



ТЕСТ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ КАРЦИНОЭМБРИОНАЛЬНОГО АНТИГЕНА (СЕА) МЕТОДОМ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ТВЕРДОФАЗНОГО АНАЛИЗА (ИФА)

Тест для количественного определения СЕА в сыворотке
крови человека

Кат.№ 5201Z
Производитель: Diagnostic Automatic, Inc., (США)

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

Методика от 09-10-2009

ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Количество тестов	96 тестов
Тест	СЕА ELISA
Метод	ИФА: Твердофазный иммуносорбентный анализ
Принцип	Пероксидаза-конъюгированный ИФА
Диапазон обнаружения	0-120 нг/мл
Образец	50 мкл сыворотки
Специфичность	98,7 %
Чувствительность	1,0 нг/мл
Общее время	~ 80 мин.
Срок хранения	12-14 мес.

*Лабораторные анализы не могут быть единственными критериями для медицинского заключения. История болезни пациента и последующие тесты должны быть приняты во внимание.

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор ИФА СЕА предназначен для количественного определения концентрации карциноэмбрионального антигена в сыворотке человека.

ВВЕДЕНИЕ

Карциноэмбриональный антиген (СЕА) это клеточно-поверхностный гликопротеин. В 1969 г. было обнаружено, что СЕА плазмы увеличивался в 35 из 36 пациентов с раком ободочной кишки и титры СЕА уменьшались после успешного хирургического вмешательства. Уровень нормы был отмечен в пациентов с другими формами рака или при начале болезни. Последующие изучение не внесли ничего нового в начальные результаты и теперь ясно, что уровень СЕА растет при разных формах рака. Рост уровня СЕА обнаружено в более чем 30% пациентов с раком легких, печени, поджелудочной железы, груди, ободочной кишки, головы или горла, мочевого пузыря, шейки матки и простаты. Рост уровня плазмы СЕА зависит от стадии и степени болезни, дифференциации опухоли и размеров метастазы. СЕА также обнаружено в здоровой ткани.

ПРИНЦИП ИССЛЕДОВАНИЯ

Набор DAI СЕА ELISA основывается на принципе твердофазного ферментно-связанного иммуносорбентного анализа. Система набора использует одно моноклональное анти-СЕА антитело для твердо фазовой иммобилизации (микропланшет) и другое мышиное моноклональное анти-СЕА антитело в растворе конъюгата антитело-фермент (пероксидаза хрена). Стандарты и тестовые образцы (сыворотка) добавляются в микропланшетные лунки, покрытые антителом СЕА. Потом добавляется антитело СЕА, меченное пероксидазой хрена (конъюгатом). Если человеческий СЕА присутствует в образце, он связывается с антителом на лунке и ферментным конъюгатом, в результате СЕА молекулы будут в сэндвиче между твердой фазой и ферментно-связанными антителами. После 1-часовой инкубации при комнатной температуре лунки промываются водой для удаления несвязанных меченых антител. Добавляется раствор ТМВ и инкубируется 20 минут, в результате чего происходит развитие голубого окраса. Развитие окраса останавливается добавлением стоп раствора. Окрас изменяется на желтый и измеряется спектрофотометрическим методом при 450 нм.

Концентрация СЕА прямо пропорциональна интенсивности цвета в тестовом образце.

МАТЕРИАЛЫ И КОМПОНЕНТЫ

Поставляемые материалы в наборе для исследования:

- Микротитровальный планшет, покрытый антителами на 96 лунок.
- Стандарты СЕА, содержащие 0, 3, 12, 30, 60 и 120 нг/мл СЕА, готовые к использованию, 2 комплекта по 0,5 мл.
- Реагент ферментного конъюгата, 12 мл;
- Субстрат ТМВ, 12 мл;
- Стоп-раствор, 12 мл;
- Концентрат промывочного буфера (50x), 15 мл.

Необходимые, но не поставляемые материалы.

- Точные пипетки: 0,04 - 0,2 мл.
- Сменные наконечники к пипеткам.
- Дистиллированная вода.
- Вихревой смеситель или аналог.
- Промокательная бумага или бумажное полотенце.
- Графопостроительная бумага.
- Микротитровальный планшет-ридер.

СБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

1. Сыворотка должна быть приготовлена с цельной крови, собранной подходящей медицинской методикой и сыворотка должна быть отделена от красных телец крови как можно быстрее. Избегайте сильно гемолизированной, липемической и мутной сыворотки.
2. Образцы плазмы, собранные в пробирки, содержащие ЭДТА, гепарин или оксалат, могут влиять на процедуру теста и их необходимо избегать.
3. 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 тестированием.

ХРАНЕНИЕ НАБОРОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИНСТРУМЕНТАРИЯ

Невыкрытые 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. Открытые наборы остаются стабильными до окончания срока годности, при условии, что они хранятся с соблюдением вышеуказанных условий. Микротитровальный планшет-ридер с шириной дорожки 10 мм 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. Перерастворите каждый лиофилизированный стандарт 0,5 мл дистиллированной воды. Оставьте перерастворенный материал по крайней мере на 20 минут. Перерастворенные стандарты должны храниться закрытыми при 2-8°C.
3. Разбавьте 1 часть промывочного буфера (50x) 49 частями дистиллированной воды. Например, разбавьте 15 мл промывочного буфера (15x) дистиллированной водой, чтобы приготовить 750 мл промывочного буфера (1x). Перед использованием хорошо перемешать.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Закрепите в держателе нужное количество притытых лунок.
2. Внесите в соответствующие лунки по **50 мкл** стандартов, образцов и контролей.
3. Внесите в каждую лунку по **100 мкл** ферментного конъюгата.
4. Тщательно перемешайте на протяжении **10 сек.** Очень важно на данном этапе достичь полного смешивания.
5. Инкубируйте течение **60 минут** при комнатной температуре (18-22°C).
6. Удалите инкубационную смесь планшета в контейнер для отходов.
7. Промойте и опорожните микротитровальные лунки промывочным буфером (1x) **5 раз**.
8. Резко встряхните планшетом о промокательную бумагу или бумажные полотенца, чтобы удалить все остатки воды.
9. Внесите в каждую лунку по **100 мкл** раствора ТМВ. Легко смешивайте **5 секунд**.
10. Инкубируйте **20 минут** при комнатной температуре.

11. Добавьте **100 мкл** стоп-реагента в каждую лунку.
12. Легко смешивайте **30 секунд**. Очень важно, чтобы весь голубой цвет стал желтым.
13. 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 3 минут. В случае автоматического пипетирования можно использовать весь планшет из 96 лунок.
3. Хотя дублирование всех стандартов и образцов не требуется, но рекомендуется.

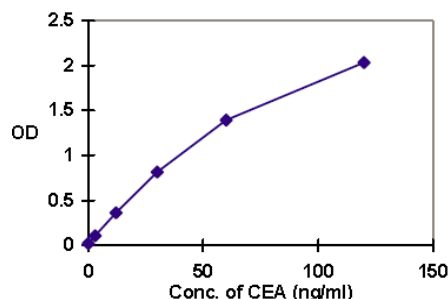
ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Определите среднюю абсорбцию для каждого набора стандартов, контроля и образцов. Используя линейную или полулогарифмическую бумагу, отметьте точки значений поглощения стандартов в нг/мл на вертикальную ось Y, а соответствующие концентрации на горизонтальную ось X. Используйте среднее значение поглощения для каждого образца, чтобы определить соответствующее значение концентрации CEA в нг/мл простой интерполяцией с калибровочной кривой.

ПРИМЕР ТИПИЧНОЙ КАЛИБРОВОЧНОЙ КРИВОЙ

Результаты типичного измерения поглощения стандартов против концентрации CEA. Следующие данные предназначены только для демонстрации и не должны использоваться во время тестирования:

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

**ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ**

Наиболее полное изучение CEA было получено совместным изучением, в котором были проанализированы 35000 образцов в более чем 10000 пациентов. В 1425 нормальных некурящих субъектов уровень 98,7% имели значение меньше 5.0 нг/мл. Рекомендуется, что в каждой лаборатории устанавливала собственные границы. Минимальная определяемая набором концентрация CEA 1.0 нг/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 анти-мышинные 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

ООО «ДИАМЕБ»

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

Тел.: (0342) 775122

Тел/факс: (0342) 775612

E-mail: info@diameb.ua

www.diameb.ua