НАБІР РЕАГЕНТІВ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ РАКОВОЕМБРІОНАЛЬНОГО АНТИГЕНА МЕТОДОМ ІХЛА

Carcinoembryonic Antigen (CEA) Test System

Кат. №: ***1875-300B*** *Дата випуску інструкції:* ***16-07-2019***
Версія: ***6***

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

1.0 ВВЕДЕННЯ

Призначення: Кількісне визначення концентрації раковоембріонального антигена (РЕА) в сироватці людини за допомогою мікропланшетного ферментного імуноаналізу, хемілюмінесцентного.

2.0 РЕЗЮМЕ І ПОЯСНЕННЯ ТЕСТУ

Раково-ембріональний антиген (РЕА) складається з гетерогенного сімейства глікопротеїнів з молекулярною масою від 175 до 200 k0202D через варіації вмісту вуглеводів і амінокислот. РЕА є першим із так званих раковоембріональних білків, який був відкритий у 1965 році Голдом і Фріменом.[1] Незважаючи на те, що його біологічна функція не дуже чітко визначена, РЕА є найбільш широко використовуваним маркером колоректального раку.

Хоча РЕА в основному пов'язаний з колоректальним раком (КРР), інші злоякісні новоутворення, які можуть спричинити підвищення рівня РЕА, включають молочну залозу, легені, шлунок, підшлункову залозу, яєчники та інші органи. Доброякісні стани, які спричиняють значно вищий рівень, ніж нормальний, включають запалення легенів і шлунково-кишкового тракту (ШКТ) і доброякісний рак печінки.[2,3] Завзяті курці, як група, мають вищу за норму вихідну концентрацію РЕА. Значення в сироватці крові у здорових дорослих зазвичай < 5.0 нг/мл (ng/ml), однак значення в сироватці крові, що в 5 разів перевищують нормальний референсний діапазон, вважаються ознакою злоякісності. Крім того, значення, які спостерігаються при злоякісних і незлоякісних захворюваннях, можуть збігатися, що робить РЕА не дуже надійним маркером злоякісності. Однак справжня важливість тестування РЕА полягає в прогнозі пацієнта, оцінці стану та моніторингу. Моніторинг рівнів РЕА під час хіміотерапії та перед операцією може бути інформативним; не зниження рівнів РЕА під час передопераційної променевої терапії зазвичай свідчить про наявність пухлини поза полем радіації та поганий прогноз. Було помічено, що рівні знижуються до нормальних через 4-6 тижнів після успішної резекції КРР.

У цьому методі калібратор РЕА, зразок пацієнта або контроль спочатку додають до лунки, вкритої стрептавідином. Додають біотинильовані моноклональні та мічені ферментом антитіла (спрямовані проти окремих і різних епітопів РЕА) і змішують реагенти. Реакція між різними антитілами до РЕА і нативним РЕА утворює сендвіч-комплекс, який зв'язується зі стрептавідином, нанесеним в лунках.

Після завершення необхідного інкубаційного періоду зв'язаний кон'югат фермент-антитіло РЕА відокремлюють від незв'язаного кон'югату фермент-антитіло РЕА шляхом аспірації або декантації. Активність ферменту, присутнього на поверхні лунки, визначають кількісно за допомогою реакції з відповідним субстратом для отримання світла.

Використання кількох референсних калібраторів сироватки з відомими рівнями РЕА дозволяє побудувати криву активності та концентрації «доза-відповідь». Порівнюючи з кривою доза-відповідь, активність невідомого зразка можна корелювати з концентрацією РЕА.

3.0 ПРИНЦИП МЕТОДУ

Імуноферментний імуноаналіз (Тип 3):

Основні реагенти, необхідні для імуноферментного люмінесцентного аналізу, включають високоафінні та специфічні антитіла (ферментні та іммобілізовані), з різним та чітким розпізнаванням епітопів, **у надлишку**, та нативний антиген. У цій процедурі іммобілізація відбувається під час аналізу на поверхні лунки мікропланшета шляхом взаємодії стрептавідину, нанесеного в лунці, та екзогенно доданого біотинильованого моноклонального антитіла до РЕА.

Після змішування моноклонального біотинильованого антитіла, антитіла, міченого ферментом, і сироватки, що містить нативний антиген, відбувається реакція між нативним антигеном і антитілами без конкуренції чи стеричних перешкод з утворенням розчинного сендвіч-комплексу. Взаємодія ілюструється наступним рівнянням:

$$^{Enz}Ab + Ag_{CEA} + {}^{Btn}Ab_{(m)} \underset{k_{-a}}{\overset{k_a}{\rightleftharpoons}} {}^{Enz}Ab - Ag_{CEA} - {}^{Btn}Ab_{(m)}$$

$^{Btn}Ab_{(m)}$ = Біотинильоване моноклональне антитіло (надлишкова кількість)
Ag_{CEA} = Нативний антиген (змінна кількість)
^{Enz}Ab = Фермент-мічене антитіло (надлишкова кількість)
$^{Enz}Ab - Ag_{CEA} - {}^{Btn}Ab_{(m)}$ = Сендвіч-комплекс Антиген-антитіло
k_a = Константа швидкості асоціації
k_{-a} = Константа швидкості дисоціації

Одночасно комплекс осідає в лунці через реакцію високої афінності стрептавідину та біотинильованого антитіла. Ця взаємодія проілюстрована нижче:

$^{Enz}Ab - Ag_{CEA} - {}^{Btn}Ab_{(m)} + Стрептавідин_{C.W.} \Rightarrow$ іммобілізований комплекс
$Стрептавідин_{c.w.}$ = Стрептавідин, іммобілізований в лунках
Іммобілізований комплекс = сендвіч-комплекс, пов'язаний з твердою поверхнею.

Після досягнення рівноваги фракцію, зв'язану з антитілами, відокремлюють від незв'язаного антигена шляхом декантації або аспірації. Активність ферменту, яка визначається реакцією із сигналом, що генерує світло, у фракції, зв'язаній з антитілами, прямо пропорційна концентрації нативного антигена. Використовуючи кілька різних референсних калібраторів сироватки з відомими значеннями антигена, можна побудувати криву доза-відповідь, за якою можна визначити концентрацію невідомого антигена.

4.0 РЕАГЕНТИ

Матеріали, що постачаються:

A. Калібратори РЕА - 1 мл (ml)/флакон - позначки A-F
Шість (6) флаконів референсного матеріалу для антигена РЕА з концентраціями 0 (**A**), 5 (**B**), 10 (**C**), 25 (**D**), 50 (**E**) і 250 (**F**) нг/мл (ng/ml). Зберігати при 2-8 °C (°C). Додано консервант.
Примітка: Калібратори на основі людської сироватки були відкалібровані за допомогою референсного препарату, який порівнювався з 1-м міжнародним референсним препаратом (IRP № 73/601).

B. Реагент Трейсер РЕА - 13 мл (ml)/флакон - позначка Ⓔ
Два (2) флакони, що містять мічене ферментом антитіло, біотинільований моноклональний IgG миші в буфері, барвник і консервант. Зберігати при 2-8 °C (°C).

C. Світлові реакційні лунки - 96 лунок - позначка ⇓
Два (2) 96-лункових білих мікропланшети, покритих стрептавідином і запакованих в алюмінієвий пакет з осушувачем. Зберігати при 2-8 °C (°C).

D. Концентрат Промивного розчину - 20 мл (ml)/флакон - позначка
Один (1) флакон, що містить поверхнево-активну речовину в забуференому фізіологічному розчині. Додано консервант. Зберігати при 2-8 °C (°C) (див. Розділ «Підготовка реагентів»).

E. Сигнальний реагент A - 7 мл (ml)/флакон - позначка C^A
Два (2) флакони, що містять люмінол у буфері. Зберігати при 2-8 °C (°C) (див. Розділ «Підготовка реагентів»).

F. Сигнальний реагент B - 7 мл (ml)/флакон - позначка C^B
Два (2) флакони, що містять перекис водню (H_2O_2) в буфері. Зберігати при 2-8 °C (°C) (див. Розділ «Підготовка реагентів»).

G. Інструкція.

Примітка 1: *Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності набору.*

Примітка 2: *Уникайте тривалого впливу тепла та світла. Відкриті реагенти стабільні протягом шістдесяти (60) днів при зберіганні при 2-8 °C (°C). Стабільність набору та компонентів зазначено на етикетці.*

Перекладач Тетяна Зеленська

Примітка 3: *Наведені вище реагенти призначені для одного 96-лункового мікропланшету.*

4.1 Необхідні матеріали, які НЕ поставляються з набором

1. Дозатор, здатний доставляти об'єми 0.025 мл (ml) (25 мкл (µl)) з точністю вище 1.5%.
2. Диспенсер(и) для повторних поставок об'ємів 0.100 і 0.350 мл (ml) (100 і 350 мкл (µl)) з точністю вище 1.5%.
3. Вошер для мікропланшетів або пляшка під тиском (опційно).
4. Мікропланшетний люмінометр.
5. Абсорбуючий папір для промокання лунок мікропланшета.
6. Поліетиленова плівка або кришка мікропланшета для етапів інкубації.
7. Вакуумний аспіратор (опційно) для етапів промивання.
8. Таймер.
9. Матеріали контролю якості.

5.0 ЗАУВАЖЕННЯ ТА ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

Тільки для використання в діагностиці In vitro
Не для внутрішнього або зовнішнього використання
на людях або тваринах

Усі продукти, що містять людську сироватку, були визнані нереактивними щодо поверхневого антигену гепатиту В, ВІЛ 1 і 2 та антитіл до ВГС згідно з вимогами УПМ. Оскільки жоден відомий тест не може забезпечити повну впевненість у відсутності інфекційних агентів, усі продукти людської сироватки слід розглядати як потенційно небезпечні та здатні передавати захворювання. Належні лабораторні процедури поводження з продуктами крові можна знайти в Центрі контролю захворювань/Національному інституті здоров'я, «Біологічна безпека в мікробіологічних і біомедичних лабораторіях», 2-е видання, 1988 р., HHS.

Безпечна утилізація компонентів набору має здійснюватися відповідно до місцевих нормативних та законодавчих вимог.

6.0 ЗБІР І ЗБЕРІГАННЯ ЗРАЗКІВ

Зразками має бути кров, сироватка за типом; слід дотримуватись звичайних запобіжних заходів для забору зразків венепункцією. Для точного порівняння з встановленими нормальними значеннями слід взяти ранковий зразок сироватки натщесерце. Кров слід забирати в звичайну пробірку для венепункції з червоним ковпачком без добавок або антикоагулянтів. Дайте крові згорнутися. Центрифугуйте зразок, щоб відокремити сироватку від клітин.

У пацієнтів, які отримують терапію високими дозами біотину (тобто > 5 мг (mg)/день), не слід брати зразок принаймні через 8 годин після останнього введення біотину, бажано протягом ночі, щоб забезпечити зразок натщесерце.

Зразки можна зберігати в холодильнику при 2-8 °C (°C) протягом максимального періоду п'ять (5) днів. Якщо зразок(и) неможливо проаналізувати протягом цього часу, зразок(и) можна зберігати при температурі -20 °C (°C) протягом 30 днів. Уникайте використання забруднених пристроїв. Уникайте повторного заморожування та розморожування. При аналізі в дублях потрібно 0.050 мл (ml) (50 мкл (µl)) зразка.

7.0 КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Кожна лабораторія повинна аналізувати контролі на рівнях у низькому, середньому та високому діапазоні для моніторингу ефективності аналізу. Ці контролі слід розглядати як невідомі, а значення повинні визначатися в кожній проведеній процедурі тестування. Для відстеження ефективності наданих реагентів слід підтримувати карти контролю якості. Для встановлення тенденцій слід використовувати відповідні статистичні методи. Значні відхилення від встановлених характеристик можуть свідчити про непомічену зміну умов аналізу або погіршення якості реагентів набору. Щоб визначити причину відхилень, слід використовувати свіжі реагенти.

8.0 ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ

1. **Промивний буфер**
   Розвести вміст Промивного концентрату до 1000 мл (ml) з дистильованою або деіонізованою водою у відповідному контейнері для зберігання. Зберігати розведений буфер при температурі 2-8 °C (°C) до 60 днів.
2. **Робочий розчин Сигнального реагенту** - Зберігати при 2-8 °C (°C).
   Визначте необхідну кількість реагенту та приготуйте, змішавши рівні порції Сигнального реагенту А та Сигнального реагенту В у чистому контейнері. Наприклад, додайте 1 мл (ml) А та 1 мл (ml) В на два (2) 8-лункових стрипи (Розчин готується з невеликим надлишком). **Утилізуйте залишки, якщо вони не використані протягом 36 годин після змішування.** *Якщо очікується повне використання реагентів протягом зазначеного вище часового обмеження, вилийте вміст Сигнального реагенту В до Сигнального реагенту А та позначте відповідним чином.*

Зауваження 1: *Не використовуйте забруднені реагенти, або реагенти, де спостерігається ріст бактерії.*

9.0 ПРОЦЕДУРА ТЕСТУ

Перед початком аналізу всі реагенти, сироваткові референсні калібратори і контролі повинні досягти кімнатної температури (20-27 °C (°C)).
Процедуру тестування повинна виконувати кваліфікована особа або навчений фахівець

1. Відформатуйте лунки мікропланшета для кожного референсного калібратора сироватки, контролю та зразка пацієнта для аналізу в дублях. Поверніть невикористані мікролункові стрипи назад в алюмінієвий пакет, закрийте та зберігайте при 2-8 °C (°C).
2. Дозуйте 0.025 мл (ml) (25 мкл (µl)) відповідного референсного калібратора сироватки, контролю або зразка у призначену лунку.
3. Додайте 0.100 мл (ml) (100 мкл (µl)) реагенту Трейсера РЕА в кожну лунку. Дуже важливо дозувати всі реагенти близько до дна лунки з покриттям.
4. Обережно покрутіть мікропланшет протягом 20-30 секунд, щоб перемішати та накрийте його.
5. Інкубуйте 45 хвилин при кімнатній температурі.
6. Видаліть вміст мікропланшета декантацією або аспірацією. Висушіть планшет на фільтрувальному папері, якщо використовувалася декантація.
7. Додайте 0.350 мл (ml) (350 мкл (µl)) промивного буфера (див. розділ «Підготовка реагентів»), декантуйте (постукайте та промокніть) або аспіруйте. Повторіть ще чотири (4) рази, щоб загалом було п'ять (5) промивань. Можна використовувати автоматичний або ручний вошер планшетів. Для правильного використання дотримуйтесь інструкцій виробника. Якщо використовується пляшка під тиском, заповніть кожну лунку, натиснувши на ємність (уникаючи бульбашок повітря), щоб розподілити розчин. Злийте промивну рідину та повторіть ще чотири (4) рази.
8. Додайте 0.100 мл (ml) (100 мкл (µl)) робочого сигнального реагенту в кожну лунку (див. «Підготовка реагентів»). Завжди додавайте реагенти в одній і тій же послідовності, щоб уникнути розбіжностей в часі реакції в різних лунках.

НЕ СТРУШУЙТЕ ПЛАНШЕТ ПІСЛЯ ДОДАВАННЯ СИГНАЛЬНОГО РЕАГЕНТУ

9. Інкубуйте п'ять (5) хвилин при кімнатній температурі в темряві.
10. Зчитайте відносні світлові одиниці у кожній лунці протягом 0.2-1.0 секунди. Результати можна зчитувати не пізніше тридцяти (30) хвилин після додавання сигнального розчину.

10.0 РОЗРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ

Для визначення концентрації РЕА в невідомих зразках використовується крива доза-відповідь.

1. Запишіть RLU *(відносні світлові одиниці)*, отримані з роздруківки мікропланшетного люмінометра, як описано в Прикладі 1.
2. Відкладіть на лінійному міліметровому папері RLU для кожного дублю референсного калібратора сироватки проти відповідної концентрації РЕА у нг/мл (ng/ml) (не слід виводити середні значення дублів референсної сироватки).
3. Накресліть найкращу криву через нанесені точки.
4. Щоб визначити концентрацію РЕА людини для невідомого, знайдіть середні RLU для кожного невідомого на вертикальній осі графіка, знайдіть точку перетину на кривій і зчитайте концентрацію (у нг/мл (ng/ml)) на горизонтальній осі графіка (для дублікатів невідомого можуть бути виведені середні значення, як зазначено). У наступному прикладі середнє RLU (10396) невідомого перетинає калібрувальну криву при концентрації РЕА 24.3 нг/мл (ng/ml) (див. Рисунок 1)*.

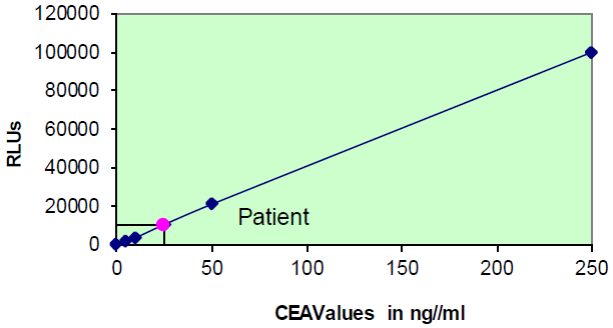
Примітка: Комп'ютерне програмне забезпечення для аналізу даних, розроблене для аналізів ІХЛА, також може використовуватися. Якщо таке програмне забезпечення використовується, слід виконати його перевірку.

Перекладач Тетяна Зеленська

Приклад 1

I.D. Зразка	№ лунки	RLU (A)	Середнє RLU (B)	Значення (нг/мл (ng/ml))
Калібратор A	A1	26	25	0
	B1	23		
Калібратор B	C1	1469	1463	5
	D1	1457		
Калібратор C	E1	3901	3869	10
	F1	3838		
Калібратор D	G1	10832	10704	25
	H1	10576		
Калібратор E	A2	22207	21226	50
	B2	20246		
Калібратор F	C2	99288	100000	250
	D2	100712		
Зразок	A3	10188	10396	24.3
	B3	10604		

Рисунок 1



RLUs - RLU (Відносні Світлові Одиниці)
Patient - Пацієнт
CEA Values in ng/ml - Значення РЕА в нг/мл

Дані, представлені в Прикладі 1 і на Рисунку 1, наведені лише для ілюстрації і **не повинні** використовуватися замість кривої дози-відповіді, підготовленої для кожного аналізу. Крім того, RLU калібраторів нормалізовано до 100000 RLU для калібратора F (найбільша світловіддача). Це перетворення мінімізує відмінності, викликані ефективністю різних приладів, які можна використовувати для вимірювання світла.

11.0 ПАРАМЕТРИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

Для того, щоб результати аналізу вважалися дійсними, повинні бути виконані наступні умови:

1. Крива доза-відповідь (80%; 50% і 20% перетину) має бути в межах встановлених параметрів.
2. Чотири з шести пулів контролю якості повинні бути в межах встановлених діапазонів.

12.0 АНАЛІЗ РИЗИКІВ

Форма Сертифікату безпечності матеріалу та форма Аналізу ризиків для цього продукту доступні за запитом від Monobind Inc.

12.1 Ефективність аналізу

1. Для досягнення відтворюваних результатів важливо підтримувати постійний час реакції в кожній лунці.
2. Дозування зразків не повинно тривати більше десяти (10) хвилин, щоб уникнути дрейфу аналізу.
3. Не можна використовувати високоліпемічні, гемолізовані або сильно забруднені зразки.
4. Якщо використовується більше одного (1) планшета, рекомендується повторити криву доза-відповідь.
5. Додавання сигнального реагенту ініціює кінетичну реакцію, тому сигнальний реагент(и) слід додавати в тій самій послідовності, щоб усунути будь-які відхилення в часі реакції.
6. Нездатність належним чином видалити прилиплий розчин аспірацією або декантацією на стадіях промивання може призвести до поганої реплікації та помилкових результатів.
7. Використовуйте компоненти з однієї партії. Не змішуйте реагенти із різних партій.
8. Зразки пацієнтів з концентрацією РЕА вище 250 нг/мл (ng/ml) можна розвести (наприклад, 1/10 або вище) нормальною чоловічою сироваткою (РЕА < 5 нг/мл (ng/ml)) і провести повторний аналіз. Концентрацію зразка отримують шляхом множення результату на коефіцієнт розведення (10).
9. Точне та чітке дозування, а також дотримання встановлених вимог щодо часу та температури є важливими. Будь-яке відхилення від інструкції з використання, наданої Monobind, може дати неточні результати.
10. Необхідно суворо дотримуватися всіх застосовних національних стандартів, правил і законів, включаючи належні лабораторні процедури, щоб забезпечити відповідність і належне використання набору.
11. Важливо відкалібрувати все обладнання, наприклад, дозатори, зчитувачі, вошери та/або автоматизовані інструменти, які використовуються з цим набором, а також проводити планове профілактичне обслуговування.
12. Аналіз ризиків - відповідно до вимог Директиви 98/79/ЕС щодо IVD, знак відповідності CE, щодо цього та інших наборів, виготовлених Monobind, можна запитувати електронною поштою за адресою Monobind@monobind.com.

12.2 Інтерпретація

1. Вимірювання та інтерпретація результатів повинні проводитись кваліфікованою особою або навченим фахівцем.
2. Самі по собі лабораторні результати є лише одним з аспектів призначення догляду за пацієнтом і не повинні бути єдиною основою для терапії, особливо якщо результати суперечать іншим детермінантам.
3. Реагенти для процедури AccuLite® ІХЛА були сформульовані таким чином, щоб максимально усунути інтерференцію; однак потенційна взаємодія між поодинокими видами сироватки та тестовими реагентами може призвести до помилкових результатів. Гетерофільні антитіла часто спричиняють ці взаємодії та, як відомо, є проблемою для всіх видів імуноаналізів (Boscato LM, Stuart MC. «Гетерофільні антитіла: проблема для всіх імуноаналізів» Clin. Chem. 1988:3427-33). Для діагностичних цілей результати цього аналізу повинні поєднуватися з клінічним обстеженням, історією захворювання та іншими клінічними даними. Для дійсних результатів тесту адекватні контролі та інші параметри повинні бути в межах перелічених діапазонів і вимог до аналізу.
4. Для дійсних результатів тесту адекватні контролі та інші параметри повинні бути в межах перелічених діапазонів і вимог до аналізу.
5. Якщо тестові набори змінено, наприклад, шляхом змішування частин різних наборів, що може дати хибні результати тесту, або якщо результати неправильно інтерпретовані, Monobind не несе відповідальності.
6. Якщо для інтерпретації результатів тесту використовується програмне забезпечення для аналізу даних, необхідно, щоб прогнозовані значення для калібраторів були в межах 10% від призначених концентрацій.
7. РЕА має низьку клінічну чутливість і специфічність як онкомаркер. **Клінічно, підвищене значення CEA саме по собі не має діагностичного значення як тест на рак, і його слід використовувати лише разом з іншими клінічними проявами (спостереженнями) та діагностичними параметрами.** Є пацієнти з колоректальним раком, які не виявляють підвищених значень РЕА, і підвищені значення РЕА не завжди змінюються з прогресом або регресом захворювання. Курці демонструють вищий діапазон вихідних значень, ніж некурці.

13.0 ОЧІКУВАНІ ДІАПАЗОНИ ЗНАЧЕНЬ

Близько 99% не курців мають концентрації РЕА нижчі 5 нг/мл (ng/ml). Так само, 99% курців мають концентрації нижчі 10 нг/мл (ng/ml).

ТАБЛИЦЯ 1
Очікувані значення для Тест-системи РЕА

Не курці	< 5 нг/мл (ng/ml)
Курці	< 10 нг/мл (ng/ml)

Важливо мати на увазі, що встановлення діапазону значень, які, як очікується, буде знайдено даним методом для популяції «нормальних» людей, залежить від безлічі факторів: специфіки методу, популяції, що тестується, і точності методу в руках аналітика. З цих причин кожна лабораторія повинна залежати від діапазону очікуваних значень, встановлених виробником, лише до тих пір, поки внутрішній діапазон не буде визначений аналітиками за допомогою методу з корінним населенням території, в якій розташована лабораторія.

Перекладач Тетяна Зеленська

14.0 ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРУ

14.1 Точність

Точність Тест-системи РЕА AccuLite® ІХЛА в аналізі та між аналізами визначали за допомогою аналізів двох різних рівнів контрольної сироватки. Кількість, середнє значення, стандартне відхилення (σ) та коефіцієнт варіації для кожної з цих контрольних сироваток представлені в Таблиці 2 і Таблиці 3.

ТАБЛИЦЯ 2
Точність в аналізі (Значення в нг/мл (ng/ml))

Зразок	N	x	σ	C.V., %
Рівень 1	14	1.08	0.12	10.8
Рівень 2	14	10.68	0.62	5.8
Рівень 3	14	17.25	0.70	4.1

ТАБЛИЦЯ 3
Точність між аналізами* (Значення в нг/мл (ng/ml))

Зразок	N	x	σ	C.V., %
Рівень 1	20	1.30	0.16	12.2
Рівень 2	20	10.86	1.73	11.9
Рівень 3	20	18.58	1.73	9.3

*Вимірювання проводились в десяти експериментах в дублях.

14.2 Чутливість

Тест-система РЕА AccuLite® ІХЛА має чутливість 0.0028 нг/мл (ng/ml). Це еквівалентно зразку, що містить 0.112 нг/мл (ng/ml) концентрації РЕА. Чутливість була встановлена шляхом визначення варіабельності калібратора сироватки 0 нг/мл (ng/ml) і використання статистики 2σ (95% вірогідності) для розрахунку мінімальної дози.

14.3 Достовірність

Тест-систему РЕА AccuLite® ІХЛА було порівняно з референсним методом. Було проведено аналіз біологічних зразків із низькою, нормальною та підвищеною концентраціями. Загальна кількість таких зразків становила 202. Рівняння регресії найменших квадратів і коефіцієнт кореляції були розраховані для РЕА AccuLite® ІХЛА у порівнянні з референсним методом. Отримані дані відображені в Таблиці 4.

ТАБЛИЦЯ 4

Метод	Середнє (x)	Аналіз регресії найменших квадратів	Коефіцієнт кореляції
Monobind (x)	5.67	y = 1.0324 + -0.1164 (x)	0.985
Референсний (y)	5.75		

14.4 Специфічність

Високоспецифічні антитіла до молекул РЕА були використані в Тест-системі РЕА AccuLite® ІХЛА. Не було виявлено інтерференцій в роботі РЕА AccuLite® ІХЛА після додавання великої кількості наступних речовин до пулу сироватки людини.

ТАБЛИЦЯ 5

Субстрат	Концентрація
Ацетилсаліцилова кислота	100 мкг/мл (µg/ml)
Аскорбінова кислота	100 мкг/мл (µg/ml)
Кофеїн	100 мкг/мл (µg/ml)
АФП	10 мкг/мл (µg/ml)
ПСА	1 мкг/мл (µg/ml)
СА-125	10000 О/мл (U/ml)
ХГЛ	1000 МО/мл (IU/ml)
ЛГ людини	10 МО/мл (IU/ml)
ТТГ людини	100 мМО/мл (mIU/ml)
Пролактин людини	100 мкг/мл (µg/ml)

14.5 Лінійність та Хук-ефект

Для оцінки лінійності та хук-ефекту використовувалися три різні партії реагентів РЕА AccuLite® ІХЛА. Високі концентрації РЕА (> 60000 нг/мл (ng/ml)) використовували для лінійних розведень у пулованих сироватках крові пацієнтів.

Тест показав відсутність хук-ефекту до концентрацій 60000 нг/мл (ng/ml) і відновлення в межах дози від 96.0 до 108.2%.

15.0 ЛІТЕРАТУРА

1. Gold P, Freedman SO, *J Exp Med*, 121, 439 (1965).
2. Zamcheck N, *Adv Intern Med,* 19, 413 (1974).
3. Rayncao G, Chu TM, *JAMA*, 220, 381 (1972).
4. Wild D, *The Immunoassay Handbook*, Stockton Press, 444 (1994).
5. Sorokin JJ, Sugarbaker PH, Zamcheck N, Pisick M, Kupchik HZ, Moore FD, "Serial carcinoemryonic antigen assays. Use in detection of cancer recurrence", *JAMA*, 228, 49-53 (1974).
6. Mackay AM, Patel S, Carter S, Stecens U, Lawrence DJR, Cooper EH, et al. "Role of serial plasma assays indetection of recurrent and metastatic colorectal carcinomas". Br. Med. Jr. 1974; 4:382-385.
7. Sikorska H, Schuster J, Gold P, "Clinical applications of carcinoembryonic antigen", *Cancer Detection Preview*, 12, 321-355 (1988).
8. Minton JP, Martin, EW Jr., "The use of serial CEA determinations to predict recurrence of colon cancer and when to do a second-look surgery", *Cancer,* 42, 1422-27 (1978).
9. Staab HJ, Anderer FA, Stumpf E, Fischer R."Slope analysis of the postoperative CEA time course and its possible application as an aid in diagnosis of disease progression in gastrointestinal carcinoma". Am. J.Surgery, 136: 322-327 (1978).
10. Thomas P, Toth CA, Saini KS, Jesup JM, Steele G Jr, "The structure, metabolism and function of carcinoembryonic antigen gene family", *Biochem Biophys Acta*, 1032,177-189 (1990).
11. Yamashita K, Totami K, Kuroki M, Ueda I, Kobata A, "Structural studies of the carbohydrate moieties of carcinoembryonic antigens", *Cancer Research,* 47, 3451-3459 (1987).
12. Hammerstrom S, Shively JE, Paxton RJ, Beatty BG, Larson A, Ghosh R, et al, "Antigenic sites in carcinoembryonic antigen", *Cancer Research,* 49,4852-58 (1989).
13. National Institute of Health, "Carcinoembryonic Antigen: Its role as a marker in the management of cancer; A national Institute of Health Consensus Development Conference", *Ann Inter Med*, 94,407-409 (1981).

ВИРОБНИК

MONOBIND INC.
100 North Pointe Dr.
Lake Forest, CA 92630 - USA
Phone: 949.951.2665
Fax: 949.951.3539
www.monobind.com

МОНОБАЙНД ІНК
100 Норд Поінт Драйв
Лейк Форест, Каліфорнія 92630 - США
Тел.: 949.951.2665
Факс: 949.951.3539
www.monobind.com

УПОВНОВАЖЕНИЙ ПРЕДСТАВНИК

ТОВ «ДІАМЕБ ТРЕЙД»
вул. Симона Петлюри, 25
м. Івано-Франківськ, 76014
тел.: +38 (0342) 775 122
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.ua