



## Набор ИФА для определения РАКОВОГО АНТИГЕНА СА-242

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

Методика от 20-10-2009

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

### НАЗВАНИЕ и НАЗНАЧЕНИЕ

Данный набор является твердофазовым иммуноферментным анализом (ИФА). Данный анализ дает возможность количественного определения антигена СА-242 для клинической оценки пациентов при подозрении панкреатического рака, проктологических и других смежных заболеваний.

### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Данный набор является твердофазовым иммуноферментным анализом, что использует пластмассовые лунки, покрытые стрептавидином. Образцы, стандарты и контроли и биотинальное анти-СА 242 антитело инкубируются в лунках. Во время инкубации специфический раковый антиген (СА-242) связывается с антителами СА-242 в лунках. Несвязанный антиген СА-242 удаляется промыванием лунок буфером. Добавляется ферментный конъюгат в каждую лунку. После инкубации несвязанный ферментный конъюгат удаляется промыванием, а количество связанной пероксидазы пропорционально концентрации антигена СА-242, который присутствует в образце. После добавления хромогена субстрата интенсивность развивающегося окраса пропорционально концентрации антигена СА-242 в образце и может быть количественно определена с помощью фотометра при длине волны 450 нм.

### ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

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

### ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

1. **Микропланшетные стрипы** (96 лунок): лунки, покрытые стрептавидином, 8x12 лунок.
2. **Раствор биотинилированного захваченного антитела** - 11 мл.
3. **Ферментный конъюгат** - 11 мл. Анти-СА-242 антитела, конъюгированные пероксидазой хрена.
4. **Разбавитель образцов** или нулевые стандарты - 11 мл.
5. **Референтные стандарты**, 5, 25, 50, 100 и 200 Е/мл; 0,5 мл каждый.
6. **Низкий и высокий контроль**, 0,5 мл каждый.
7. **Раствор ТМВ** - 11 мл, буферный раствор, содержащий пероксидазу и тетраметилбензидин.
8. **Концентрат промывочного буфера** (100x) - 10 мл. Приготовьте рабочий раствор добавлением 10 мл концентрата промывочного буфера к 990 мл дистиллированной воды.
9. **Стоп раствор:** 2 N NCl.
10. Держатель лунок. Для закрепления отдельных лунок.

### ТРЕБУЕМЫЕ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

1. Планшет-ридер с длиной волны 450 нм.
2. Дозатор с наконечниками для измерения 25 мкл и 100 мкл.
3. Чистая пластмассовая промывочная бутылка 1000 мл для промывания микролунок рабочим промывочным буфером.

### ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

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

### ХРАНИЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Храните набор при 2-8°C и держите микролунки в сухом пакете с осушителем. Реагенты стабильны до окончания срока годности. 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 ПОДГОТОВКА 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.

### ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Приведите все реагенты к комнатной температуре (24±3°C) и легко перемешайте перед началом исследования. Держите все реагенты и образцы готовыми к использованию. После начала исследования проводите его без перерывов, чтобы получить наиболее достоверные и надежные результаты. Для каждого образца используйте новые одноразовые наконечники.

### ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Поместите нужное количество лунок в рамку для стрипов. Сделайте отметки в контрольном листке с обозначением образцов.
2. Внесите 25 мкл разбавителя образца в лунку 1 в качестве бланка, 25 мкл стандартов, образцов и контролей в соответствующие лунки. Добавьте в каждую лунку 100 мкл биотинилированного раствора (синего цвет), кроме лунки бланка.
3. Инкубируйте 60 минут при комнатной температуре.
4. Удалите инкубационный раствор и промойте лунки пять раз промывочным буфером (300 мкл/лунку).
5. Внесите 100 мкл ферментного конъюгата в каждую лунку кроме лунки бланка.
6. Инкубируйте 60 минут при комнатной температуре.
7. Промойте 5 раз промывочным буфером (300 мкл/лунку).
8. Внесите 100 мкл раствора А и 100 мкл раствора В.
9. Инкубируйте 30 минут при комнатной температуре.
10. Остановите реакцию добавлением 50 мкл стоп раствора в каждую лунку.
11. Обнулите ридер относительно бланка и измерьте абсорбцию каждой лунки при 450 нм.

### ПРОЦЕДУРНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

Промойте микролунки и удалите воду тщательно для достижения наилучших результатов. Пипетируйте реагенты и образцы на дно лунки. Смешивание на вортексе или встряхивателе после добавления образцов и реагентов не обязательно.

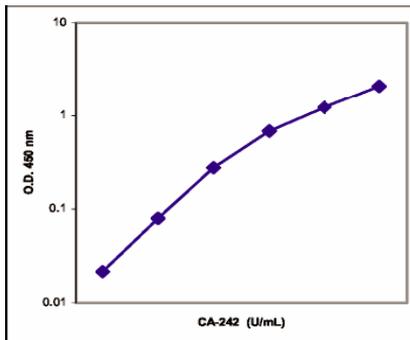
Поместите соответствующее число лунок в держатель и откройте все крышки образцов и реагентов перед началом тестирования. Это даст возможность пипетирования за равные интервалы времени без перерывов. Максимум образцы 30 пациентов могут анализироваться в одном тесте для предотвращения ошибки через неодинаковое время добавления образцов. Абсорбция зависит от времени и температуры инкубации. Рекомендуется держать реагенты, образцы и лунки готовыми перед началом исследования.

### ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Выведите концентрацию (x) каждого референтного стандарта против его абсорбции (y) по всей графопостроительной логарифмической бумаге. Получите значение антигена пациента СА-242 ссылаясь на калибровочную кривую как указано в таблице (данные указаны только для использования в демонстрационных целях и не должны использоваться вместо данных, полученных в каждом анализе:

№ лунки	Описание (Е/мл)	Абсорбция (450 нм)	СА242 (Е/мл)
A1	0	0.019	
A2		0.024	
B1	5	0.074	
B2		0.085	
C1	25	0.286	
C2		0.268	
D1	50	0.636	
D2		0.729	
E1	100	1.149	
E2		1.303	

F1		2.084	
F2	200	2.085	
G1	Пациент 1	0.268	18.3
G2		0.219	
H1	Пациент 2	1.108	94.5
H2		1.065	



#### ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Рекомендуется, чтобы каждая лаборатория определяла собственные нормальные и патологические границы в зависимости от окружающих факторов.

Клиническое количественное изучение CA-242 было проведено в стационаре и полученные результаты были следующими: 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.

#### ПРИМЕНЕНИЯ И ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

CA-242 не должен использоваться для скрининга опухоли и не должен замещать установленные клинические проверки.

Для диагностических целей, антиген CA-242 должен использоваться как дополнение к другим данным. 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 контроля качества анализа. Контроли необходимо рассматривать как неизвестные. Полученные результаты должны согласовываться с указанными значениями контролей.

#### РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

##### Точность

В анализе: Три объединенные сыворотки анализировались 8 раз в одной процедуре.

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

Между анализами: три объединенные сыворотки тестировались в дубле на протяжении четырех дней.

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

##### Соответствие

Сыворотка, содержащая 333 Е/мл разбавлена последовательно CA-242, не содержащей сыворотки. Разбавления исследовались и восстановления CA-242 сравнивались с ожидаемыми концентрациями.

Разбавление образца	Ожидаемый уровень CA-242 (Е/мл)	Полученный 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 насыщены разной концентрацией CA-242 при одинаковом объеме. Образцы потом исследовались и восстановления CA-242 сравнивались с ожидаемыми.

CA-242 Е/мл	Насыщенный CA-242 Е/мл	Ожидаемое значение Е/мл	Полученное значение Е/мл	Восстановление %
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

Данным набором используются 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 наборе.

#### 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).

#### ЛИТЕРАТУРА

(См. в оригинале инструкции).

#### ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА:

**ЧМП «ДИАМЕБ»**  
 Ул. Чорновола, 97, г. Ивано-Франковск, 76005  
 Тел.: (0342) 775122  
 Тел/факс: (0342) 775612  
 E-mail: info@diameb.ua  
[www.diameb.ua](http://www.diameb.ua)