOBM TD-4 Workshop: Analysis of 56 Monoclonal Antibodies against the MUC1 Mucin *Tumor Biology* 19 suppl. 1:1-20
6. Fleisher M. et al. (2002) Practice guidelines and recommendations for use of tumor markers in the clinic. *National Academy of Clinical Biochemistry* 15: 26-29.
7. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices. Approved Guideline EP5-A (1999).
8. National Committee for Clinical Laboratory Standards, National Evaluation Protocols for Interference Testing, Evaluation protocol Number 7, Vol. 6, No 13, August (1986).

【基本信息】

注册人/生产企业名称: Fujirebio Diagnostics AB 富吉瑞必欧诊断公司

住所: Elof Lindalvs gata 13, SE-414 58 Gothenburg, Sweden

生产地址: Elof Lindalvs gata 13, SE-414 58 Gothenburg, Sweden

联系方式: +46 31-85 70 30, 传真: +46 31-85 70 40, 网址: www.fdab.com