

НАБІР ІФА ПО ВИЯВЛЕННЮ РАКОВОГО АНТИГЕНУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

6333-16, CA-15-3 ELISA

Каталог. №: 6333-16

Методика від 24-06-2016

Кількість : 96

Виробник : DAI (США)



Основою при проведенні аналізу є оригінал інструкції англійською мовою, вкладеної в набір. Номер і дата версії оригіналу та перекладу інструкції повинні співпадати.

ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ

Кількість тестів	96 тестів
Тест	CA-15-3
Метод	ІФА: Твердофазовий імуносорбентний аналіз
Принцип	Сендвіч комплекс
Діапазон виявлення	0-240 Од/мл
Зразок	100 мкл сироватки
Специфічність	97.5 %
Чутливість	5 Од/мл
Загальний час	~ 140 хвилин
Термін зберігання	12-14 місяців
Температура зберігання	2-8 °C

НАЗВА І ПРИЗНАЧЕННЯ ВИКОРИСТАННЯ

Даний набір розроблений в якості тесту з моніторингу та скринінгу раку молочної залози. Патологічні результати (наприклад, підвищений рівень CA 15-3 в сироватці) може позначати необхідність клінічного втручання. Аналіз CA 15-3 використовується як маркер пухлини для пацієнтів при клінічній ремісії, після лікування. Після оперативна величина CA 15-3, яка не вернулась до норми, вказує на присутність залишків ракових клітин. Раковий рецидив часто супроводжується зростанням CA 15-3 до того, як прогресуюча хвороба стане клінічно очевидною.

Рак грудей є найбільш поширеною злоякісною пухлиною у жінок багатьох розвинених країн на сьогоднішній день, приблизно 180 000 нових діагнозів щорічно. Приблизно половина нових діагнозів є злоякісними, оскільки 30% цих діагнозів прогресують до метастаз. Існує велика кількість ракових маркерів, які допомагають ідентифікувати і поставити діагноз пухлини грудей і призначити безболісний курс. Ці маркери включають рецептори естрогену і прогестерону, ДНК плоідність і S-відсоток фазовий профіль, рецептор епідермального фактора росту, HER-2/новий онкоген, p53 пухлинний пригнічує ген, cathepsin D, маркер розмноження і CA 15-3. CA 15-3 найбільш використовується для моніторингу пацієнтів після операції на рецидив, особливо хвороб метастаз. 96% пацієнтів з частковим або системним рецидивом мають збільшений рівень CA 15-3, що може бути використано для прогнозу рецидиву в більш ранні терміни, ніж за радіологічними або клінічними критеріями. У 25% збільшення в сироватці CA 15-3 асоціюється з прогресуванням пухлини. 50% випадків зменшення в сироватці CA 15-3 асоціюється з відповіддю на лікування. CA 15-3 є більш чутливим, ніж CEA при ранній діагностиці рецидиву пухлини грудей. У комплексі з CA 125, CA 15-3 використовується в ранній діагностиці рецидиву пухлини яєчників. Рівень CA 15-3 також збільшується при раку товстої кишки, легенів і печінки.

ПРИНЦИП РОБОТИ ТЕСТУ

Аналіз CA 15-3 є двостороннім твердофазовим ферментним імуноаналізом. Молекули CA 15-3 знаходяться в «сендвічі» між двома моноклональними антитілами. Одне привіє до дна лунок мікропланшетів, а інше пов'язане з пероксидазою хрому (ензимний кон'югат). Після інкубації і промивання, ферментна реакція виробляє колір, який пропорційний кількості CA 15-3 молекул, що присутні в аналізі.

ЗАБІР І ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

1. Кров необхідно збирати, використовуючи стандартну техніку венепункції; сироватку відокремити від червоних кров'яних клітин якомога швидше. Уникати сильно гемолізованих, ліпемічних і каламутних зразків.

- Зразки плазми, зібрані в пробірки, що містять ЕДТК, гепарин або оксалат, можуть впливати на процедуру, тому їх не слід використовувати.
- Зразки повинні зберігатися в закритих ємностях до 48 годин при 2-8 °C перед початком тестування. Для більш тривалого зберігання (до 6 місяців) вони повинні бути заморожені до -20 °C. Розморожені зразки необхідно перемішати.

МАТЕРІАЛИ І КОМПОНЕНТИ

Матеріали, що поставляються з набором

- Пластина мікротитратора з лунками, покритими моноклональним анти-CA-15-3 антитілом, 96 лунок.
- Розріджувач зразка, 100 мл.
- Ферментний кон'югат, 12 мл.
- Набір контрольних стандартів: 0, 15, 30, 60, 120 і 240 Од/мл (Рідкі, готові до використання) або ліофілізовані.
- Концентрат промивного буфера (50X), 15 мл.
- ТМВ субстрат, 12 мл.
- Стоп розчин, 12 мл.
- Набір контролів (опційно).

Матеріали, що не входять до складу поставки:

- Точні піпетки і наконечники: 0,1 мл, 0,2 мл, 1 мл, 5 мл.
- Дистильована вода.
- Одноразові наконечники для піпеток.
- Вихрова мішалка.
- Промокальний папір або паперові рушники.
- Зчитувач для планшетів з довжиною хвилі 450 нм, шириною смуги 10 нм або менше і діапазоном оптичної щільності 0-2 OD або більше.
- Папір для побудови графіків.

ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ

- Перед використанням приведіть реагенти до кімнатної температури (18-22 °C) і змішайте легким перевертанням або обертанням. Уникайте утворення піни.
- Якщо референтні стандарти ліофілізовані, розбавте кожен стандарт з 0.5 мл дистильованої води. Залишити розведений матеріал на 20 хвилин, мінімум. Розведені стандарти запечатати і зберігати при 2-8 °C.
- Розбавте 1 частину промивального буфера (50x) 49 частинами дистильованої води. Наприклад: розбавте 15 мл промивного буфера (50x) дистильованою водою для приготування 750 мл промивного буфера (1x). Ретельно перемішайте перед використанням.

ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

Важливе зауваження:

- Стандарти CA 15-3 попередньо розбавлені і готові до використання. Не розбавляйте їх знову!**
- Сироватка пацієнта і контрольна сироватка повинні бути розведені 51-кратно перед використанням. Приготуйте серію маленьких пробірок (напр. 1,5 мл мікроцентрифужних пробірок) і змішайте 20 мкл сироватки з 1,0 мл розріджувача зразка.
 - Помістіть потрібну кількість лунок в тримач. Внесіть 100 мкл стандартів, розбавлених зразків і розбавлених контролів у відповідні лунки. Ретельно, але обережно перемішайте 10 секунд.
 - Інкубуйте при 37 °C 1 годину.
 - Видаліть вміст лунок. Промийте і витрусіть вміст планшета 5 разів з промивним буфером (1x). Різно переверніть планшет на абсорбуючий папір, щоб видалити всі залишки рідини.
 - Внесіть 100 мкл реагенту ферментного кон'югату в кожен лунку. Ретельно перемішайте протягом 10 секунд.
 - Інкубуйте при 37 °C 1 годину.
 - Видаліть вміст лунок і промийте планшет як описано в п. 4 вище.
 - Внесіть 100 мкл реагенту субстрату ТМБ в кожен лунку. Акуратно перемішайте протягом 10 секунд.
 - Інкубуйте при кімнатній температурі в темряві протягом 20 хвилин.
 - Зупиніть реакцію внесенням 100 мкл стоп розчину в кожен лунку. Акуратно перемішайте протягом 10 секунд. Переконайтеся в повній зміні синього забарвлення на жовту.
 - Виміряйте оптичну щільність лунок при 450 нм протягом 15 хвилин.

Важливе зауваження:

- Процедура промивання є дуже важливою. Недостатнє промивання призведе до низької точності і хибно завищеній абсорбції.**
- Рекомендується використовувати не більше 32 лунок при кожному проведенні аналізу, якщо використовується ручне піпетування, оскільки, піпетування всіх**

стандартів, зразків і контролів має займати не більше 5 хвилин. Використання повного планшета на 96 лунок можливо при автоматичному Піпетуванні.

3. Дублювання всіх стандартів і зразків не обов'язково, але рекомендується.

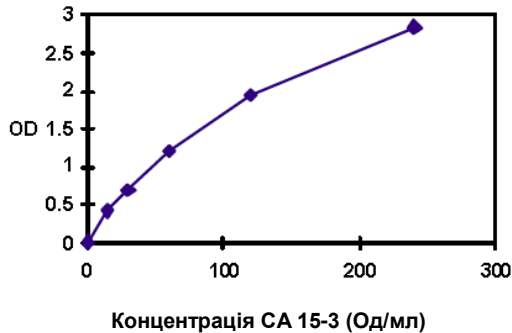
ОБЧИСЛЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Визначте середню абсорбцію для кожного набору стандартів, і зразків. Побудуйте стандартну криву, відкладаючи точки середньої абсорбції стандартів на вертикальну вісь Y, проти відповідних концентрацій на горизонтальну вісь X. Використовуйте середнє значення абсорбції для кожного зразка, щоб визначити відповідне значення концентрації СА 15-3 в Од/мл зі стандартної кривої. Рекомендується, щоб зразки аналізувалися в подвійному екземплярі. Так як стандарти СА 15-3 вже 51-кратно розбавлені, немає необхідності множити значення зразків і контролів на коефіцієнт розведення.

Приклад побудови калібрувальної кривої

Результати типовою процедури зчитування з використанням калібраторів, що проводиться при ОП 450 нм, вказані на осі Y проти концентрації СА15-3, зазначеної на осі X.

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



ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

1. Надійні та відповідні результати будуть отримані при проведенні аналізу відповідно з інструкцією і хорошою лабораторною практикою.
2. Процедура промивання дуже важлива. Недостатнє промивання може призвести до неточних результатів.
3. Зразки пацієнтів можуть містити людські анти-мишачі антитіла (НАМА), що можуть впливати на результати. Даний набір розроблений для мінімізації впливу зразків, які містять НАМА. Але, повного виключення цього впливу ми не можемо гарантувати. Результати, які не відповідають клінічній картині чи історії, повинні інтерпретуватися з обережністю.

ЗБЕРІГАННЯ НАБОРІВ І ІНСТРУМЕНТАРІЮ

1. Запечатані набори слід зберігати при 2-8 °С, а планшет - в закритій упаковці з поглиначем вологи до кінця терміну придатності. Набір може використовуватися до закінчення терміну придатності (один рік після дати виготовлення). Дивіться дату придатності, зазначену на етикетці.
2. Розкритий набір залишається стабільним до закінчення терміну придатності при зберіганні як зазначено вище.
3. Мікропланшетний зчитувач з шириною доріжки 10 нм або менше і діапазоном оптичної щільності 0-2 ОП або вище при довжині хвилі 450 нм використовується для вимірювання абсорбції.



ОФІЦІЙНИЙ ДИСТРИБ'ЮТОР

ТОВ «ДІАМЕВ»
вул. Чорновола, 97
м. Івано-Франківськ, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com