

ІНСТРУКЦІЯ З ВИКОРИСТАННЯ

Набір реагентів для кількісного імуноферментного визначення раково антигену СА 15-3

(СА 15-3–БЕСТ)

1. ПРИЗНАЧЕННЯ

Набір реагентів «СА 15-3–БЕСТ» призначений для кількісного *in vitro* визначення ракового антигену СА 15-3 у сироватці крові людини методом твердофазного імуноферментного аналізу.

У випадку дробового застосування необхідна обов'язкова постановка всіх каліброваних проб для кожного окремого аналізу.

2. СКЛАД НАБОРУ

Планшет - полістирольний, з іммобілізованими анти СА 15-3 моноклональними антитілами

1 упаковка.

Кон'югат – анти – СА 15-3 – біотин, 14 мл 1 флакон

Калібрувальні проби (КП):

КП№1- 1 флакон, 0,8 мл, містить 0 Од/мл СА 15-3,

КП№2- 1 флакон, 0,8 мл, містить 12,5 Од/мл СА 15-3,

КП№3- 1 флакон, 0,8 мл, містить 50 Од/мл СА 15-3,

КП№4- 1 флакон, 0,8 мл, містить 125 Од/мл СА 15-3,

КП№5- 1 флакон, 0,8 мл, містить 250 Од/мл СА 15-3,

примітка: точні номінали каліброваних проб зазначені на етикетках флаконів і в паспорті до набору реагентів.

КС (контрольна сироватка) містить відому кількість СА 15-3, діапазон концентрацій зазначений на етикетці флакону, 0,8 мл 1 флакон

РРС (Розчин для розведення зразків сироватки крові), водно-сольовий розчин, 14 мл, 1 флакон

Промиваючий розчин, концентрований водно-сольовий розчин для промивання х26, 22 мл. 1 флакон

ТМБ (Розчин тетраметилбензидина), 14 мл 1 флакон

Стоп-реагент, 14 мл 1 флакон

Додатково до складу набору можуть входити: захисна плівка для мікропланшетів; пластикові ванночки для реактивів; одноразові наконечники; поліетиленовий пакет із замком для зберігання мікропланшета.

3. АНАЛІТИЧНІ Й ДІАГНОСТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРУ.

3.1. Чутливість. Мінімальна достовірно обумовлена набором концентрація СА 15-3 в сироватці крові людини не перевищує 0,75 Од/мл.

3.2. Специфічність. Перехресна реакція антитіл до СА 15-3 з іншими аналітами не визначається.

3.3. Діапазон очікуваних значень:

У здорових чоловіків ≤ 30 Од/мл.

У більшості здорових жінок ≤ 37 Од/мл;

у вагітних :

I триместр ≤ 55 Од/мл

II триместр ≤ 65 Од/мл

III триместр ≤ 180 Од/мл

в період лактації ≤ 120 Од/мл.

4. ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ.

При роботі з досліджувальними сироватками і контрольними зразками слід дотримуватись заходів безпеки, прийняті при роботі з потенційно інфекційним матеріалом: працювати в гумових рукавичках; не пікетувати розчини ротом; всі використані матеріали дезінфікувати відповідно до вимог чинного законодавства.

5. ОБЛАДНАННЯ Й МАТЕРІАЛИ, НЕОБХІДНІ ПРИ РОБОТІ З НАБОРОМ:

Одно- Фотометр вертикального сканування, шейкер – інкубатор, вошер, центрифуга лабораторна на 2,5- 3,0 тис. об / хв., холодильник побутовий, піпетки напівавтоматичні одно каналні і багатоканальні рукавички гумові хірургічні, колба мірна, папір фільтрувальний, вода дистильована.

6. АНАЛІЗОВАНІ ЗРАЗКИ.

6.1. Узяття крові для аналізу слід проводити з використанням стандартних процедур для венозної крові, а зразки сироватки повинні бути звільнені від клітин крові центрифугуванням. Після центрифугування сироватка крові повинна бути перенесена в окрему пробірку.

6.2. Слід уникати використання в аналізі плазми крові, гемолізованої, мутної або гіперліпемічної сироватки. Не допускається використання як консервант азиду натрію.

6.3. Зразки сироватки крові слід використати протягом 24 годин з моменту отримання за умови їх зберігання при +2...8°C. Для більш тривалого зберігання зразки необхідно заморозити при температурі нижче -20°C. Уникати повторного заморожування зразків.

7. ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ.

7.1 . Підготовка реагентів

7.1.1 . Стрипи . Перед розкриттям пакет зі стрипами необхідно витримати при кімнатній температурі (+18 ... 25 ° С) не менше 30 хвилин. Розкрити пакет і переставити на вільну рамку необхідну кількість стрипів .

7.1.2 . Рідкі калібрувальні проби і контрольна сироватка готові до використання.

Для відновлення ліофілізованих калібрувальних проб та контрольної сироватки перед розкриттям флаконів легким постукуванням струсити частинки , які прилипли до стінок флаконів або до кришок . Відкрити флакони і покласти кришки перевернутими на суху поверхню. У кожний флакон з калібрувальною пробію внести по 1 мл дистильованої води , у флакон з контрольною сироваткою - 0,5 мл дистильованої води і закрити кришками. Витримати флакони протягом 10 хвилин при кімнатній температурі без перемішування. Потім , акуратно нахилиючи і обертаючи флакони , перемішати їх вміст до повного розчинення , уникаючи піноутворення . Протягом наступних 10 хвилин витримати флакони при кімнатній температурі , періодично перемішуючи.

7.1.3 . РРС готовий до використання.

7.1.4 . Кон'югат готовий до використання. Витрата кон'югатів на один стрип становить по 1,0 мл .

7.1.5 . Розчин для промивання . Необхідну кількість розчину для промивання розвести дистильованою водою в 26 раз. **Наприклад:** 1 мл розчину для промивання + 25 мл дистильованої води.

Ретельно перемішати , уникаючи піноутворення .

7.1.6 . Розчин ТМБ готовий до використання. Витрата ТМБ на один стрип становить 1,15 мл .

7.1.7 . Стоп - реагент готовий до використання. Витрата стоп- реагенту на один стрип становить 0,75 мл .

7.1.8 . Всі реагенти перед проведенням аналізу повинні бути ретельно перемішані і доведені до кімнатної температури (+18 ... 25 ° С) .

Якщо за попередніми даними або за результатами аналізу (див. п.9.3 .) Значення концентрацій СА 15-3 в досліджуваних зразках вище , зразки слід додатково розвести РРС в 10 разів і більше.

7.2 . Постановка аналізу

Скласти протокол маркування лунок. Лунки промаркувати наступним чином :

A1 - для вимірювання величини оптичної густини КП № 1;

B1 - для вимірювання величини оптичної густини КП № 2;

C1 - для вимірювання величини оптичної густини КП № 3;

D1 - для вимірювання величини оптичної густини КП № 4;

E1 - для вимірювання величини оптичної густини КП № 5;

F1 - для вимірювання величини оптичної густини контрольної сироватки.

7.2.1. Внесіть у всі лунки по 50 мкл РРС

7.2.2 . Внести у відповідні лунки по 50 мкл калібрувальних проб та контрольної сироватки , в інші лунки - по 50 мкл досліджуваних зразків .

Примітка: загальний час внесення калібрувальних проб , контрольної сироватки і досліджуваних зразків не повинно перевищувати 15 хвилин , інакше час інкубації різних зразків буде значно відрізнятися , що призведе до неправильних результатів .

Примітка: Надзвичайно важливо вносити всі реагенти якомога ближче до дна покритої стрептавідином лунки .

7.2.3 . Перемішати реагенти в лунках акуратним постукуванням рамки зі стрипами протягом 20-30 секунд.

7.2.4 . Заклеїти планшет плівкою . Інкубувати стрипи протягом 30 хвилин при кімнатній температурі (+18 ... 25оС) і постійно струшувати (на шейкері зі швидкістю 600-800 об/хв) або протягом 60 хвилин без шейкіровання .

7.2.5. По закінченні інкубації видалити вміст лунок в контейнер з дезінфікуючим розчином (1% розчином гіпохлориту натрію або 6% розчином перекису водню) і промити лунки три рази. При кожній промивці в усі лунки додавати по 250 мкл промиваючого розчину, приготовленого за п.7.1.5 , струснути рамку круговими обертами протягом 5-10 секунд з наступною аспірацією. . Після останньої аспірації ретельно видалити залишки рідини з лунок постукуванням рамки зі стрипами в перевернутому положенні по фільтрувальному паперу .

Допускається промивка лунок за допомогою автоматичного пристрою.

7.2.6 . Внести в усі лунки по 100 мкл кон'югату.

7.2.7 . Заклеїти планшет плівкою. Інкубувати стрипи в темноті при кімнатній температурі (+18 ... 25оС) 30 хв. при постійному струшуванні зі швидкістю 600-800 об./хв, або протягом 60 хвилин без шейкіровання

7.2.8. Після закінчення другої інкубації видалити вміст лунок шляхом аспірації і промити лунки 5 разів згідно п.7.2.5 .

7.2.9 . Негайно внести в усі лунки по 100 мкл розчину ТМБ . Інкубувати стрипи в темноті при кімнатній температурі протягом 15-25 хвилин в залежності від ступеня розвитку забарвлення .

7.2.10 . Додати в усі лунки з тією ж швидкістю і в тій же послідовності , як і розчин ТМБ , по 100 мкл стоп- реагенту для зупинки ферментної реакції і обережно перемішати реагенти в лунках акуратним постукуванням рамки зі стрипами протягом 15-20 секунд.

7.2.11 . Якщо неможливо виміряти оптичну густину у лунках планшета безпосередньо після виконання п. 7.2.10 , то

слід мати на увазі, що забарвлення в лунках планшета стабільна не більше 20 хвилин при кімнатній температурі (+18 ... 25 °С).

Примітка: максимальна оптична густина не повинна перевищувати меж лінійного виміру спектрофотометра. Робочий діапазон спектрофотометра необхідно уточнювати в паспорті приладу. Рекомендована максимальна оптична густина не більше 2,5 од. ОГ.

8 . РЕЄСТРАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Виміряти на фотометрі вертикального сканування оптичну густина у лунках при довжині хвилі 450 нм.

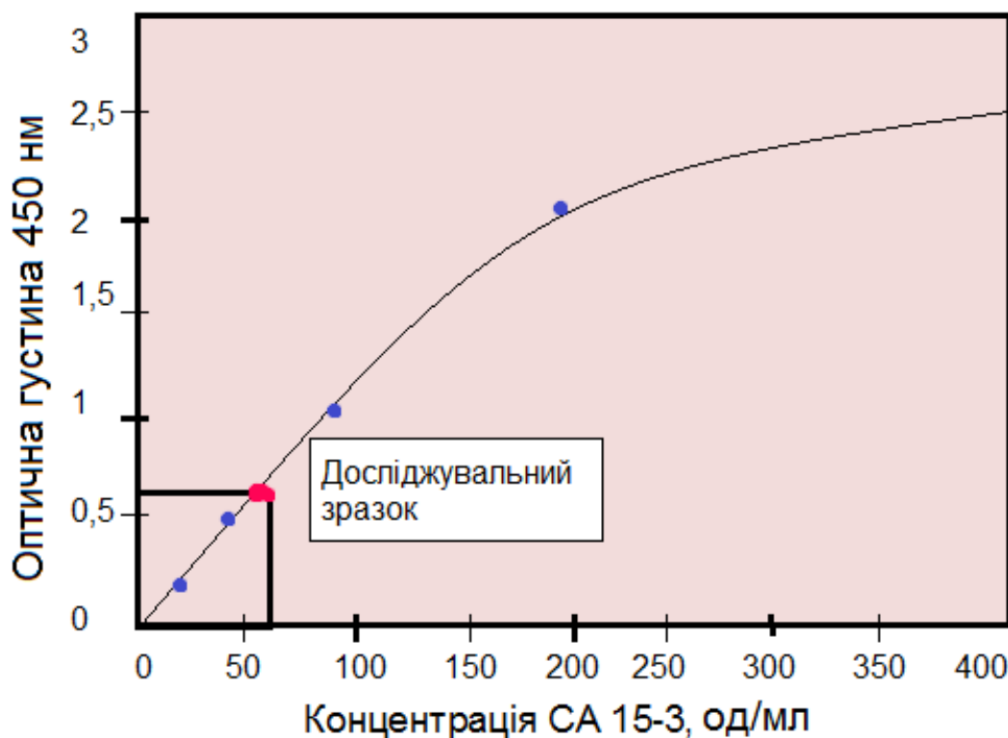
9 . ОБЛІК РЕЗУЛЬТАТІВ

9.1 . Побудувати калібрувальний графік залежності оптичної густини від концентрації СА 15-3 (Од / мл) в калібрувальних пробах (Малюнок 2). Зовнішній вигляд графіка залежить від способу перетворення осей .

Примітка 1: при застосуванні референтної довжини хвилі 620 нм оптичну густина кожної калібрувальної проби , отриману при 620 нм , віднімають з оптичної густини, отриманої при основній довжині хвилі , ці значення використовують для побудови калібрувального графіка .

9.2 . Визначити зміст СА 15-3 в пробах за калібрувальним графіком. У разі додаткового розведення зразка необхідно виміряну концентрацію СА 15-3 помножити на коефіцієнт розведення .

9.3 . Екстраполяція калібрувального графіка для значень концентрації СА 15-3 , перевищують номінал КП № 5 , не допускається. Для точного визначення концентрації СА 15-3 в таких зразках необхідно виконати їх розведення у відповідності з п. 7.1.8 .



Малюнок 2 . Типовий калібрувальний графік

10 . УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ ТА ЕКСПЛУАТАЦІЇ НАБОРУ

Набір Набори зберігати і транспортувати при (2-8)°С. Допускається транспортування при температурі до 25°С не більше 5 діб. Не допускати заморожування!

Термін придатності набору реагентів – 14 місяців з дня випуску.

З питань, що стосуються якості набору, звертатися: в **ТОВ «Бест Діагностик»** за адресою:

04074, м. Київ-74, вул.Лугова, 9, тел./факс: (044) 500-57-11 E-mail: info@bestdiagnostic.com.ua

Виробник залишає за собою право вразі вдосконалення набору вносити зміни до інструкції.