



Набор ИФА для определения РАКОВОГО АНТИГЕНА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ CA-15-3

Кат. № : 6333Z
Количество : 96
Производитель : DAI (США)

Методика от 09-05-2012

Внимание: основой при проведении анализа является оригинал инструкции на англ. языке.

Анализ	CA-15-3
Метод	Иммуносорбентный анализ с применением фиксированных ферментов
Принцип	Конъюгированный пероксидазой ИФА
Диапазон обнаружения	5-200 Е/мл
Образец	100 мкл сыворотки
Специфичность	97 %
Чувствительность	5 Е/мл
Общее время	~ 140 мин.
Срок годности	12-14 мес.

НАЗНАЧЕНИЕ

Данный набор предназначен для мониторинга и проверки рака груди. Патологические результаты (например, повышенный уровень СА 15-3 в сыворотке) может обозначать необходимость клинического вмешательства. Анализ СА 15-3 используется как маркер опухоли для пациентов при клинической ремиссии, после лечения. После оперативная величина СА 15-3, которая не возвратилась к норме, указывает на присутствие остатков раковых клеток. Раковый рецидив часто сопровождается ростом СА 15-3 до того, как прогрессирующая болезнь станет клинически очевидной.

ВВЕДЕНИЕ

Рак груди является наиболее распространенным злокачественным поражением у женщин многих развитых стран на сегодня, приблизительно 180000 новых диагнозов ежегодно. Приблизительно половина новых диагнозов являются злокачественными, поскольку 30% этих диагнозов прогрессируют до метастаз.

Существует большое количество раковых маркеров, которые помогают идентифицировать и поставить диагноз опухоли груди и назначить безболезненный курс. Эти маркеры включают рецепторы эстрогена и прогестерона, ДНК плоидность и S-процент фазовый профиль, рецептор эпидермального фактора роста, HER-2/новый онкоген, p53 опухолевый подавляющий ген, cathepsin D, маркер разномониторинга и СА 15-3. СА 15-3 наиболее используется для мониторинга пациентов после операции на рецидив, особенно болезней метастаз. 96% пациентов с частичным или системным рецидивом имеют увеличенный уровень СА 15-3, что может быть использовано для прогноза рецидива в более ранние сроки, чем за радиологическими или клиническими критериями. У 25% увеличение в сыворотке СА 15-3 ассоциируется с прогрессированием опухоли. 50% случаев уменьшения в сыворотке СА 15-3 ассоциируется с ответом на лечение. СА 15-3 является более чувствительным, чем СЕА при ранней диагностике рецидива опухоли груди. В комплексе с СА 125, СА 15-3 используется в ранней диагностике рецидива опухоли яичников. Уровень СА 15-3 также увеличивается при раке толстой кишки, легких и печени.

ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Анализ СА 15-3 является двух-сторонним твердофазовым энзимным иммуноанализом. Молекулы СА 15-3 будут в «сэндвиче» между двумя моноклональными антителами. Одно привито ко дну лунки микропланшета, а другое связано с пероксидазой хрена (энзимный конъюгат). После инкубации и промывания, энзимная реакция вырабатывает цвет, который пропорциональный количеству СА 15-3 молекул, что присутствуют в анализе.

МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

Материалы, входящие в состав набора:

- Планшет с лунками, покрытыми моноклональным анти-СА-15-3 антителом, 96 лунок.
- Разбавитель образца, 100 мл
- Ферментный конъюгат, 12 мл.
- Набор референтных стандартов 0; 15, 30, 60, 120 и 240 Е/мл, жидкие, готовые к использованию. 1 набор.
- ТМВ субстрат, одношаговый 12 мл
- Стоп раствор, 12 мл.
- Концентрат промывочного буфера (50X), 15 мл

Материалы, не входящие в состав поставки:

- Точные пипетки: 0,1 мл и 0,2 мл.
- Дистиллированная вода.
- Одноразовые наконечники для пипеток.
- Вихревой смеситель.
- Промокательная бумага или бумажные полотенца.
- Считыватель для планшетов.
- Бумага для построения графиков.

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1. Кровь необходимо собирать, используя стандартную технику венопункции и как можно быстрее сыворотку необходимо отделить от красных кровяных клеток. Избегайте сильно гемолизированных, липемических и мутных образцов.
2. Образцы плазмы, собранные в пробирки, содержащие ЭДТА, гепарин или оксалат могут влиять на процедуру, поэтому их не следует использовать.
3. Образцы должны храниться закрытыми до 48 часов при 2-8°C до начала анализа. Для более длительного хранения (до 6 месяцев) они должны быть заморожены до -20°C. Размороженные образцы необходимо перемешать.

ХРАНЕНИЕ НАБОРОВ И ИНСТРУМЕНТАРИЯ

1. Невскрытый набор следует хранить при 2-8°C, а планшет – в закрытой упаковке с влагопоглотителем до конца срока годности. Набор анализа может использоваться до окончания срока годности (один год после даты изготовления). Смотрите дату годности, указанную на этикетке.
2. Вскрытый набор остается стабильным до окончания срока годности при хранении как указано выше.
3. Микропланшетный считыватель с шириной дорожки 10 нм или меньше и диапазоном оптической плотностью 0-2 ОП или выше при длине волны 450 нм используется для измерения абсорбции.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

1. Перед использованием приведите реагенты к комнатной температуре (18-22°C) и смешайте легким переворачиванием или вращением. Избегайте образования пены.
2. Разбавьте 1 часть промывочного буфера (50x) 49 частями дистиллированной воды. Например: разбавьте 15 мл промывочного буфера (50x) дистиллированной водой для приготовления 750 мл промывочного буфера (1x). Тщательно перемешайте перед использованием.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

Важное замечание:

Стандарты СА 15-3 предварительно разбавлены и готовы к использованию. Не разбавляйте их снова!

1. Сыворотка пациента и контрольная сыворотка должны быть разбавлены 51кратно перед использованием. Приготовьте серию маленьких пробирок (напр. 1,5 мл микроцентрифужных пробирок) и смешайте 20 мкл сыворотки с 1,0 мл разбавителя образца.
2. Поместите нужное количество лунок в рамку для стрипов. Внесите 100 мкл стандартов, образцов и контролей в соответствующие лунки. Тщательно, но осторожно перемешайте 10 секунд.
3. Инкубируйте при 37°C 1 час.
4. Удалите содержимое лунок. Промойте и опустошите планшет 5 раз промывочным буфером (1x) и 1 раз дистиллированной водой. Резко переверните планшет на абсорбирующую бумагу, что бы удалить все остатки капель жидкости.
5. Внесите 100 мкл реагента ферментного конъюгата в каждую лунку. Тщательно перемешайте в течении 10 секунд.
6. Инкубируйте при 37°C 1 час.
7. Удалите содержимое лунок и промойте планшет как описано в п. 4 выше. Внесите 100 мкл реагента ТМВ субстрата в каждую лунку. Аккуратно перемешайте в течении 10 секунд.
8. Инкубируйте при комнатной температуре в темноте в течении 20 минут.

9. Остановите реакцию внесением 100 мкл стоп раствора в каждую лунку. Аккуратно перемешайте на протяжении 10 секунд. Удостоверьтесь в полном изменении синей окраски на желтую.
10. Измерьте оптическую плотность лунок при 450 нм в течении 15 минут.

Важное замечание:

1. Процедура промывания критична. Недостаточное промывание приведет к завышенной абсорбции и неточным результатам.
2. Рекомендуется использовать не более 32 лунок при ручном пипетировании, поскольку, пипетирование всех стандартов, образцов и контролей должно занимать 5 минут. Использование полного планшета на 96 лунок возможно при автоматическом пипетировании.
3. Дублирование всех стандартов и образцов не обязательно, но рекомендуется.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Определите среднюю абсорбцию для каждого набора стандартов, контролей и образцов. Постройте стандартную кривую, откладывая точки средней абсорбции стандартов на вертикальную ось Y, против соответствующих концентраций на горизонтальную ось X. Используйте среднее значение абсорбции для каждого образца, чтобы определить соответствующее значение концентрации СА 15-3 в Е/мл из стандартной кривой. Рекомендуется, чтобы образцы анализировались в двойном экземпляре. **Так как стандарты СА 15-3 уже 51-кратно разбавлены, нет необходимости умножать значения образцов и контролей на коэффициент разбавления.**

Пример построения калибровочной кривой

Результаты типичной процедуры считывания с использованием калибраторов проводятся при ОП 450 нм, которая указывается на оси Y против концентрации СА 15-3, указанной на оси X.

Значения СА 15-3 (Е/мл)	Абсорбция (450 нм)
0	0,021
15	0,425
30	0,693
60	1,214
120	1,956
240	2,845



Эта калибровочная кривая приведена в качестве иллюстрации. Ее нельзя использовать для расчета концентраций СА 15-3 в образцах.

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ

Значения СА 15-3 у здоровых женщин ниже 35 Е/мл. Минимально определяемая концентрация СА 15-3 установлена на уровне 5 Е/мл.

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

1. Надежные и соответствующие результаты будут получены при проведении анализа в соответствии с инструкцией и хорошей лабораторной практикой.
2. Процедура промывания – критична. Недостаточное промывание может привести к неточным результатам.
3. Образцы пациентов могут содержать человеческие анти-мышинные антитела (НАМА), что могут влиять на результаты. Данный набор разработан для минимизирования влияния НАМА-содержащих образцов. Но, полного исключения этого влияния мы не можем гарантировать. Результаты, которые не соответствуют клинической картине или истории, должны интерпретироваться с осторожностью.

ЛИТЕРАТУРА

(См. в оригинале инструкции).

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА:

ЧМП «ДИАМЕБ»
 Ул. Чорновола, 97, г. Ивано-Франковск, 76005
 Тел.: (0342) 775122
 Тел/факс: (0342) 775612
 E-mail: info@diameb.ua
www.diameb.ua