



НАБОР ИФА

для количественного определения в сыворотке и плазме ракового антигена CA 19-9

Кат. № : EIA-3940
Кількість : 96
Виробник : DRG (Германия)

Методика от 08-2010
Версия 4.0

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

1. ВВЕДЕНИЕ

Набор ИФА DRG CA 19-9 для количественного определения, связанного с раком, антигена CA 19-9 в сыворотке и плазме человека.

Набор предназначен только для диагностического использования *in vitro*.

2. ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Микротитровальные лунки покрыты моноклональным антителом к антигенному сайту на молекуле CA 19-9.

Аликвоты пациента с эндогенной CA 19-9 инкубируют в лунке с конъюгатом фермента (анти-CA 19-9 антитело – пероксидаза хрена). После инкубации несвязанный конъюгат вымывают.

Количество связанного конъюгата пропорционально концентрации CA 19-9 в образце. При добавлении раствора субстрата, интенсивность образовавшейся окраски пропорциональна концентрации CA 19-9 в образце пациента.

3. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Только для использования в «ин-витро» диагностике.
2. Все реагенты проанализированы на ВИЧ и гепатит В и признаны безопасными. Однако весь материал стоит расценивать как потенциально заразный.
3. Избегать контакта со стоп-раствором (0,5 М H₂SO₄). Можно получить раздражение кожи или ожог.
4. Не пипетировать ртом и избегать контакта реагентов и образцов с кожей или слизистыми.
5. Не курить, не есть, не пить, не наносить косметику вблизи реагентов.
6. Надевать одноразовые латексные перчатки при контакте с реагентами. Микробная контаминация может дать ложные результаты.
7. Не использовать реагенты с истекшим сроком годности.
8. Не смешивать реагенты между собой и не использовать реагенты из других наборов.
9. Все объемы нужно вносить согласно процедуре. Оптимальных результатов возможно достичь только при использовании калибровочных пипеток и микропланшетного ридера.
10. Не смешивать реагенты с разных лотов. Не рекомендуется также смешивать лунки одного набора. Наборы могли храниться при разных условиях и при их использовании могут быть получены разные результаты.
11. Реагенты считать опасными и уничтожать согласно законодательству.

4. КОМПОНЕНТЫ НАБОРА

4.1 Содержимое набора

1. **Микротитрационные лунки** с 96 лунками, покрытыми анти-CA 19-9 моноклональными антителами.
2. **Нулевой Стандарт**, 1 флакон, 3 мл, готов к использованию.
3. **Стандарт (стандарт 1-5)**, 5 флаконов, 0,5 мл, готов к использованию. Концентрации: 15, 30, 60, 120, 240 Е/мл.
4. **Контроль**, 1 флакон, 0,5 мл, (лиоф.)
Значения контролей и границы узнайте на этикетке. Содержит 0,3% Проклина в качестве консерванта.
5. **Ферментный конъюгат**, 1 флакон, 14 мл, готов к использованию анти-CA 19-9 антисыворотка, конъюгирована пероксидазой хрена Содержит 0,3% проклина в качестве консерванта.
6. **Раствор субстрата**, 1 флакон, 14 мл, готов к использованию. ТМБ.
7. **Стоп-раствор**, 1 флакон, (0,5 М H₂SO₄), 14 мл.
Избегайте контакта с стоп раствором. Может вызвать ожоги кожи.
8. **Промывочный раствор**, 40X концентрат, 1 флакон, 30 мл

4.1.1 Материалы необходимые, но не поставляемые

- Прецизионные микропипетки
- Дистиллированная вода.
- Абсорбирующая бумага.
- Планшетный ридер откалиброванный на измерение при 450 нм

4.2 Хранение и стабильность набора

Закрытый набор хранится при 2-8°C, микротитровальная панель – в закрытом пакете с влагопоглотителем.

После открытия неиспользованные лунки необходимо запечатать в том же пакетице из фольги. Вскрытый набор стабилен до даты срока годности, при условии хранения как описано выше.

4.3 Подготовка реагентов

Довести реагенты до комнатной температуры непосредственно перед использованием.

Контроль

Развести лиофилизированный порошок 0,5 мл дистиллированной водой и дать отстояться 10 мин минимум. Помешать контроль несколько раз перед использованием.

Разведенный контроль должен храниться при –20°C.

Промывочной раствор

Разбавьте 30 мл концентрированного Моющего Раствора с 1170 мл деионизированной воды для конечного объема 1200 мл.

Разбавленный промывочный раствор стабилен 2 недели при комнатной температуре.

4.4 Уничтожение набора

Утилизацию набора необходимо осуществлять в соответствии с государственными правилами. Специальная информация о данном наборе предоставлена в Паспорте безопасности (см. Раздел 13 в данной инструкции).

4.5 Повреждение наборов

В случае серьезного повреждения набора или его компонентов, необходимо проинформировать об этом компанию DRG в письменной форме не позднее 1 недели после получения набора. Сильно поврежденные отдельные компоненты не должны использоваться в анализе. Они должны храниться до достижения окончательного решения. После этого они должны быть уничтожены согласно официальным правилам.

5. ОБРАЗЦЫ

В данном исследовании может использоваться сыворотка или плазма (ЭДТА или гепариновая).

Не рекомендуется использовать гемолитические, желтушные или липемические образцы.

Примечание: Образцы, содержащие азид натрия в анализе не должны использоваться.

5.1 Сбор образцов

Сыворотка:

Собрать кровь через вену, дать свернуться крови и отцентрифугировать её при комнатной температуре. Не центрифугировать пока свертывание не произошло до конца. Время свертывания может быть удлинено для пациентов, которые проходят антикоагуляционную терапию.

Плазма:

Вся кровь должна помещена быть помещена в контейнеры для центрифугирования вместе с антикоагулянтами сразу после отбора.

5.2 Хранение образцов

Образцы хранить 5 дней при 2-8°C перед проведением анализа или при – 20°C на более долгий срок. Растопленные образцы нужно несколько раз перевернуть перед проведением анализа.

5.3 Разбавление образцов

При проведении первого анализа, образец сыворотки больше чем наивысший стандарт и его можно развести в 10 раз или в 100 раз со *стандартом 0* и провести анализ еще раз. Для определения концентрации нужно учесть фактор разбавления.

Например:

- 1) 1:10 10 мкл сыворотки + 90 мкл нулевого стандарта (тщательно смешать)
- 2) 1:100 10 мкл разбавленного 1) 1:10 + 90 мкл нулевого стандарта (тщательно смешать)

6. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

6.1 Общие замечания

- Все реагенты и образцы нужно привести к комнатной температуре перед использованием. Их нужно смешать без пенообразования.

- Как только процедура анализа начата, следите за тем, чтобы все шаги проводились без прерывания.

- Используйте новые наконечники для пипеток для каждого стандарта, контроля, или образца для того чтобы избежать перекрестного загрязнения.

- Абсорбция зависит от температуры и времени инкубации. Перед началом анализа рекомендуется приготовить все реагенты, снять крышечки, поместить стрипы в держатель. Это даст возможность минимизировать время между шагами анализа.

- Общее правило: ферментная реакция линейно пропорциональна времени и температуре.

6.2 Процедура анализа

1. Закрепить желаемое количество лунок в держателе.
 2. Раскапать по **10 мкл** стандартов, образцов, контролей в соответствующие лунки новыми наконечниками.
 3. Раскапать по **100 мкл** ферментного конъюгата в каждую лунку.
 4. Аккуратно перемешивать 10 секунд. Важно добиться полного смешивания на этом этапе.
 5. Инкубировать при комнатной температуре в течение **30 минут** не накрывая планшет.
 6. Удалить инкубационную смесь в контейнер для отходов. Промыть лунки 3 раза разведенным раствором для промывки (400 мкл на лунку). Постучать панелью по абсорбирующей бумаге, чтобы удалить оставшиеся капли.
- Примечание:** Чувствительность и точность анализа очень зависят от точного исполнения процедуры промывания.
7. Раскапать по **100 мкл** субстрата раствора в каждую лунку.
 8. Инкубировать при комнатной температуре **30 минут**.
 9. Остановить реакцию, добавив **100 мкл** стоп-раствора в каждую лунку.
 10. Считывать оптическую плотность при 450 нм **в течение 10 минут**.

6.3 Расчет результатов

1. Подсчитать средние значения абсорбции для каждого набора стандартов, контролей и образцов.
2. Построить стандартную кривую, поместив средние значения абсорбции, полученные для каждого референс-стандарта против его концентрации в U/ml, с абсорбцией на вертикальной оси (y) и концентрацией на горизонтальной оси (x).
3. Используя средние значения абсорбции для каждого образца, определить соответствующую концентрацию CA 19-9 в Е/мл по стандартной кривой.
4. Автоматический метод: компьютерные программы, использующие кубическое сглаживание, 4 PL или Logit-Log могут давать хороший результат.
5. Концентрация образцов может быть прочитана прямо из этой стандартной кривой. Образцы с концентрациями выше стандартных должны быть разведены еще. Но при подсчете концентрации фактор разведения должен быть взят в расчет.

Стандарт	Е/мл	Опт. единицы (450 нм)
Стандарт 0	0	0,06
Стандарт 1	15	0,23
Стандарт 2	30	0,41
Стандарт 3	60	0,69
Стандарт 4	120	1,22
Стандарт 5	240	2,10

7. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Настоятельно рекомендуется, что каждая лаборатория установила собственные нормальные и патологические значения. При обследовании явно здоровых взрослых, используя данный набор, были получены следующие значения:

Популяция	5 %	95 %
Мужчины и женщины	0 Е/мл	18,4 Е/мл

Официальное пороговое значение составляет **37 Е/мл**.

8. ХАРАКТЕРИСТИКИ АНАЛИЗА**8.1 Динамический диапазон анализа**

Граничные нормы анализа 0-240 Е/мл

8.2 Специфичность антител (перекрестная реактивность)

Неизвестна.

8.3 Аналитическая чувствительность

Аналитическая чувствительность была определена как среднее + два стандартных отклонения 20 дублированных анализов Нулевого Стандарта и составило 0,888 Е/мл

8.4 Точность**8.4.1 В анализе**

Образец	К-во	Среднее (Е/мл)	КВ (%)
1	20	59,99	5,71

8.4.2 Между анализами

Образец	К-во	Среднее (Е/мл)	КВ (%)
1	12	60,52	4,86
2	12	15,92	4,88
3	8	70,93	7,23

8.5 Достоверность**8.5.2 Контроль качества**

Рекомендуется использовать контрольные образцы согласно регулированию. Контрольные образцы нужно использовать каждый день для подтверждения результатов. Их используйте на нормальных и паранормальных уровнях.

Контроли и соответствующие результаты Лабораторий контроля качества показаны в сертификате контроля качества, который добавляется к набору.

Значения и нормы в сертификате отвечают данному набору и их не нужно использовать для прямого сравнения с результатами анализа.

Рекомендуется также использовать национальные и международные программы Контроля Качества для большей точности полученных результатов.

Используйте подходящие статистические методы для анализа контрольных значений и общих направлений. Если результаты анализа не подходят к установленным нормам значений контрольных материалов, результаты пациента нужно считать недействительными. В этом случае пожалуйста сверьте следующие технические аспекты: Средства для пипетирования и измерения времени, фотометр, даты истечения сроков годности реагентов, условия хранения и инкубирования, методы аспирации и промывания.

После проверки всего выше указанного, и в случае если ошибка не выявлена, контактируйте дистрибьютора.

8.5.2 Восстановление

(См. в оригинале инструкции).

8.5.3 Линейность

(См. в оригинале инструкции).

9. ОГРАНИЧЕНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ**9.1 Влияющие вещества**

Неправильное обращение с образцами или модификация анализа может влиять на результаты.

Гемоглобин (до 4 мг/мл), билирубин (до 0,125 мг/мл) и триглицериды (до 30 мг/мл) не влияют на результаты анализа.

Анализ содержит реагенты для минимизирования смешивания с НАМА и гетерофильными антителами. Тем не менее, высокие уровни НАМА или гетерофильных антител могут влиять на результаты анализа.

9.2 Влияние лекарств

До сегодняшнего дня не известны вещества (лекарства), что влияют на результаты анализа.

9.3 «Хук-эффект» высокой дозы

В настоящем анализе не обнаружен.

10. ПРАВОВЫЕ АСПЕКТЫ**10.1 Достоверность результатов**

Анализ должен проводиться точно с инструкцией производителя. Также пользователь должен следовать национальным стандартам и законам. Это особенно относится к использованию контролей. Очень важно всегда включать в анализ достаточное количество контролей для оценки достоверности и точности анализа. Результаты анализа достоверные, только если контроли попадают в указанные границы и если все другие параметры соответствуют спецификации.

10.2 Терапевтические заключения

Терапевтические заключения никогда не должны основываться только на одних результатах лабораторных исследований, если даже все результаты исследований соответствуют параметрам в п. 10.1. Любой лабораторный результат является только частью общей клинической картины пациента.

10.3 Ответственность

Любое изменение набора и/или замена или компонентов разных лотов с одного набора или с другого может негативно влиять на результаты и весь тест. Такая замена не может быть основой для претензий или просьбы о замене набора.

Претензии в случаях неправильного использования набора лабораторией исходя из п. 10.2 тоже не могут являться действительными. Не смотря на это, в случае любой претензии, в производитель обязывается не повышать значения набора. Производитель не несет ответственности за любое повреждение набора, случившееся вследствие его неправильной транспортировки.

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА:

ЧМП «ДИАМЕБ»

Ул. Черновола, 97, г. Ивано-Франковск, 76005

Тел.: (0342) 775122

Тел/факс: (0342) 775612

E-mail: info@diameb.ua

www.diameb.ua