



## НАБОР ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СА 15-3 В СЫВОРОТКЕ И ПЛАЗМЕ

### CA 15-3 ELISA kit

Кат. № : 105-3941  
Кількість : 96  
Виробник : DRG (Germany)

Методика от 08/06

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

#### ВСТУПЛЕНИЕ

**DRG CA 15-3 набор** для количественного определения, связанного с раком антигена СА 15-3 в сыворотке и плазме человека.

Набор только для *in vitro* диагностики.

#### ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Микротитровальные лунки покрыты моноклональным антителом к антигенному сайту на молекуле СА 15-3.

Аликвоту пациента с эндогенной СА 15-3 икубируют в лунке с конъюгатом фермента (анти- СА 15-3 моноклональное антитело конъюгированное пероксидазой хрена). После инкубации несвязавшийся конъюгат вымывают.

Количество связавшегося конъюгата пропорционально концентрации СА 15-3 в образце. При добавлении раствора субстрата, интенсивность образовавшейся окраски пропорциональна концентрации СА 15-3 в образце пациента.

#### МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Только для использования в *in vitro* диагностике.
2. Все реагенты протестированы 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 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). 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. Все обозначенные объемы нужно вносить согласно протоколу. Оптимальные результаты анализа получают только при использовании калибровочных пипеток и микропланшетного ридера.

9. Не смешивать реагенты между собой и не использовать реагенты из других наборов. Не рекомендуется также смешивать лунки разных планшет даже при использовании одного набора. Наборы могли перевозиться при разных условиях и их использование и результаты могут немного отличаться.

10. При утилизации реагентов нужно следовать местному законодательству.

#### СОСТАВ НАБОРА

1. **Микротитровальная панель** с 96 лунками, покрытыми анти- СА 15-3 моноклональным антителом.

2. **Нулевой Стандарт**, 1 флакон, 3 мл, готов к использованию, содержит 0,010% метилизотиазолину, 0,015% антитела бромонитродиксана в качестве консерванта.

3. **Стандарт (Стандарт 1-4)**, 4 флаконы, 0,5 мл, готов к использованию.

Концентрации: 25,50,100,200 ед/мл. Содержит 0,010% метилизотиазолину, 0,015% бромонитродиксана в качестве консерванта.

4. **Контроль**, 1 флакон, 0,5 мл, (лиоф.)

Значения контролей и границы узнайте на этикетке. Содержит 0,3% Проклина 300 в качестве консерванта.

5. **Робочий буфер**, 1 флакон, 30 мл, готов к использованию.

Содержит 0,010% метилизотиазолину, 0,015% бромонитродиксана в качестве консерванта.

6. **Ферментный конъюгат**, 1 флакон, 14 мл, готов к использованию.

Анти- СА 15-3 антитело конъюгированное пероксидазой хрена. Содержит 0,01% метилизотиазолину, 0,01% бромонитродиксана, 10 ппм Проклина 300 в качестве консерванта.

7. **Субстрат Раствор**, 1 флакон, 14 мл, готов к использованию. ТМВ.

8. **Стоп-раствор**, 1 флакон, (0,5 М H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 14 мл. Избегайте контакта из стоп раствором. Можно получить ожоги.

9. **Промывочный раствор**, 1 флакон, 40X концентрат, 30 мл

ПРИМЕЧАНИЕ: Поставка нулевого стандарта для разбавления образцов возможна при требовании.

#### МАТЕРИАЛЫ НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ

- Прецизионные микропипетки
- Дистиллированная вода.
- Абсорбирующая бумага.
- Планшетный ридер откалиброванный на измерение при 450±10 нм

#### ХРАНЕНИЕ

Закрытый набор хранится при 2-8°C, микротитровальная панель – в закрытом пакете с влагопоглотителем. После открытия неиспользованные лунки необходимо запечатать в том же пакетике из фольги.

Вскрытый набор стабилен до даты срока годности, при условии хранения как описано выше. Не использовать после истечения даты хранения реагентов.

### 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 Моющий раствор стабилен 2 недели при комнатной температуре.

### УНИЧТОЖЕНИЕ НАБОРА

Уничтожение набора нужно проводить согласно национальному регулированию.

### ОБРАЗЕЦ

Сыворотка или плазма подходят для анализа. НЕ использовать гемолизированные, иктерические или липемические образцы.

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

### СБОР ОБРАЗЦОВ

#### Сыворотка

Собрать кровь через вену, дать свернуться крови и отцентрифугировать её при комнатной температуре. Не центрифугировать пока кровь полностью не сгустится. Кровь пациентов, проходящих антикоагулянтную терапию, нужно густить дольше.

#### Плазма

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

### ХРАНЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Образцы следует накрыть и хранить до 48 часов при 2 – 8°C перед проведением анализа. Для большего периода хранения образцы нужно заморозить при – 20°C. Растопленные образцы нужно несколько раз переворачивать перед проведением анализа.

### РАЗВЕДЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

При проведении первого анализа, образец сыворотки показывает 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)

### ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

#### 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.

### ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Закрепить желаемое количество лунок в держателе.

2. Раскапать **10 мкл** каждого из стандартов, образцов, контролей в соответствующие лунки с новыми наконечниками в пипетках.

3. Раскапать **250 мкл** Рабочего Буфера в каждую лунку первого стрипа.

Аккуратно перемешивать 10 секунд. **Важно добиться полного смешивания на этом этапе.**

4. Проведите работу как показано в шагах 2 и 3 для следующих стрипов 2-12 пока все стрипы не будут заполнены образцом и рабочим Буфером.

**ПРИМЕЧАНИЕ:** Важно провести пипетирование Стандарта, контролей, образцов и Рабочего Буфера от стрипа к стрипу так как инкубация образца без Рабочего Буфера может привести к завышениям результатов значения CA 15-3.

5. Инкубировать 60 минут при комнатной температуре не накрывая планшет.

6. Резко вытряхните содержимое лунок. Промойте лунки 3 раза разбавленным Промывочным Раствором (400 мкл на лунку). Постучите резко лунками по абсорбирующей бумаге для удаления остатков капель.

**Важное примечание:** На чувствительность и точность анализа заметно влияет точное исполнение промывочной процедуры.

7. Внесите **100 мкл** Энзима Конъюгата в каждую лунку.

8. Инкубировать при комнатной температуре **30 минут**.

9. Резко вытряхните содержимое лунок. Промойте лунки 3 раза разбавленным Промывочным Раствором (400 мкл на лунку). Постучите резко лунками по абсорбирующей бумаге для удаления остатков капель.

10. Внесите **100 мкл** Раствора Субстрата в каждую лунку.

11. Инкубировать при комнатной температуре **30 минут**.

12. Остановите ферментную реакцию добавлением **100 мкл Стоп раствора** в каждую лунку.

13. Считывать оптическую плотность при 450 нм **в течение 10 минут**.

### ПОДСЧЕТ 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 на вертикальной оси (y) и концентрацией на горизонтальной оси (x).

3. Используя средние значения абсорбции для каждого образца, определить соответствующую концентрацию CA 15-3 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.

Типичный пример см. в оригинале инструкции.

### ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Для каждой лаборатории рекомендуется определять свои нормальные и абнормальные значения. См. оригинал инструкции.

### ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Рекомендуется чтобы каждая лаборатория установила свои собственные граничные значения.

При изучении здоровых взрослых и при использовании этого набора были получены следующие значения:

Население	5% процентиль	95% процентиль
Мужчины и женщины	8,3 ед/мл	33,8 ед/мл

Результаты соответствуют напечатанным значениям.

### ХАРАКТЕРИСТИКА ТЕСТА

#### Динамический ряд анализа

Граничные нормы анализа 0-200ед/мл

### Специфичность антител (перекрестная реактивность)

Перекрестной реактивности с набором не наблюдалось.

#### Аналитическая чувствительность

Аналитическая чувствительность была определена как среднее + два стандартных отклонения 20 дублированных анализов Нулевого Стандарта и составляет 0,905 ед/мл

#### Точность

##### Внутри-тестовая

Образец	n	Среднее (Ед/мл)	КВ (%)
1	20	18,07	3,78
2	20	28,59	5,53

##### Между-тестовая

Образец	n	Среднее (Ед/мл)	КВ (%)
1	12	19,26	7,86
2	12	29,85	5,20

### ПРАВИЛЬНОСТЬ

#### Контроль качества

Рекомендуется использовать контрольные образцы согласно регулированию. Контрольные образцы

нужно использовать каждый день для подтверждения результатов. Контроли 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 теста.

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.

#### Восстановление

См. оригинал инструкции.

#### Линейность

См. оригинал инструкции.

### ОГРАНИЧЕНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

#### Влияющие вещества

Неправильное обращение с образцами или модификация теста может влиять на результаты. Гемоглобин (до 4 мг/мл), билирубин (до 0,5 мг/мл) и триглицериды (до 30 мг/мл) не влияют на результаты анализа.

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

#### Влияние лекарств

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

#### Эффект Хука

До концентрации CA 15-3 3000 ед/мл – эффекта хука не наблюдалось.

### ПРАВОВЫЕ АСПЕКТЫ

#### Достоверность результатов

Тест 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.

Тестовые результаты достоверные, только если контроли попадают в указанные границы и если все другие параметры соответствуют спецификации.

#### Информация для заказа:

ЧМП «ДИАМЕБ»

ул. Чорновола, 97, г. Ивано-Франковск, 76005

тел.: +38 (0342) 775122

тел/факс: +38 (0342) 775612

E-mail: [info@diameb.com](mailto:info@diameb.com)

