НАБІР ІФА

ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ КАРЦИНОЕМБРІОНАЛЬНОГО АНТИГЕНУ (CEA)

5201-16, CEA ELISA

Каталог. №: ***5201-16*** *Методика від* ***29-06-2016***
*Кількість : **96***
*Виробник : **DAI (США)***

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

ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ

Кількість тестів	**96 тестів**
Тест	**CEA ELISA**
Метод	**ІФА: Імуноферментний аналіз твердої фази**
Принцип	**Сандвіч-комплекс**
Діапазон визначення	**0-120 нг/мл**
Зразок	**50 мкл сироватки**
Специфічність	**95 %**
Чутливість	**1.0 нг/мл**
Загальний час	**~ 80 хвилин**
Строк придатності	**12 місяців від дати виробництва**

ПРИЗНАЧЕННЯ
Набір ІФА CEA призначений для кількісного визначення концентрації карциноембріонального антигену в сироватці людини.

ВСТУП
Карциноембріональний антиген (CEA) - це клітинно-поверхневий глікопротеїн. У 1969 р. було виявлено, що CEA плазми збільшувався у 35 з 36 пацієнтів з раком ободової кишки і титри CEA зменшувалися після успішного хірургічного втручання. Рівень норми був відзначений в пацієнтів з іншими формами раку або при початку хвороби. Наступні вивчення не внесли нічого нового в початкові результати і тепер ясно, що рівень CEA зростає при різних формах раку. Зростання рівня CEA виявлено у більш ніж 30% пацієнтів з раком легенів, печінки, підшлункової залози, грудей, ободової кишки, голови або горла, сечового міхура, шийки матки і простати. Зростання рівня плазми CEA залежить від стадії і ступеня хвороби, диференціації пухлини і розмірів метастази. CEA також виявлено в здоровій тканині.

ПРИНЦИП ДОСЛІДЖЕННЯ
Набір CEA ґрунтується на твердофазовому імуноферментному аналізі. У ньому використовується одне моноклональне анти-CEA антитіло для іммобілізації твердої фази (мікропланшетні лунки) і інше моноклональне анти-CEA антитіло в розчині кон'югату антитіла-ферменту (пероксидази хрону). Стандарти та зразки тесту додаються в мікропланшетні титрувальні лунки, покриті антитілом CEA. Потім додається антитіло CEA, мічене пероксидазою хрону (кон'югатом). Якщо CEA присутній у зразку, воно зв'язується з антитілом в лунці і ферментним кон'югатом, в результаті чого молекули CEA розшаровуються між твердою фазою і ферментно-пов'язаними антитілами. Після 1-годинної інкубації при КТ лунки промиваються водою для видалення незв'язаних мічених антитіл. Додається розчин ТМБ і інкубується 20 хвилин, в результаті чого розвивається блакитний колір. Розвиток кольору зупиняється додаванням 2N HCl. Колір змінюється на жовтий і вимірюється спектрофотометрично при 450 нм. Концентрація CEA прямо пропорційна інтенсивності кольору в аналізованому зразку.

ЗАБІР І ПРИГОТУВАННЯ ЗРАЗКІВ
1. Сироватка повинна бути приготовлена з цільної крові, зібраної з використанням підходящої медичної методики і сироватка повинна бути відокремлена від червоних тілець крові якомога швидше. Уникайте сильно гемолізованої, ліпемічної і каламутної сироватки.
2. Зразки плазми, зібрані в пробірки, що містять ЕДТА, гепарин або оксалат, можуть впливати на процедуру аналізу і їх необхідно уникати.
3. Зразки необхідно закрити і зберігати 48 годин при 2-8 °C до початку аналізу. Зразки для більш тривалого терміну зберігання необхідно заморозити до -20 °C. Розморожені зразки слід перемішати перед аналізом.

МАТЕРІАЛИ І КОМПОНЕНТИ
Надані матеріали в наборі для дослідження:
- Мікротитрувальний планшет на 96 лунок, покритий антитілами.
- Реагент ферментного кон'югату, 12 мл.
- Субстрат ТМВ, 12 мл.
- Стоп-розчин, 12 мл.
- Стандарти CEA, що містять 0, 3, 12, 30, 60 і 120 нг/мл CEA, в рідкій формі (готові до використання(або в ліофілізованій формі.
- Концентрат промивного буфера (50х), 15 мл.
- Контрольний набір (опційно) х 1.

Необхідні матеріали, які не постачаються:
- Точні піпетки: 40-200 мкл, 200-1000 мкл.
- Змінні наконечники до піпеток.
- Дистильована вода.
- Вихровий змішувач або аналог.
- Промокальний папір або паперовий рушник.
- Мікротитрувальний планшет-рідер.
- Міліметровий папір.

ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ
1. Перед використанням всі реагенти повинні бути приведені до кімнатної температури (18-22 °C) і перемішані легким перевертанням або погойдуванням. Уникайте утворення піни.
2. Розчиніть повторно кожен ліофілізований стандарт 0,5 мл дистильованої води. Залиште цей матеріал принаймні на 20 хвилин. Повторно розчинені стандарти повинні зберігатися закритими при 2-8 °C.
3. Розбавте 1 частину промивного буфера (50х) 49 частинами дистильованої води. Наприклад, розбавте 15 мл концентрату розчину для промивання буфера (50х) дистильованою водою, щоб приготувати 750 мл промивного буфера (1х). Перед використанням добре перемішати.

ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ
1. Закріпіть в тримачі потрібну кількість лунок з покриттям.
2. Внесіть у відповідні лунки по **50 мкл** стандартів, зразків і контролів.
3. Внесіть в кожну лунку по **100 мкл** ферментного кон'югату.
4. Ретельно перемішайте протягом **10 сек**. Дуже важливо на даному етапі досягти повного змішування.
5. Інкубуйте протягом 60 хвилин при КТ (18-22 °C).
6. Видаліть інкубаційну суміш планшета в контейнер для відходів.
7. Промийте і спорожніть мікротитрувальні лунки промивним буфером (1х) **5 разів**.
8. Різко струсіть планшетом на промокальний папір або паперові рушники, щоб видалити всі залишки води.
9. Внесіть в кожну лунку по **100 мкл** реагенту субстрату ТМВ. Легко змішуйте **5 сек.**
10. Інкубуйте **20 хвилин** при КТ.
11. Додайте **100 мкл** стоп-реагенту в кожну лунку.
12. Легко змішуйте **30 секунд**. Дуже важливо, щоб весь блакитний колір став жовтим.
13. Виміряйте оптичну щільність лунок при **450 нм** на протязі **15 хвилин.**

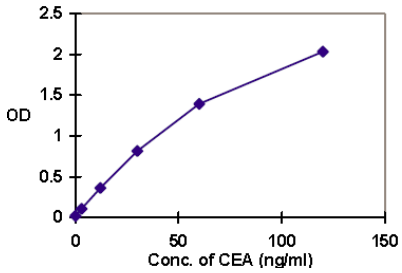
Увага:
1. *Процедура промивання має велике значення. При недостатньо ретельному промиванні результати будуть неточними, і рівень оптичної щільності лунок буде завищений.*
2. *У разі ручного піпетування не рекомендується в одному аналізі використовувати більше 32 лунок, так як внесення всіх калібрувальних, контрольних та досліджуваних зразків не повинно займати більше 5 хвилин. У разі автоматичного піпетування можна використовувати весь планшет з 96 лунок.*
3. *Хоча дублювання всіх стандартів і зразків не потрібно, але рекомендується.*

ОБЧИСЛЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ
Визначте середню абсорбцію для кожного набору стандартів, контролів і зразків. На міліметровому папері побудуйте калібрувальну криву, відкладаючи середню абсорбцію, отриману від кожного референтного стандарту, проти його концентрації в нг/мл зі значеннями абсорбції на вертикальній або вісі Y і концентраціями на горизонтальній або вісі X. Використовуйте середні значення поглинання для кожного зразка, щоб визначити з калібрувальної

кривої відповідну концентрацію CEA в нг/мл. Будь-які розбавлені зразки повинні бути уточнені відповідним коефіцієнтом розведення.

Приклад типової калібрувальної кривої
Результати типового вимірювання поглинання стандартів зі зчитуванням оптичної щільності при 450 нм вказані на вісі Y проти концентрацій CEA на вісі X.

CEA (нг/мл)	Абсорбція (450 нм)
0	0,019
3	0,105
12	0,362
30	0,814
60	1,390
120	2,032



ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ І ЧУТЛИВІСТЬ
Найбільш повне вивчення CEA було отримано спільними дослідженнями, в яких були проаналізовані 35,000 зразків у більш ніж 10,000 пацієнтів. У 1425 нормальних некурящих суб'єктів рівень 98,7% мали значення менше 5.0 нг/мл. Рекомендується, щоб кожна лабораторія встановлювала власні діапазони. Мінімальна обумовлена набором концентрація CEA становить 1.0 нг/мл.

ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ
1. Надійні та відповідні результати будуть отримані при проведенні аналізу відповідно з інструкцією і хорошою лабораторної практикою.
2. Процедура промивання дуже важлива. Недостатнє промивання може призвести до неточних результатів.
3. Зразки пацієнтів можуть містити людські анти-мишачі антитіла (HAMA), що можуть впливати на результати. Даний набір розроблений для мінімізації впливу зразків, які містять HAMA. Але, повного виключення цього впливу ми не можемо гарантувати. Результати, які не відповідають клінічній картині чи історії, повинні інтерпретуватися з обережністю.

ЗБЕРІГАННЯ НАБОРІВ І ІНСТРУМЕНТАРІЮ
1. Запечатані набори слід зберігати при 2-8 °C, а планшет - в закритій упаковці з поглиначем вологи до кінця терміну придатності. Набір може використовуватися до закінчення терміну придатності (один рік після дати виготовлення). Дивіться дату придатності, зазначену на етикетці.
2. Розкритий набір залишається стабільним до закінчення терміну придатності при зберіганні як зазначено вище.
3. Мікропланшетний зчитувач з шириною доріжки 10 нм або менше і діапазоном оптичної щільності 0-2 ОП або вище при довжині хвилі 450 нм використовується для вимірювання абсорбції.

ОФІЦІЙНИЙ ДИСТРИБ'ЮТОР

ТОВ «ДІАМЕБ»
вул.Чорновола, 97
м. Івано-Франківськ, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com

© Переклад на українську мову ТОВ «ДІАМЕБ»