



НАБОР ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ CA 19-9 В СИРОВАТКЕ И ПЛАЗМЕ

Кат. № : 105-3940
Кількість : 96
Виробник : DRG (Германия)

Методика 3.0 от 04-2006

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

Набор только для *in vitro* диагностики

ВСТУПЛЕНИЕ

DRG CA 19-9 ИФА набор для количественного определения, связанного с раком, антигена CA 19-9 в сыворотке и плазме человека.

ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Микротитровальные лунки покрыты моноклональным антителом к антигенному сайту на молекуле CA 19-9.

Аликвоту пациента с эндогенной CA 19-9 икубируют в лунке с конъюгатом фермента (анти-CA 19-9 антитело – пероксидаза хрена). После инкубации несвязавшийся конъюгат вымывают.

Количество связанного конъюгата пропорционально концентрации CA 19-9 в образце. При добавлении раствора субстрата, интенсивность образовавшейся окраски пропорциональна концентрации CA 19-9 в образце пациента.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Только для использования в «ин-витро» 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 H₂SO₄). 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. Не смешивать реагенты между собой и не использовать реагенты из других наборов.
9. Все объемы нужно вносить согласно процедуре. Оптимальных результатов возможно достичь только при использовании калибровочных пипеток и микропланшетного ридера.
10. Не смешивать реагенты с разных лотов. Не рекомендуется также смешивать лунки одного набора. Наборы могли храниться при разных условиях и при их использовании могут быть получены разные результаты.
11. Реагенты считать опасными и уничтожать согласно законодательству.

СОСТАВ НАБОРА

1. **Микротитровальная панель** с 96 лунками, покрытыми анти-CA 19-9 моноклональными антителами.
2. **Нулевой Стандарт**, 1 флакон, 3 мл, готов к использованию.
3. **Стандарт (Стандарт 1-5)**, 5 флаконов, 0,5 мл, готов к использованию. Концентрации: 15,30,60,120,240 ед/мл.
4. **Контроль**, 1 флакон, 0,5 мл, (лиоф.)
Значения контролей и границы узнайте на этикетке. Содержит 0,3% Проклина в качестве консерванта.
5. **Ферментный конъюгат**, 1 флакон, 14 мл, готов к использованию анти-CA 19-9 антисыворотка, конъюгирована пероксидазой хрена Содержит 0,3% проклина в качестве консерванта.
6. **Субстрат Раствор**, 1 флакон, 14 мл, готов к использованию. ТМВ
7. **Стоп-раствор**, 1 флакон, (0,5 М H₂SO₄), 14 мл.
Избегайте контакта с стоп раствором. Может вызвать ожоги кожи.
8. **Промывочный раствор**, 40X концентрат, 1 флакон, 30 мл

МАТЕРИАЛЫ НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ

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

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 свертывание не произошло до конца. Время свертывания может быть удлинено для пациентов, которые проходят антикоагуляционную терапию.

Плазма

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

ХРАНЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Образцы хранить 5 дней при 2 – 8°C перед проведением анализа или при – 20°C на более долгий срок. Растопленные образцы нужно несколько раз перевернуть перед проведением анализа.

РАЗВЕДЕНИЕ

При проведении первого анализа, образец сыворотки 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** стандартов, образцов, контролей в соответствующие лунки с новыми наконечниками в пипетках.

3. Раскапать **100 мкл** Ферментного конъюгата в каждую лунку.
4. Аккуратно перемешивать 10 секунд. **Важно добиться полного смешивания на этом этапе.**
5. Инкубировать **при комнатной температуре 30 минут** не накрывая.
6. Удалить инкубационную смесь в контейнер для отходов. Промыть лунки 3 раза разведенным раствором для промывки (400 мкл на лунку). Постучать панелью по абсорбирующей бумаге, чтобы удалить оставшиеся капли.
ПРИМЕЧАНИЕ: Чувствительность и точность анализа очень зависит от точного исполнения процедуры промывания.
7. Раскапать **100 мкл** Субстрата раствора в каждую лунку.
8. Инкубировать при комнатной температуре, в темноте 30 минут.
9. Остановить реакцию, добавив **100 мкл** Стоп-раствора в каждую лунку.
10. 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 в U/ml, с абсорбцией на вертикальной оси (y) и концентрацией на горизонтальной оси (x).
3. Используя средние значения абсорбции для каждого образца, определить соответствующую концентрацию CA 19-9 в Е/мл 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.

В исследованиях следующие значения наблюдались:
Величина исключения в литературе - 37 U/ml

ХАРАКТЕРИСТИКА ТЕСТА

Динамический ряд анализа

Граничные нормы анализа 0-240ед/мл

Специфичность антител (перекрестная реактивность)

С набором сыворотка здоровых пациентов не реагировала.

Аналитическая чувствительность

Аналитическая чувствительность была определена как среднее + два стандартных отклонения 20 дублированных анализов Нулевого Стандарта и становит 0,888 ед/мл

Точность

Внутри-тестовая

Образец	n	Среднее (Ед/мл)	КВ (%)
1	20	59,99	5,71

Между-тестовая

Образец	n	Среднее (Ед/мл)	КВ (%)
1	12	60,52	4,86
2	12	15,92	4,88
3	8	70,93	7,23

ПРАВИЛЬНОСТЬ

Контроль качества

Рекомендуется использовать контрольные образцы согласно регулированию. Контрольные образцы нужно использовать каждый день для подтверждения результатов. Их 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 случаи 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 0,125 мг/мл) и триглицериды (до 30 мг/мл) не влияют на результаты анализа.

Тест содержит реагенты для минимизирования смешения з НА МА 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.

ПРАВОВЫЕ АСПЕКТЫ

Достоверность результатов

Тест должен проводиться точно с инструкцией производителя. Также пользователь должен следовать национальным стандартам и законам. Это особенно относиться 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

Население	5% Процентиль	95% Процентиль
Женщины и мужчины	0 U/ml	14.4 U/ml

соответствуют спецификации.

Терапевтическое заключение

Терапевтическое заключение никогда не должно основываться на результатах лабораторных исследований. Оно должно учитывать полностью всю клиническую картину пациента.

Информация для заказа:

ЧМП «ДИАМЕБ»
ул. Чорновола, 97,
г. Ивано-Франковск, 76005
тел.: +38 (0342) 77 51 22
тел/факс: +38 (0342) 77 56 12
e-mail: info@diameb.com