



Набор для определения РАКОВОЭМБРИОНАЛЬНОГО АНТИГЕНА

Кат. № : 105-1871
Количество : 96
Производитель : DRG (США)

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

Методика от 31-08-2006

НАЗНАЧЕНИЕ

Настоящий набор предназначен для количественного определения концентрации раковоэмбрионального антигена в сыворотке человека.

ТОЛЬКО ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИХ ЦЕЛЯХ.
Хранить при 2-8°C.

ВСТУПЛЕНИЕ

Раковоэмбриональный антиген (СЕА) это клеточно поверхностный 200 кД гликопротеин. В 1969 г. было исследовано, что плазма СЕА увеличивалась в 35 из 36 пациентов с раком ободочной кишки и СЕА титры уменьшались после успешного хирургического вмешательства. Нормальный уровень был отмечен в пациентов с другими формами рака или при начале болезни. Последующие изучение не внесли ничего нового в начальные результаты и теперь ясно, что уровень СЕА растет при разных формах рака. Рост уровня СЕА обнаружено в более чем 30% пациентов с раком легких, печени, поджелудочной железы, груди, ободочной кишки, головы или горла, мочевого пузыря, шейки матки и простаты. Рост уровня плазмы СЕА зависит от стадии и степени болезни, дифференциации опухоли и размеров метастазы. СЕА также обнаружено в нормальных тканях.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Набор DRG СЕА ELISA базируется на принципе твердофазового ферментно связанного иммуносорбентного теста. Система набора использует моноклональные антитела, направленные против интактных СЕА молекул для иммобилизации на твердой фазе (лунки планшетки). Козлиное анти-СЕА антитело конъюгировано с пероксидазой (HRPO) и содержится в растворе антитело-ферментного конъюгата. Образец тесту дает возможность реагировать одновременно с двумя антителами, результат в СЕА молекулах будет разделенный между твердофазовыми и ферментными антителами. После одного часа инкубации при комнатной температуре, лунки промываются для удаления несвязанного антигена. Добавляется раствор ТМВ и инкубируют при комнатной температуре 20 минут, что приводит к образованию голубого цвета. Развитие цвета останавливают добавлением 1N HCl, изменяя голубой цвет на желтый. Концентрация СЕА прямо пропорциональна интенсивности цвета образца. Абсорбция измеряется на фотометре при 450 нм.

РЕАГЕНТЫ

Поставляемые материалы:

- Планшетка на 96 лунок
- Стандарты, содержащие 0, 3, 12, 30, 60 и 120 нг/мл СТФ, лиофилизированные, 1 набор;
- Ферментный конъюгат, 13 мл;
- ТМВ-реагент (один этап), 11 мл;
- Стоп раствор (1N HCl), 11 мл

Необходимые, но не поставляемые материалы.

- пипетки на 50 мкл, 100 мкл и 1 мл;
- сменные наконечники к пипеткам;
- дистиллированная вода;
- вихревой миксер или эквивалент;
- абсорбирующая бумага или полотенце;
- графическая бумага;
- микропланшетный считыватель.

СБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Сыворотка должна быть приготовлена с цельной крови, собранной приемлемой медицинской технологией. Набор должен быть использован для сывороточных образцов без примесей.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ НАБОРА И ИНСТРУМЕНТАРИЯ

Не вскрытые наборы должны храниться при 2-8°C в запечатанном виде вместе с осушителем. Открытые наборы останутся стабильными до окончания даты годности. Можно использовать фотометр с шириной дорожки 10 нм или меньше и диапазоном оптической плотности 0-2 ОП или больше, при длине волны 450 нм, что является приемлемым для использования в измерении абсорбции.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

1. Перед использованием все реагенты должны быть приведены к комнатной температуре.

2. Разбавьте лиофилизированные стандарты 1,0 мл дистиллированной воды. Оставьте их на 20 минут и мягко смешайте. Разбавленные стандарты останутся стабильными 30 дней при 2-8° С.
3. **«Хук-эффекта»:** Для предотвращения «хук-эффекта», образцы с ожидаемой концентрацией СЕА выше 9,000 нг/мл могут быть определены при 100-кратном разбавлении (т.е. от 0,01 мл до 1,0 мл) СЕА-не содержащей сывороткой.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. Пометьте стрипы, которые будут использованы.
2. Пипеткой внесите **50 мкл** стандартов, образцов и контролей в соответствующие лунки планшета.
3. Добавьте **100 мкл** ферментного конъюгата в каждую лунку.
4. Тщательно перемешайте на протяжении **30 сек.** Очень важно достичь полного смешивания на данном этапе.
5. Инкубируйте течение **60 минут** при комнатной температуре (18-25°C).
6. Вытряхните содержимое лунок.
7. Промойте дистиллированной или неионизированной водой **5 раз**.
8. Резко встряхните планшет над фильтровальной бумагой и промокните остатки влаги.
9. Добавьте **100 мкл** ТМВ-реагента в каждую лунку. Легко смешивайте **5 секунд**.
10. Инкубируйте **20 минут** при комнатной температуре (18-25°C).
11. Добавьте **100 мкл** стоп реагента в каждую лунку.
12. Легко смешивайте **30 секунд**. **Очень важно, чтобы весь голубой цвет стал желтым.**
13. Измерьте оптическую плотность ячеек при **450 нм** в течении **15 минут**.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. Определите значения средней абсорбции (A450) для каждого набора стандартов, контроля и образцов.
2. Используя линейную или полулогарифмическую бумагу, отметьте точки значений поглощения стандартов в нг/мл на вертикальную ось Y, а соответствующие концентрации на горизонтальную ось X.
3. Используйте среднее значение поглощения для каждого образца, чтобы определить соответствующее значение концентрации СЕА в нг/мл простой интерполяцией со стандартной кривой.
4. Все значения, полученные для разбавленных образцов должны быть конвертированы, используя соответствующий фактор разбавления.

ПРИМЕР ТИПИЧНОЙ СТАНДАРТНОЙ КРИВОЙ

Результаты типичного измерения поглощения стандартов против концентрации СЕА. Следующие данные предназначены только для демонстрации и не должны использоваться во время тестирования:

СЕА (нг/мл)	Абсорбция (450 нм)
0	0,051
3	0,191
12	0,567
30	1,224
60	1,951
120	2,889

(Пример кривой см. в оригинале инструкции).

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ

Наиболее полное изучение СЕА было получено совместным изучением, в котором были проанализированы 35,000 образцов в более чем 10,000 пациентов. В 1425 здоровых некурящих пациентов уровень 98,7% имели значение меньше 5.0 нг/мл. Рекомендуется, чтобы каждая лаборатория устанавливала собственные границы. Минимальная определяемая данным набором концентрация СЕА должна составлять 1.0 нг/мл.

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

1. Достоверные результаты будут достигнуты только при полном понимании инструкции к набору.
2. Процедура промывки крайне важна. Недостаточное промывание приведет к неточности результатов.
3. Образцы сыворотки, демонстрирующие повышенную липемию, гемолиз или мутность не должны использоваться в анализе.
4. Полученные результаты должны оцениваться в комплексе с остальными методами исследования и клиническими данными.

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА:

ЧМП «ДИАМЕБ»
Ул. Чорновола, 97, г. Ивано-Франковск, 76005
Тел.: +38 (0342) 77 51 22
Тел/факс: +38 (0342) 77 56 12
E-mail: info@diameb.com
www.diameb.com