



Набор для определения РАКОВОГО АНТИГЕНА CA-242 CA-242 ELISA

Кат. № : 105-4581
Количество : 96
Производитель : DRG (США)

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

Методика от 08-06-2006

НАЗНАЧЕНИЕ

Данный набор является твердо фазовым иммуноферментным анализом (ELISA). Данный тест дает возможность количественного определения CA 242 антигена для клинической оценки пациентов при подозрении панкреатической опухоли, проктологических и других связанных заболеваний.

ПРИНЦИП

Данный набор является твердо фазовым иммуноферментным анализом, что использует пластиковые ячейки, покрытые стрептавидином. Образцы, стандарты и контроли и биотинальное анти-CA 242 антитело инкубируются в ячейках. Во время инкубации специфический раковый антиген (CA 242) связывается с антителами CA 242 в ячейках. Несвязанный CA 242 антиген удаляется промыванием ячеек буфером. Добавляется энзимный конъюгат в каждую ячейку. После инкубации несвязанный энзимный конъюгат удаляется промыванием и количество связанной пероксидазы пропорционально концентрации антигена CA 242, что присутствует в образце. После добавления хромогена субстрата интенсивность развивающегося окраса пропорционально концентрации антигена CA 242 в образце и может быть количественно определено с помощью фотометра при 450 нм.

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Данный анализ является количественным. Он предназначен для использования *in vitro*.
2. Компоненты этого набора предназначены для использования как единое целое. Не смешивайте компоненты разного лота.
3. Стандарты, содержащие человеческую сыворотку должны обрабатываться как потенциально инфицированные.
4. Не пипетируйте ртом. Избегайте контакта с кожей.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

- Микропланшетные стрипы (96 ячеек): ячейки, покрытые стрептавидином, 8x12 ячеек.
- Раствор биотинилированного захваченного антитела - 11 мл
- Разбавитель образцов или нулевые стандарты – 11 мл
- Концентрат моющего буфера (20x) – 50 мл. Приготовьте рабочий раствор, добавлением очищенной воды до 1 л.
- Энзимный конъюгат – 11 мл. Анти-CA-242 антитела, конъюгированные пероксидазой хрена.
- Стандарты калиброванные на 5, 25, 50, 100 и 200 Е/мл; 0,75 мл каждый.

- Раствор субстрата А – 11 мл. Буферный раствор, содержащий перекись.
- Хромогенный раствор В – 11 мл, ТМВ.
- Стоп раствор: 2 N NCl
- Держатель ячеек.

Материалы, не входящие в состав поставки:

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм.
- Пипетор с наконечниками для измерения 25 мкл и 100 мкл.
- 1 N серная кислота для стоп раствора.
- Чистая пластиковая моющая бутылка 1000 мл для промывания микроячеек рабочим моющим буфером.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовьте рабочий моющий буфер добавлением содержимого концентрата моющего буфера к 1000 мл дистиллированной воды в чистой пластиковой бутылке для промывания. Легко смешайте до полного растворения. Храните при комнатной температуре.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Храните набор при 2-8°C и держите микроячейки в сухом пакете с осушителем.
2. Реагенты стабильны до окончания срока пригодности. Раствор А и раствор В должны быть бесцветными; если раствор приобрел голубой окрас, его нужно заменить. Храните набор вдали от сильного источника света.

СБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Кровь необходимо собирать, используя стандартную технику венопункции. Отделите сыворотку центрифугированием при комнатной температуре. Если сыворотка не будет анализироваться немедленно, она может храниться при -20°C до шести месяцев. Избегайте повторных циклов замораживания и размораживания. Избегайте сильно гемолизированных, липемических и мутных образцов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ К АНАЛИЗУ

1. Приведите все реагенты к комнатной температуре (20-25°C) и легко перемешайте перед началом тестирования.
2. Держите все реагенты и образцы готовыми к использованию. После начала теста, проводите его без перерывов.
3. Используйте новые одноразовые наконечники.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. Поместите нужное количество лунок в рамку для стрипов.
2. Внесите 25 мкл разбавителя образца в ячейку 1 в качестве бланка, 25 мкл стандартов, образцов и контролей в соответствующие ячейки. Добавьте в каждую ячейку 100 мкл биотинилированного раствора (голубой цвет), кроме ячейки бланка.
3. **Инкубируйте 60 минут при комнатной температуре.**
4. Удалите инкубационный раствор и промойте ячейки пять раз моющим буфером.
5. Внесите 100 мкл энзимного конъюгата в каждую ячейку кроме ячейки бланка.
6. **Инкубируйте 60 минут при комнатной температуре.**
7. Промойте 5 раз моющим буфером.
8. Внесите 100 мкл раствора А и 100 мкл раствора В.
9. **Инкубируйте 30 минут при комнатной температуре.**
10. Остановите реакцию добавлением 50 мкл 1N серной кислоты (стоп раствор) в каждую ячейку.

11. Настройте на ноль ридер и измерьте абсорбцию каждой ячейки при 450 нм.

ПРОЦЕДУРНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

1. Промойте микроячейки и удалите воду тщательно для достижения наилучших результатов.
2. Пипетируйте реагенты и образцы на дно ячеек. Смешивание на вортексе или встряхивателе после добавления образцов и реагентов не обязательно.
3. Поместите соответствующее число ячеек в держатель и откройте все крышки образцов и реагентов перед началом тестирования. Это даст возможность пипетирования за равные интервалы времени без перерывов. Максимум образцы 30 пациентов могут анализироваться в одном тесте для предотвращения ошибки через неодинаковое время добавления образцов.
4. Абсорбция зависит от времени и температуры инкубации. Рекомендуется держать реагенты, образцы и ячейки готовыми перед началом теста.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Выведите концентрацию (x) каждого контрольного стандарта против его абсорбции (y) на всей графопостроительной логарифмической бумаге. Получите значение антигена пациента CA-242 ссылаясь на калибровочную кривую как указано таблице: данные указаны только для использования в демонстрационных целях. (См. в оригинале инструкции, раздел 13).

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

- Рекомендуется, что в каждой лаборатории определяла собственные нормальные и патологические границы в зависимости от окружающих факторов.
- Клиническое изучение CA 242: образцы сыворотки 236 нормальных пациентов были проанализированные и показали, что 96% индивидов имели значение ниже 15 Е/мл и 4% в границах 15-25 Е/мл.

ПРИМЕНЕНИЕ И ОГРАНИЧЕНИЕ ПРОЦЕДУРЫ

1. CA 242 не должен использоваться для скрининга опухоли и не должен замещать установленные клинические проверки.
2. Для диагностических целей, антиген CA 242 должен использоваться как дополнение к другим данным.
3. Образцы с уровнем CA 242 выше 200 Е/мл необходимо разбавить для получения точных результатов.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Каждая лаборатория должна использовать внутренние контроли нескольких уровней для изучения качества анализа. Контроли необходимо изучать как неизвестные. Полученные результаты должны согласовываться с указанными значениями контролей.

ХАРАКТЕРИСТИКИ ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА

Точность

Внутри тестовая: Три сыворотки анализировались 8 одиночных анализах

Сыворотка	Среднее (Е/мл)	Внутри тестовый	
		СО	КВ %
A	54,4	3,05	5,61
B	112,7	6,13	5,43
C	213,5	10,40	4,87

Междутестовая: три сыворотки тестировались в дубле четыре дня

Сыворотка	Среднее (Е/мл)	Между тестовый	
		СО	КВ %
A	53,8	6,29	11,65
B	116,8	8,23	7,06
C	226,4	23,38	10,33

Точность

Сыворотка, содержащая 333 Е/мл разбавлена последовательно CA 242 не содержащей сывороткой. Разбавления тестировались и восстановление CA 242 сравнивались с ожидаемыми концентрациями.

Разбавление образца	Ожидаемый уровень CA 242 (Е/мл)	Вымеренный уровень CA 242 (Е/мл)	Восстановление
Неразб.	333,0		
1:1/5	266,5	287,0	107,7
1:1/4	249,8	244,4	97,8
1:1/3	222,0	203,0	91,4
1:1	166,5	165,5	99,3
1:2	111,0	112,2	101,1
1:4	83,0	86,3	104,0

Образцы с известной концентрацией CA 242 были обогащенные разной концентрацией CA 242 при одинаковом объеме. Образцы потом тестировались и восстановление CA 242 сравнивались с ожидаемыми.

CA 242 Е/мл	Обогащенные CA 242 Е/мл	Ожид. вел-на Е/мл	Вымер. вел-на Е/мл	Восстан. %
5,0	25,0	15,0	14,3	95,3
5,0	85,0	45,0	45,8	101,8
5,0	158,0	81,5	84,7	103,9
25,0	85,0	55,0	56,5	102,7
25,0	158,0	91,5	97,3	106,3
100,0	158,0	129,0	117,3	90,9

Специфичность

Данный тест использует только антигены CA 242. Следующие компоненты тестировались на перекрестную реактивность анализа. Перекрестная реактивность к другим компонентам, что могут присутствовать в образце пациента, не определяется при концентрации, указанной внизу. Перекрестная реактивность не обнаружена при концентрации для ПСА (120 нг/мл), ПАП (60 нг/мл), СЕА (18248 нг/мл), АФП (10000 нг/мл), СА 125 (1000 нг/мл). Однако неочищенный антиген CA 153 и CA 199 реагирует с CA 242 в этом тесте.

Минимально определяемая концентрация

Лимит определения данного анализа равен 1 Е/мл. Минимально определяемая концентрация CA 242 определена как тот CA 242, что соответствует абсорбции 2 СО от средней абсорбции 10 репликантов разбавителя образца (0 Е/мл).

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