

# НАБОР ИФА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ РАКОВОГО АНТИГЕНА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

## 6333-16, CA-15-3 ELISA

Каталог. № : 6333-16  
Количество : 96  
Производитель: DAI (США)

Методика от 09-13-2013



Основой при проведении анализа является оригинал инструкции на английском языке, вложенной в набор. Номер и дата версии оригинала и перевода инструкции должны совпадать.

### ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Количество тестов	96 тестов
Тест	СА-15-3
Метод	ИФА: Твердофазный иммуносорбентный анализ
Принцип	ИФА Пероксидаза-Конъюгированный
Диапазон обнаружения	5-200 Ед/мл
Образец	100 мкл сыворотки
Специфичность	97 %
Чувствительность	5 Ед/мл
Общее время	~ 140 минут
Срок хранения	12-14 месяцев
Температура хранения	2-8 °С

### НАЗВАНИЕ И НАЗНАЧЕНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Данный набор разработан в качестве теста по мониторингу и скринингу рака молочной железы. Патологические результаты (например, повышенный уровень СА 15-3 в сыворотке) может обозначать необходимость клинического вмешательства. Анализ СА 15-3 используется как маркер опухоли для пациентов при клинической ремиссии, после лечения. Послеоперативная величина СА 15-3, которая не возвернулась к норме, указывает на присутствие остатков раковых клеток. Раковый рецидив часто сопровождается ростом СА 15-3 до того, как прогрессирующая болезнь станет клинически очевидной.

### ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ

Рак груди является наиболее распространенным злокачественным поражением у женщин многих развитых стран на сегодняшний день, приблизительно 180000 новых диагнозов ежегодно. Приблизительно половина новых диагнозов являются злокачественными, поскольку 30% этих диагнозов прогрессируют до метастаз.

Существует большое количество раковых маркеров, которые помогают идентифицировать и поставить диагноз опухоли груди и назначить безболезненный курс. Эти маркеры включают рецепторы эстрогена и прогестерона, ДНК плоидность и S-процент фазовый профиль, рецептор эпидермального фактора роста, HER-2/новый онкоген, p53 опухолевый подавляющий ген, cathepsin D, маркер размножения и СА 15-3. СА 15-3 наиболее используется для мониторинга пациентов после операции на рецидив, особенно болезней метастаз. 96% пациентов с частичным или системным рецидивом имеют увеличенный уровень СА 15-3, что может быть использовано для прогноза рецидива в более ранние сроки, чем за радиологическими или клиническими критериями. У 25% увеличение в сыворотке СА 15-3 ассоциируется с прогрессированием опухоли. 50% случаев уменьшения в сыворотке СА 15-3 ассоциируется с ответом на лечение. СА 15-3 является более чувствительным, чем СЕА при ранней диагностике рецидива опухоли груди. В комплексе с СА 125, СА 15-3 используется в ранней диагностике рецидива опухоли яичников. Уровень СА 15-3 также увеличивается при раке толстой кишки, легких и печени.

### ПРИНЦИП РАБОТЫ ТЕСТА

Анализ СА 15-3 является двусторонним твердофазным ферментным иммуноанализом. Молекулы СА 15-3 находятся в «сэндвиче» между двумя моноклональными антителами. Одно привито ко дну лунок микропланшета, а другое связано с пероксидазой хрена (энзимный конъюгат). После инкубации и промывания, ферментная реакция вырабатывает цвет, который пропорционален количеству СА 15-3 молекул, что присутствуют в анализе.

### СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1. Кровь необходимо собирать, используя стандартную технику венопункции; сыворотку отделить от красных кровяных клеток как можно быстрее. Избегать сильно гемолизированных, липемических и мутных образцов.
2. Образцы плазмы, собранные в пробирки, содержащие ЭДТК, гепарин или оксалат, могут влиять на процедуру, поэтому их не следует использовать.
3. Образцы должны храниться в закрытых емкостях до 48 часов при 2-8°C перед началом тестирования. Для более длительного хранения (до 6 месяцев) они должны быть заморожены до -20°C. Размороженные образцы необходимо перемешать.

### МАТЕРИАЛЫ И КОМПОНЕНТЫ

#### Материалы, поставляемые с набором

1. Пластина микротитратора с лунками, покрытыми моноклональным анти-СА-15-3 антителом, 96 лунок.
2. Разбавитель образца, 100 мл.
3. Ферментный конъюгат, 12 мл.
4. Набор контрольных стандартов: 0, 15, 30, 60, 120 и 240 Ед/мл. Жидкие, готовые к использованию. 1 набор.
5. ТМВ субстрат, 12 мл.
6. Стоп раствор, 12 мл.
7. Концентрат промывочного буфера (50X), 15 мл.

#### Материалы, не входящие в состав поставки:

1. Точные пипетки и наконечники: 0,1 мл, 0,2 мл, 1 мл, 5 мл.
2. Дистиллированная вода.
3. Одноразовые наконечники для пипеток.
4. Вихревая мешалка.
5. Промокательная бумага или бумажные полотенца.
6. Считыватель для планшетов с длиной волны 450 нм, шириной полосы 10 нм или меньше и диапазоном оптической плотности 0-2 OD или больше.
7. Бумага для построения графиков.

### ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

1. Перед использованием приведите реагенты к комнатной температуре (18-22°C) и смешайте легким переворачиванием или вращением. Избегайте образования пены.
2. Разбавьте 1 часть промывочного буфера (50x) 49 частями дистиллированной воды. Например: разбавьте 15 мл промывочного буфера (50x) дистиллированной водой для приготовления 750 мл промывочного буфера (1x). Тщательно перемешайте перед использованием.

### ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

#### Важное замечание:

- **Стандарты СА 15-3 предварительно разбавлены и готовы к использованию. Не разбавляйте их снова!**

1. Сыворотка пациента и контрольная сыворотка должны быть разбавлены 51 кратно перед использованием. Приготовьте серию маленьких пробирок (напр. 1,5 мл микроцентрифужных пробирок) и смешайте 20 мкл сыворотки с 1,0 мл разбавителя образца.
2. Поместите нужное количество лунок в держатель. Внесите 100 мкл стандартов, разбавленных образцов и разбавленных контролей в соответствующие лунки. Тщательно, но осторожно перемешайте 10 секунд.
3. Инкубируйте при 37°C 1 час.
4. Удалите содержимое лунок. Промойте и опустошите планшет 5 раз промывочным буфером (1x) и 1 раз дистиллированной водой. Резко переверните планшет на абсорбирующую бумагу, чтобы удалить все остатки жидкости.
5. Внесите 100 мкл реагента ферментного конъюгата в каждую лунку. Тщательно перемешайте в течение 10 секунд.
6. Инкубируйте при 37°C 1 час.
7. Удалите содержимое лунок и промойте планшет как описано в п. 4 выше. Внесите 100 мкл реагента ТМВ субстрата в каждую лунку. Аккуратно перемешайте в течение 10 секунд.
8. Инкубируйте при комнатной температуре в темноте в течение 20 минут.
9. Остановите реакцию внесением 100 мкл стоп раствора в каждую лунку. Аккуратно перемешайте в течение 10 секунд. Удостоверьтесь в полном изменении синей окраски на желтую.
10. Измерьте оптическую плотность лунок при 450 нм в течение 15 минут.

#### Важное замечание:

- Процедура промывания является очень важной. Недостаточное промывание приведет к низкой точности и ложно завышенной абсорбции.
- Рекомендуется использовать не более 32 лунок при каждом проведении анализа, если используется ручное пипетирование. поскольку, пипетирование всех стандартов,

образцов и контролей должно занимать не больше 5 минут. Использование полного планшета на 96 лунок возможно при автоматическом пипетировании.

- Дублирование всех стандартов и образцов не обязательно, но рекомендуется.

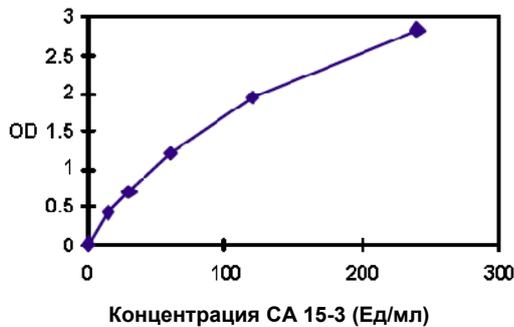
## ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Определите среднюю абсорбцию для каждого набора стандартов, контролей и образцов. Постройте стандартную кривую, откладывая точки средней абсорбции стандартов на вертикальную ось Y, против соответствующих концентраций на горизонтальную ось X. Используйте среднее значение абсорбции для каждого образца, чтобы определить соответствующее значение концентрации СА 15-3 в Ед/мл со стандартной кривой. Рекомендуется, чтобы образцы анализировались в двойном экземпляре. **Так как стандарты СА 15-3 уже 51-кратно разбавлены, нет необходимости умножать значения образцов и контролей на коэффициент разбавления.**

### Пример построения калибровочной кривой

Результаты типичной процедуры считывания с использованием калибраторов, проводящейся при ОП 450 нм, указаны на оси Y против концентрации СА15-3, указанной на оси X.

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



## РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

I. **Достоверность:** сравнение между нашим тестом и коммерчески доступным тестом предоставило следующие данные:

N = 55  
 Коэффициент корреляции = 0.975  
 Наклон = 0.924  
 Пересечение = 1.92  
 Среднее (наши наборы) = 28.93  
 Среднее (Bio-Rad) = 26.75

II. **Точность:**

### 1) Внутрисерийная:

Концентрации	N	Среднее	SD	CV, %
Уровень 1	20	12.17	0.870	7.15
Уровень 2	20	108.26	5.129	4.73

### 2) Между сериями:

Концентрации	N	Среднее	SD	CV, %
Уровень 1	10	11.89	1.098	9.23
Уровень 2	10	106.32	6.460	6.07

III. **Линейность:**

Две сыворотки пациента с серийно разводили Стандартом 0 Ед/мл в линейном исследовании. Среднее восстановление составило 102.5 %.

Образец А			
Разведение	Ожидаемое значение	Полученное значение	Восстановление, %
Неразбавленный	180.81	180.81	
2X	90.41	88.92	98.4
4X	42.21	43.72	103.6
8X	22.60	23.03	101.9
16X	11.30	12.04	106.5
Среднее восстановление: 102.6 %			

Образец В			
Разведение	Ожидаемое значение	Полученное значение	Восстановление, %
Неразбавленный	207.19	207.19	
2X	103.60	105.23	101.6
4X	51.80	50.33	97.2
8X	25.90	26.67	103.0
16X	12.95	13.91	107.4
Среднее восстановление: 102.3 %			

## IV. Чувствительность

Минимальная определяемая концентрация этого анализа составляет 5.0 Ед/мл.

## V. Перекрестная реактивность

Следующие антигены маркеров рака в высоких концентрациях были проанализированы, чтобы определить возможные реактивности.

Antigens	Concentration	Equivalent CA 15-3	% Cross-reactivity
CA-125	1,000 U/mL	0.00	0.00
CA 19-9	1,000 U/mL	0.00	0.00
PSA	1,000 ng/mL	0.00	0.00
PAP	1,000 ng/mL	0.00	0.00
AFP	10,000 ng/mL	0.00	0.00
CEA	1,000 ng/mL	0.00	0.00

## VI. Хук-эффект

Хук-эффект не наблюдался при концентрациях 10.000 Ед/мл СА-15-3.

## ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

1. Надежные и соответствующие результаты будут получены при проведении анализа в соответствии с инструкцией и хорошей лабораторной практикой.
2. Процедура промывания очень важна. Недостаточное промывание может привести к неточным результатам.
3. Образцы пациентов могут содержать человеческие антимышинные антитела (НАМА), что могут влиять на результаты. Данный набор разработан для минимизирования влияния НАМА-содержащих образцов. Но, полного исключения этого влияния мы не можем гарантировать. Результаты, которые не соответствуют клинической картине или истории, должны интерпретироваться с осторожностью.

## ХРАНЕНИЕ

1. Запечатанные наборы следует хранить при 2-8°C, а планшет – в закрытой упаковке с влагопоглотителем до конца срока годности. Набор анализа может использоваться до окончания срока годности (один год после даты изготовления). Смотрите дату годности, указанную на этикетке.
2. Вскрытый набор остается стабильным до окончания срока годности при хранении как указано выше.
3. Микропланшетный считыватель с шириной дорожки 10 нм или меньше и диапазоном оптической плотности 0-2 ОП или выше при длине волны 450 нм используется для измерения абсорбции.



ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

ООО «ДИАМЕВ»  
 ул. Чорновола, 97  
 г. Ивано-Франковск, 76005  
 тел.: +38 (0342) 775 122  
 факс: +38 (0342) 775 123  
 e-mail: [info@diameb.ua](mailto:info@diameb.ua)  
[www.diameb.com](http://www.diameb.com)