



**Набор ИФА
для определения
ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО РАКОВОГО
АНТИГЕНА СА-19-9**

Кат. № : 6909Z
Количество : 96
Производитель : DAI (США)

Методика от 07-10-2009

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

Анализ	СА-19-9
Метод	Иммунсорбентный анализ с применением фиксированных ферментов
Принцип	Конъюгированный пероксидазой ИФА
Диапазон обнаружения Образец	0-240 Е/мл
Специфичность	97 %
Чувствительность	5 Е/мл
Общее время	~ 140 мин.
Срок годности	12-14 мес.

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор ИФА предназначен для количественного определения желудочно-кишечного антигена (СА-19-9) в сыворотке человека.

ВВЕДЕНИЕ

Настоящий набор предназначен для мониторинга и как скринингового исследования. Патологические результаты (например, повышенный уровень СА 19-9 в сыворотке) требует клинического вмешательства. Анализ СА 19-9 используется как маркер опухоли для пациентов при клинической ремиссии, поскольку послеоперационные значения СА 19-9 в сыворотке, которые не возвратились к норме, указывают на присутствие остатков раковых клеток. Раковый рецидив часто сопровождается ростом СА 19-9 до того, как прогрессирующая болезнь станет клинически определяемой.

ПРИНЦИП ИССЛЕДОВАНИЯ

Группа муциновых гликопротеиновых антигенов Sialosyl Lewis (SLA), такие как СА 19-9 и СА 19-5 описаны как антигены, ассоциированные с опухолями желудочно-кишечного тракта.

СА 19-9 является наиболее важным и основным углеродный маркер опухоли. Иммуногистологическое распределение СА 19-9 в тканях соотносится с количественным определением высшей концентрации при опухоли чем при норме или в воспалительных тканях. Недавнее описание указывает, что уровень СА 19-9 в сыворотке часто повышен в сыворотке людей с разными злокачественными опухолями желудочно-кишечного тракта, как панкреатит, при опухолях печени или желудка. Вместе с СЕА, повышенный уровень СА 19-9 предполагается при неоплазме желчного пузыря при его воспалении. Этот опухолевый антиген может расти при некоторых незлокачественных состояниях. Исследования показывают, что значения СА 19-9 в сыворотке могут использоваться при мониторинге субъектов с вышеуказанными патологиями. Было показано, что постоянно повышенный уровень в сыворотке СА 19-9 после лечения может указывать на скрытую или/и латентную форму болезни. Постоянно повышенный уровень СА 19-9 в сыворотке может быть связан с прогрессирующим злокачественным заболеванием и плохой терапевтической реакцией. Снижение уровня СА 19-9 может указывать на хорошие прогнозы и хорошую реакцию на лечение.

МАТЕРИАЛЫ И КОМПОНЕНТЫ

Поставляемые материалы в наборе для исследования:

- **Микротитровальный планшет** на 96 лунок, покрытый мишеними моноклональными антителами СА-19-9.

- **Рабочий буфер**, 12 мл.
- **Реагент ферментного конъюгата**, 12 мл.
- **Референтные стандарты СА-19-9**, содержащие 0, 15, 30, 60, 120 и 240 Е/мл СА-19-9, готовые к использованию.
- **Субстрат ТМВ**, 12 мл.
- **Стоп раствор**, 12 мл.
- **Концентрат промывочного буфера (50x)**, 15 мл.

Необходимые, но не поставляемые материалы.

- Точные пипетки: 0,05 - 0,2 мл;
- Сменные наконечники к пипеткам;
- Вихревой смеситель или аналог;
- Промокательная бумага или бумажное полотенце;
- Графопостроительная бумага;
- Микротитровальный планшет-ридер с шириной дорожки 10 нм или меньше и диапазоном оптической плотности 0-2 или больше при 450 нм, является приемлемым для использования в измерении абсорбции.

СБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

- Сыворотка должна быть собрана с применением стандартной медицинской методики и должна быть отделена от красной телец крови как можно быстрее. Избегайте сильно гемолизированной, липемической и мутной сыворотки.
- Образцы плазмы, собранные в пробирки, содержащие ЭДТА, гепарин или оксалат, могут влиять на процедуру анализа и их необходимо избегать.
- Образцы необходимо закрыть и хранить 48 часов при 2-8°C до начала анализа. Образцы для более длительного срока хранения необходимо заморозить до -20°C. Размороженные образцы следует перемешать перед анализированием.

ХРАНЕНИЕ НАБОРОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИНСТРУМЕНТАРИЯ

1. Невскрытые наборы должны храниться после получения при 2-8°C. Для минимизации влияния влажного воздуха микротитровальный планшет должен храниться при 2-8°C в запечатанном виде вместе с осушителями.
2. Открытые наборы остаются стабильными до окончания срока годности, при условии, что они хранятся с соблюдением вышеуказанных условий.
3. Микротитровальный планшет-ридер с шириной дорожки 10 нм или меньше и диапазоном оптической плотности 0-2 или больше при 450 нм, является приемлемым для использования в измерении абсорбции.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

1. Перед использованием все реагенты должны быть приведены к комнатной температуре (18-22°C) и перемешаны легким переворачиванием или покачиванием. Избегайте образования пены.
2. Разбавьте 0,5 части промывочного буфера (50x) 49 частями дистиллированной воды. Например, разбавьте 15 мл концентрата промывочного буфера (50x) дистиллированной водой, чтобы приготовить 750 мл промывочного буфера (1x). Перед использованием хорошо перемешать.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Закрепите в держателе нужное количество привитых лунок. Внесите в соответствующие лунки по **50 мкл** стандартов, образцов и контролей.
2. Внесите в каждую лунку по **100 мкл** рабочего буфера. Тщательно перемешайте на протяжении **30 сек.**
3. Инкубируйте течение **60 минут** при 37°C.
4. Удалите инкубационную смесь планшета в контейнер для отходов. Промойте и опорожните микротитровальные лунки промывочным буфером (1x) **5 раз**. Резко встряхните планшетом о промокательную бумагу или бумажные полотенца, чтобы удалить все остатки воды.
5. Внесите в каждую лунку по **100 мкл** реагента ферментного конъюгата. Хорошо перемешайте.
6. Инкубируйте еще **60 минут** при 37°C.
7. В конце 60-минутной инкубации удалите содержимое и промойте лунки как описано в п. 4 выше.
8. Внесите в каждую лунку по **100 мкл** реагента субстрата ТМВ. Легко смешивайте **10 сек.**
9. Инкубируйте **20 минут** при комнатной температуре в темноте без встряхивания.
10. Остановите реакцию добавлением **100 мкл** стоп-реагента в каждую лунку. Легко смешивайте **10 сек.** Очень важно, чтобы голубой цвет полностью стал желтым.
11. Измерьте оптическую плотность лунок при **450 нм** в течении **15 минут**.

Внимание:

1. Процедура промывки имеет большое значение. При недостаточно тщательном промывании результаты будут неточными, и уровень оптической плотности лунок будет завышен.
2. В случае ручного пипетирования не рекомендуется в одном анализе использовать более 32 лунок, так как внесение всех калибровочных, контрольных и исследуемых образцов не должно занимать более 5 минут. В случае автоматического пипетирования можно использовать весь планшет из 96 лунок.
3. Хотя дублирование всех стандартов и образцов не требуется, но рекомендуется.

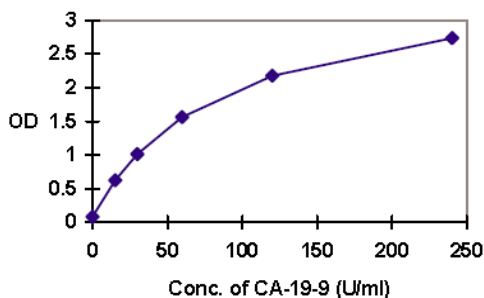
ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Определите среднюю абсорбцию для каждого набора стандартов, контроля и образцов. Используя линейную или полулогарифмическую бумагу, отметьте точки значений поглощения стандартов в Е/мл на вертикальной оси Y, а соответствующие концентрации на горизонтальной оси X. Используйте средние значения поглощения для каждого образца, чтобы определить с калибровочной кривой соответствующую концентрацию CA-19-9 в Е/мл. Любые разбавленные образцы должны быть уточнены соответствующим коэффициентом разбавления.

ПРИМЕР ТИПИЧНОЙ КАЛИБРОВОЧНОЙ КРИВОЙ

Результаты типичного измерения поглощения стандартов со считыванием оптической плотности при 450 нм указаны на оси Y против концентраций CA-19-9 на оси X.

CA-19-9 (нг/мл)	Абсорбция (450 нм)
0	0,078
15	0,620
30	1,009
60	1,562
120	2,182
240	2,742



Настоящая калибровочная кривая предоставлена только в качестве примера и не должна использоваться для вычисления неизвестных значений. Каждый пользователь должен получить свою собственную калибровочную кривую и данные.

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ

Здоровые женщины должны иметь значения CA-19-9 **ниже 35 Е/мл**. Минимально определяемая набором концентрация CA-19-9 составила 5 Е/мл.

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

1. Достоверные результаты будут достигнуты только при полном понимании инструкции к набору.
2. Процедура промывки очень важна. Недостаточное промывание приведет к низкой точности и ошибочно повышенным считываниям абсорбции.
3. Гетерофильные антитела, такие как человеческие антимышинные антитела (НАМА) часто обнаруживаются в сыворотке человека. Эти антитела могут сильно влиять при некоторых иммунодиагностических процедурах. Настоящий набор разработан для минимизации этого влияния. Но полное исключение этого влияния для всех образцов пациентов невозможно гарантировать. Полученные результаты должны оцениваться в комплексе с остальными методами исследования и клиническими данными.

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