

## ІНСТРУКЦІЯ З ВИКОРИСТАННЯ

Набір реагентів для кількісного імуноферментного визначення раково антигену СА 19-9–БЕСТ

### (СА 19-9–БЕСТ)

#### 1. ПРИЗНАЧЕННЯ

Набір реагентів «СА 19-9–БЕСТ» призначений для кількісного *in vitro* визначення ракового антигену СА 19-9 у сироватці крові людини методом твердофазного імуноферментного аналізу.

У випадку дробового застосування необхідна обов'язкова постановка всіх каліброваних проб для кожного окремого аналізу.

#### 2. СКЛАД НАБОРУ

Планшет - полістирольний, з іммобілізованими анти СА 19-9 моноклональними антитілами

##### 1 упаковка.

Кон'югат – анти – СА 19-9 – біотин, 14 мл 1 флакон

##### Калібрувальні проби (КП):

КП№1- 1 флакон, 6 мл, містить 0 Од/мл СА 19-9,

КП№2- 1 флакон, 0,8 мл, містить 12 Од/мл СА 19-9,

КП№3- 1 флакон, 0,8 мл, містить 60 Од/мл СА 19-9,

КП№4- 1 флакон, 0,8 мл, містить 120 Од/мл СА 19-9,

КП№5- 1 флакон, 0,8 мл, містить 240 Од/мл СА 19-9,

*примітка:* точні номінали каліброваних проб зазначені на етикетках флаконів і в паспорті до набору реагентів.

КС (контрольна сироватка) містить відому кількість СА 19-9, діапазон концентрацій зазначений на етикетці флакону, 0,8 мл 1 флакон

RPC (Розчин для розведення зразків сироватки крові), водно-сольовий розчин, 14 мл, 1 флакон

Промиваючий розчин, концентрований водно-сольовий розчин для промивання x26, 22 мл. 1 флакон

ТМБ (Розчин тетраметилбензидина), 14 мл 1 флакон

Стоп-реагент, 14 мл 1 флакон

*Додатково до складу набору можуть входити:* захисна плівка для мікропланшетів; пластикові ванночки для реактивів; одноразові наконечники; поліетиленовий пакет із замком для зберігання мікропланшета.

#### 3. АНАЛІТИЧНІ Й ДІАГНОСТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРУ.

**3.1. Чутливість.** Мінімальна достовірно обумовлена набором концентрація СА 19-9 в сироватці крові людини не перевищує 1,0 Од/мл.

**3.2. Специфічність.** Перехресна реакція антитіл до СА 19-9 з іншими аналітами не визначається.

**3.3. Діапазон очікуваних значень:**

У більшості здорових чоловіків та жінок  $\leq 35$  Од/мл.

#### 4. ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ.

При роботі з досліджувальними сироватками і контрольними зразками слід дотримуватись заходів безпеки, прийняті при роботі з потенційно інфекційним матеріалом: працювати в гумових рукавичках; не пікетувати розчини ротом; всі використані матеріали дезінфікувати відповідно до вимог чинного законодавства.

#### 5. ОБЛАДНАННЯ Й МАТЕРІАЛИ, НЕОБХІДНІ ПРИ РОБОТІ З НАБОРОМ:

Спектрофотометр вертикального сканування, шейкер – інкубатор, вошер, центрифуга лабораторна на 2,5- 3,0 тис. об / хв., холодильник побутовий, піпетки напівавтоматичні одно каналні і багатоканальні рукавички гумові хірургічні, колба мірна, папір фільтрувальний, вода дистильована.

#### 6. АНАЛІЗОВАНІ ЗРАЗКИ.

**6.1.** Узяття крові для аналізу слід проводити з використанням стандартних процедур для венозної крові, а зразки сироватки повинні бути звільнені від клітин крові центрифугуванням. Після центрифугування сироватка крові повинна бути перенесена в окрему пробірку.

**6.2.** Слід уникати використання в аналізі плазми крові, гемолізованої, мутної або гіперліпемічної сироватки. Не допускається використання як консервант азиду натрію.

**6.3.** Зразки сироватки крові слід використати протягом 24 годин з моменту отримання за умови їх зберігання при +2...+8°C. Для більш тривалого зберігання зразки необхідно заморозити при температурі нижче -20°C. Уникати повторного заморожування зразків.

#### 7. ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ.

##### 7.1 . Підготовка реагентів

7.1.1 . Стрипи . Перед розкриттям пакет зі стрипами необхідно витримати при кімнатній температурі (+18 ... 25 ° C ) не менше 30 хвилин. Розкрити пакет і переставити на вільну рамку необхідну кількість стрипів .

7.1.2 . Рідкі калібрувальні проби і контрольна сироватка готові до використання.

Для відновлення ліофілізованих калібрувальних проб та контрольної сироватки перед розкриттям флаконів легким

постукуванням струсити частинки, які прилипли до стінок флаконів або до кришок. Відкрити флакони і покласти кришки перевернутими на суху поверхню. У кожний флакон з калібрувальної пробіи внести по 1 мл дистильованої води, у флакон з контрольною сироваткою - 0,5 мл дистильованої води і закрити кришками. Витримати флакони протягом 10 хвилин при кімнатній температурі без перемішування. Потім, акуратно нахилиючи і обертаючи флакони, перемішати їх вміст до повного розчинення, уникаючи піноутворення. Протягом наступних 10 хвилин витримати флакони при кімнатній температурі, періодично перемішуючи.

7.1.3 . РРС готовий до використання.

7.1.4 . Кон'югат готовий до використання.

7.1.5 . Розчин для промивання. Необхідну кількість розчину для промивання розвести дистильованою водою в 26 раз. **Наприклад:** 1 мл розчину для промивання + 25 мл дистильованої води.

Ретельно перемішати, уникаючи піноутворення.

7.1.6 . Розчин ТМБ готовий до використання.

7.1.7 . Стоп - реагент готовий до використання.

7.1.8 . Всі реагенти перед проведенням аналізу повинні бути ретельно перемішані і доведені до кімнатної температури (+18 ... 25 °С).

Якщо за попередніми даними або за результатами аналізу (див. п.9.3.) Значення концентрацій СА 19-9 в досліджуваних зразках вище, зразки слід додатково розвести КП №1.

## 7.2 . Постановка аналізу

Скласти протокол маркування лунок. Лунки промаркувати наступним чином:

A1 - для вимірювання величини оптичної густини КП № 1;

B1 - для вимірювання величини оптичної густини КП № 2;

C1 - для вимірювання величини оптичної густини КП № 3;

D1 - для вимірювання величини оптичної густини КП № 4;

E1 - для вимірювання величини оптичної густини КП № 5;

F1 - для вимірювання величини оптичної густини контрольної сироватки.

7.2.1. Внесіть у всі лунки по 50 мкл РРС

7.2.2. Внести у відповідні лунки в дублях по 50 мкл калібрувальних проб та контрольної сироватки, в інші лунки - по 50 мкл досліджуваних зразків.

**Примітка:** загальний час внесення калібрувальних проб, контрольної сироватки і досліджуваних зразків не повинно перевищувати 10 хвилин, інакше час інкубації різних зразків буде значно відрізнятися, що призведе до неправильних результатів.

**Примітка:** Надзвичайно важливо вносити всі реагенти якомога ближче до дна покритої стрептавідином лунки.

7.2.3 . Перемішати реагенти в лунках акуратним постукуванням рамки зі стріпами протягом 20-30 секунд.

7.2.4 . Заклеїти планшет плівкою. Інкубувати стріпи протягом 30 хвилин при температурі (+37оС).

7.2.5. По закінченні інкубації видалити вміст лунок в контейнер з дезінфікуючим розчином (1% розчином гіпохлориту натрію або 6% розчином перекису водню) і промити лунки три рази. При кожній промивці в усі лунки додавати по 250 мкл промиваючого розчину, приготовленого за п.7.1.5, струснути рамку круговими обертами протягом 5-10 секунд з наступною аспірацією. Після останньої аспірації ретельно видалити залишки рідини з лунок постукуванням рамки зі стріпами в перевернутому положенні по фільтрувальному паперу.

Допускається промивка лунок за допомогою автоматичного пристрою.

7.2.6 . Внести в усі лунки по 100 мкл кон'югату.

7.2.7 . Заклеїти планшет плівкою. Інкубувати стріпи при температурі (+37оС) 30 хв.

7.2.8. Після закінчення другої інкубації видалити вміст лунок шляхом аспірації і промити лунки 5 разів згідно п.7.2.5.

7.2.9 . Негайно внести в усі лунки по 100 мкл розчину ТМБ. Інкубувати стріпи в темноті при кімнатній температурі протягом 10-20 хвилин в залежності від ступеня розвитку забарвлення.

7.2.10 . Додати в усі лунки з тією ж швидкістю і в тій же послідовності, як і розчин ТМБ, по 100 мкл стоп- реагенту для зупинки ферментної реакції і обережно перемішати реагенти в лунках акуратним постукуванням рамки зі стріпами протягом 15-20 секунд.

7.2.11 . Якщо неможливо виміряти оптичну густину у лунках планшета безпосередньо після виконання п. 7.2.10, то слід мати на увазі, що забарвлення в лунках планшета стабільна не більше 20 хвилин при кімнатній температурі (+18 ... 25 °С).

**Примітка:** максимальна оптична густина не повинна перевищувати меж лінійного виміру спектрофотометра. Робочий діапазон спектрофотометра необхідно уточнювати в паспорті приладу. Рекомендована максимальна оптична густина не більше 2,5 од. ОГ.

## 8 . РЕЄСТРАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Виміряти на фотометрі вертикального сканування оптичну густину у лунках при довжині хвилі 450 нм.

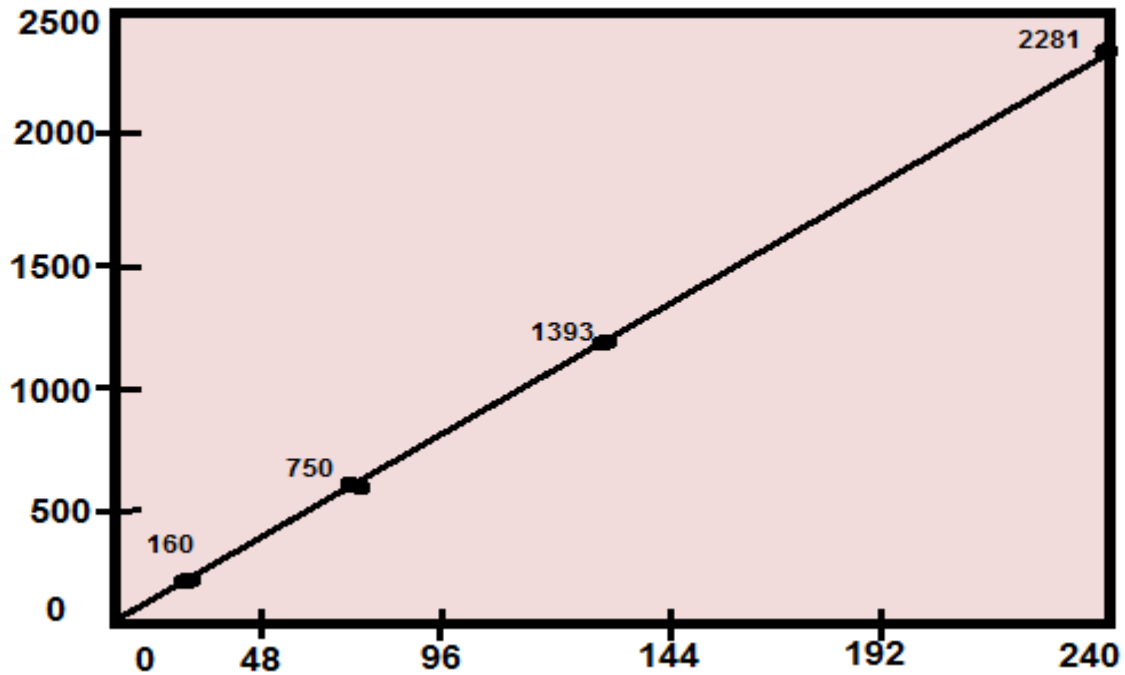
## 9 . ОБЛІК РЕЗУЛЬТАТІВ

9.1 . Побудувати калібрувальний графік залежності оптичної густини від концентрації СА 19-9 ( Од / мл) в калібрувальних пробах (Малюнок 2). Зовнішній вигляд графіка залежить від способу перетворення осей .

**Примітка 1:** при застосуванні референтної довжини хвилі 620 нм оптичну густину кожної калібрувальної проби , отриману при 620 нм , віднімають з оптичної густини, отриманої при основній довжині хвилі , ці значення використовують для побудови калібрувального графіка .

9.2 . Визначити зміст СА 19-9 в пробах за калібрувальним графіком. У разі додаткового розведення зразка необхідно виміряну концентрацію СА 19-9 помножити на коефіцієнт розведення .

9.3 . Екстраполяція калібрувального графіка для значень концентрації СА 19-9 , перевищують номінал КП № 5 , не допускається. Для точного визначення концентрації СА 19-9 в таких зразках необхідно виконати їх розведення у відповідності з п. 7.1.8 .



Малюнок 2 . Типовий калібрувальний графік

## 10 . УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ ТА ЕКСПЛУАТАЦІЇ НАБОРУ

Набір Набори зберігати і транспортувати при (2-8)°С. Допускається транспортування при температурі до 25°С не більше 5 діб. Не допускати заморожування!

Термін придатності набору реагентів – 14 місяців з дня випуску.

З питань, що стосуються якості набору, звертатися: в **ТОВ «Бест Діагностик»** за адресою:

04074, м. Київ-74, вул.Лугова, 9, тел./факс: (044) 500-57-11 E-mail: [info@bestdiagnostic.com.ua](mailto:info@bestdiagnostic.com.ua)

Виробник залишає за собою право вразі вдосконалення набору вносити зміни до інструкції.