

НАБОР ИФА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО РАКОВОГО АНТИГЕНА СА-19-9

6909-16, СА-19-9

Каталог. № : 6909-16

Методика от 10-25-2013

Количество : 96

Производитель: DAI (США)



Основой при проведении анализа является оригинал инструкции на английском языке, вложенной в набор. Номер и дата версии оригинала и перевода инструкции должны совпадать.

Анализ	СА-19-9
Метод	Иммуносорбентный анализ с применением фиксированных ферментов
Принцип	Конъюгированный пероксидазой ИФА
Диапазон обнаружения	0-240 Ед/мл
Образец	50 мкл сыворотки
Специфичность	97 %
Чувствительность	5 Ед/мл
Общее время	~ 140 мин.
Срок годности	12-14 мес.

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор ИФА предназначен для количественного определения желудочно-кишечного антигена (СА-19-9) в сыворотке человека.

ВВЕДЕНИЕ

Настоящий набор предназначен для мониторинга и как скринингового исследования. Патологические результаты (например, повышенный уровень СА 19-9 в сыворотке) требует клинического вмешательства. Анализ СА 19-9 используется как маркер опухоли для пациентов при клинической ремиссии, поскольку послеоперационные значения СА 19-9 в сыворотке, которые не возвратилась к норме, указывают на присутствие остатков раковых клеток. Раковый рецидив часто сопровождается ростом СА 19-9 до того, как прогрессирующая болезнь станет клинически определяемой.

ПРИНЦИП ИССЛЕДОВАНИЯ

Группа муциновых гликопротеиновых антигенов Sialosyl Lewis (SLA), такие как СА 19-9 и СА 19-5 описаны как антигены, ассоциированные с опухолями желудочно-кишечного тракта.

СА 19-9 является собой наиболее важный и основной углеродный маркер опухоли. Иммуногистологическое распределение СА 19-9 в тканях соотносится с количественным определением высшей концентрации при опухоли чем при норме или в воспалительных тканях. Недавнее описание указывает, что уровень СА 19-9 в сыворотке часто повышен в сыворотке людей с разными злокачественными опухолями желудочно-кишечного тракта, как панкреатит, при опухолях печени или желудка. Вместе с СЕА, повышенный уровень СА 19-9 предполагается при неоплазме желчного пузыря при его воспалении. Этот опухолевый антиген может расти при некоторых не злокачественных состояниях. Исследования показывают, что значения СА 19-9 в сыворотке могут использоваться при мониторинге субъектов с вышеуказанными патологиями. Было показано, что постоянно повышенный уровень в сыворотке СА 19-9 после лечения может указывать на скрытую или/и латентную форму болезни. Постоянно повышенный уровень СА 19-9 в сыворотке может быть связан с прогрессирующим злокачественным заболеванием и плохой терапевтической реакцией. Снижение уровня СА 19-9 может указывать на хорошие прогнозы и хорошую реакцию на лечение.

СБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

- Сыворотка должна быть собрана с применением стандартной медицинской методики и должна быть отделена от красных телец крови как можно быстрее. Избегайте сильно гемолизированной, липемической и мутной сыворотки.
- Образцы плазмы, собранные в пробирки, содержащие ЭДТА, гепарин или оксалат, могут влиять на процедуру анализа и их необходимо избегать.

- Образцы необходимо закрыть и хранить 48 часов при 2-8 °С до начала анализа. Образцы для более длительного срока хранения необходимо заморозить до -20 °С. Размороженные образцы следует перемешать перед анализированием.

МАТЕРИАЛЫ И КОМПОНЕНТЫ

Поставляемые материалы в наборе для исследования:

- Микротитровальный планшет на 96 лунок, покрытый мышинными моноклональными антителами СА-19-9.
- Рабочий буфер, 12 мл.
- Реагент ферментного конъюгата, 12 мл.
- Референтные стандарты СА-19-9, содержащие 0, 15, 30, 60, 120 и 240 Ед/мл СА-19-9, готовые к использованию.
- Субстрат ТМВ, 12 мл.
- Стоп раствор, 12 мл.
- Концентрат промывочного буфера (50x), 15 мл.

Необходимые, но не поставляемые материалы.

- Точные пипетки: 0,05 - 0,2 мл, 1.0 мл;
- Дистиллированная вода;
- Вихревой смеситель;
- Промокательная бумага или бумажное полотенце;
- Графопостроительная бумага;
- Микротитровальный планшет-ридер с шириной дорожки 10 нм или меньше и диапазоном оптической плотности 0-2 или больше при 450 нм, является приемлемым для использования в измерении абсорбции.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

- Перед использованием все реагенты должны быть приведены к комнатной температуре (18-22°C) и перемешаны легким переворачиванием или покачиванием. Избегайте образования пены.
- Разбавьте 0,5 части промывочного буфера (50x) 49 частями дистиллированной воды. Например, разбавьте 15 мл концентрата промывочного буфера (50x) дистиллированной водой, чтобы приготовить 750 мл промывочного буфера (1x). Перед использованием хорошо перемешать.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

- Закрепите в держателе нужное количество привитых лунок. Внесите в соответствующие лунки по **50 мкл** стандартов, образцов и контролей.
- Внесите в каждую лунку по **100 мкл** рабочего буфера. Тщательно перемешайте на протяжении **30 сек**.
- Инкубируйте течение **60 минут** при 37°C.
- Удалите инкубационную смесь планшета в контейнер для отходов. Промойте и опорожните микротитровальные лунки промывочным буфером (1x) **5 раз**. Резко встряхните планшетом о промокательную бумагу или бумажные полотенца, чтобы удалить все остатки воды.
- Внесите в каждую лунку по **100 мкл** реагента ферментного конъюгата. Хорошо перемешайте.
- Инкубируйте еще **60 минут** при 37°C.
- В конце 60-минутной инкубации удалите содержимое и промойте лунки как описано в п. 4 выше.
- Внесите в каждую лунку по **100 мкл** реагента субстрата ТМВ. Легко смешивайте **10 сек**.
- Инкубируйте **20 минут** при комнатной температуре в темноте без встряхивания.
- Остановите реакцию добавлением **100 мкл** стоп-реагента в каждую лунку. Легко смешивайте **10 сек**. Очень важно, чтобы голубой цвет полностью стал желтым.
- Измерьте оптическую плотность лунок при **450 нм** в течении **15 минут**.

Внимание:

- Процедура промывки имеет большое значение. При недостаточном тщательном промывании результаты будут неточными, и уровень оптической плотности лунок будет завышен.
- В случае ручного пипетирования не рекомендуется в одном анализе использовать более 32 лунок, так как внесение всех калибровочных, контрольных и исследуемых образцов не должно занимать более 5 минут. В случае автоматического пипетирования можно использовать весь планшет из 96 лунок.
- Хотя дублирование всех стандартов и образцов не требуется, но рекомендуется.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

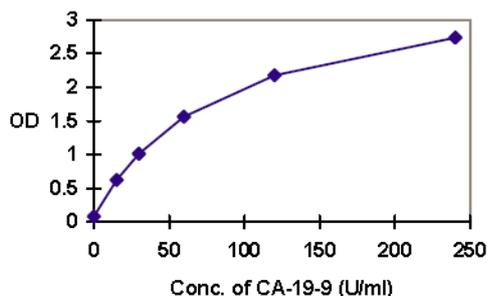
Определите среднюю абсорбцию для каждого набора стандартов, контроля и образцов. Используя линейную или полулогарифмическую бумагу, отметьте точки значений поглощения стандартов в Ед/мл на вертикальной оси Y, а соответствующие

концентрации на горизонтальной оси X. Используйте средние значения поглощения для каждого образца, чтобы определить с калибровочной кривой соответствующую концентрацию СА-19-9 в Е/мл. Любые разбавленные образцы должны быть уточнены соответствующим коэффициентом разбавления.

ПРИМЕР ТИПИЧНОЙ КАЛИБРОВОЧНОЙ КРИВОЙ

Результаты типичного измерения поглощения стандартов со считыванием оптической плотности при 450 нм указаны на оси Y против концентраций СА-19-9 на оси X.

СА-19-9 (нг/мл)	Абсорбция (450 нм)
0	0,078
15	0,620
30	1,009
60	1,562
120	2,182
240	2,742



Настоящая калибровочная кривая предоставлена только в качестве примера и не должна использоваться для вычисления неизвестных значений. Каждый пользователь должен получить свою собственную калибровочную кривую и данные.

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ

Здоровые женщины должны иметь значения СА-19-9 **ниже 35 Ед/мл**.

Минимально определяемая набором концентрация СА-19-9 составила 5 Ед/мл.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

I. Достоверность: сравнение между нашим тестом и коммерчески доступным тестом предоставило следующие данные:

N = 48
 Коэффициент корреляции = 0.966
 Наклон = 0.908
 Пересечение = 2.32
 Среднее (наши наборы) = 36.10
 Среднее (Abbott) = 33.18

II. Точность:

1) Внутрисерийная:

Концентрации	N	Среднее	SD	CV, %
Уровень 1	24	11.70	0.885	7.56
Уровень 2	24	33.33	1.540	4.62

2) Между сериями:

Концентрации	N	Среднее	SD	CV, %
Уровень 1	14	11.76	1.098	9.81
Уровень 2	14	33.15	2.160	6.52

III. Линейность:

Две сыворотки пациента с серийно развели Стандарт 0 Ед/мл в линейном исследовании. Среднее восстановление составило 102.7 %.

Образец А			
Разведение	Ожидаемое значение	Полученное значение	Восстановление, %
Неразбавленный	192.43	192.43	
2X	96.22	98.11	102.0
4X	48.10	50.01	104.0
8X	24.05	25.98	108.0
16X	12.02	13.11	109.1
Среднее восстановление: 105.8 %			

Образец В			
Разведение	Ожидаемое значение	Полученное значение	Восстановление, %
Неразбавленный	220.77	220.77	
2X	110.39	106.31	96.3

4X	55.19	56.03	101.5
8X	27.60	26.92	97.5
16X	13.80	14.25	103.3
Среднее восстановление: 99.7 %			

IV. Чувствительность

Минимальная определяемая концентрация этого анализа составляет 5.0 Ед/мл.

V. Перекрестная реактивность

Следующие антигены маркеров рака в высоких концентрациях были проанализированы, чтобы определить возможные реактивности.

Antigens	Concentration	Equivalent CA19-9	% Cross-reactivity
CA 15-3	1,000 U/mL	0.00	0.00
CA 125	1,000 U/mL	0.00	0.00
PSA	1,000 ng/mL	0.00	0.00
PAP	1,000 ng/mL	0.00	0.00
AFP	10,000 ng/mL	0.00	0.00
CEA	1,000 ng/mL	0.00	0.00

VI. Хук-эффект

Хук-эффект не наблюдался при концентрациях 10.000 Ед/мл.

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

1. Достоверные результаты будут достигнуты только при полном понимании инструкции к набору.
2. Процедура промывки очень важна. Недостаточное промывание приведет к низкой точности и ошибочно повышенным считываниям абсорбции.
3. Гетерофильные антитела, такие как человеческие анти-мышинные антитела (НАМА) часто обнаруживаются в сыворотке человека. Эти антитела могут сильно влиять при некоторых иммунодиагностических процедурах. Настоящий набор разработан для минимизации этого влияния. Но полное исключение этого влияния для всех образцов пациентов невозможно гарантировать. Полученные результаты должны оцениваться в комплексе с остальными методами исследования и клиническими данными.

ХРАНЕНИЕ НАБОРОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИНСТРУМЕНТАРИЯ

1. Невскрытые наборы должны храниться после получения при 2-8 °С. Для минимизации влияния влажного воздуха микротитровальный планшет должен храниться при 2-8 °С в запечатанном виде вместе с осушителями.
2. Открытые наборы остаются стабильными до окончания срока годности, при условии, что они хранятся с соблюдением вышеуказанных условий.
3. Микротитровальный планшет-ридер с шириной дорожки 10 мм или меньше и диапазоном оптической плотности 0-2 или больше при 450 нм, является приемлемым для использования в измерении абсорбции.



ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

ООО «ДИАМЕБ»
 ул.Черновола, 97
 г. Ивано-Франковск, 76005
 тел.: +38 (0342) 775 122
 факс: +38 (0342) 775 123
 e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com

