



## НАБОР ИФА

### для количественного определения в сыворотке и плазме ракового антигена CA 19-9

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

Методика от 08-2010  
Версия 4.0

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

#### 1. ВВЕДЕНИЕ

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

Набор предназначен только для диагностического использования *in vitro*.

#### 2. ПРИНЦИП АНАЛИЗА

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

Аликвоты пациента с эндогенной CA 19-9 инкубируют в лунке с конъюгатом фермента (анти-CA 19-9 антитело – пероксидаза хрена). После инкубации несвязанный 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.

#### 3. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Только для использования в «ин-витро» диагностике.
2. Все реагенты проанализированы 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 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). 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.

#### 4. КОМПОНЕНТЫ НАБОРА

##### 4.1 Содержимое набора

1. **Микротитрационные лунки** 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 Е/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. **Раствор субстрата**, 1 флакон, 14 мл, готов к использованию. ТМБ.
7. **Стоп-раствор**, 1 флакон, (0,5 М H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 14 мл.  
Избегайте контакта с стоп раствором. Может вызвать ожоги кожи.
8. **Промывочный раствор**, 40X концентрат, 1 флакон, 30 мл

##### 4.1.1 Материалы необходимые, но не поставляемые

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

#### 4.2 Хранение и стабильность набора

Закрытый набор хранится при 2-8°C, микротитровальная панель – в закрытом пакете с влагопоглотителем.

После открытия неиспользованные лунки необходимо запечатать в том же пакетице из фольги. Вскрытый набор стабилен до даты срока годности, при условии хранения как описано выше.

#### 4.3 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 промывочный раствор стабилен 2 недели при комнатной температуре.

#### 4.4 Уничтожение набора

Утилизацию набора необходимо осуществлять в соответствии с государственными правилами. Специальная информация о данном наборе предоставлена в Паспорте безопасности (см. Раздел 13 в данной инструкции).

#### 4.5 Повреждение наборов

В случае серьезного повреждения набора или его компонентов, необходимо проинформировать об этом компанию DRG в письменной форме не позднее 1 недели после получения набора. Сильно поврежденные отдельные компоненты не должны использоваться в анализе. Они должны храниться до достижения окончательного решения. После этого они должны быть уничтожены согласно официальным правилам.

#### 5. ОБРАЗЦЫ

В данном исследовании может использоваться сыворотка или плазма (ЭДТА или гепариновая).

Не рекомендуется использовать гемолитические, желтушные или липемические образцы.

*Примечание:* Образцы, содержащие азид натрия в анализе не должны использоваться.

#### 5.1 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.

#### 5.2 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.

#### 5.3 Разбавление образцов

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)

#### 6. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

##### 6.1 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 пропорциональная времени и температуре.

**6.2 Процедура анализа**

1. Закрепить желаемое количество лунок в держателе.
  2. Раскапать по **10 мкл** стандартов, образцов, контролей в соответствующие лунки новыми наконечниками.
  3. Раскапать по **100 мкл** ферментного конъюгата в каждую лунку.
  4. Аккуратно перемешивать 10 секунд. Важно добиться полного смешивания на этом этапе.
  5. Инкубировать при комнатной температуре в течение **30 минут** не накрывая планшет.
  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 зависят от точного исполнения процедуры промывания.
7. Раскапать по **100 мкл** субстрата раствора в каждую лунку.
  8. Инкубировать при комнатной температуре **30 минут**.
  9. Остановить реакцию, добавив **100 мкл** стоп-раствора в каждую лунку.
  10. Считывать оптическую плотность при 450 нм **в течение 10 минут**.

**6.3 Расчет 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.

Стандарт	Е/мл	Опт. единицы (450 нм)
Стандарт 0	0	0,06
Стандарт 1	15	0,23
Стандарт 2	30	0,41
Стандарт 3	60	0,69
Стандарт 4	120	1,22
Стандарт 5	240	2,10

**7. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ**

Настоятельно рекомендуется, что каждая лаборатория установила собственные нормальные и патологические значения. При обследовании явно здоровых взрослых, используя данный набор, были получены следующие значения:

Популяция	5 %	95 %
Мужчины и женщины	0 Е/мл	18,4 Е/мл

Официальное пороговое значение составляет **37 Е/мл**.

**8. ХАРАКТЕРИСТИКИ АНАЛИЗА****8.1 Динамический диапазон анализа**

Граничные нормы анализа 0-240 Е/мл

**8.2 Специфичность антител (перекрестная реактивность)**

Неизвестна.

**8.3 Аналитическая чувствительность**

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

**8.4 Точность****8.4.1 В анализе**

Образец	К-во	Среднее (Е/мл)	КВ (%)
1	20	59,99	5,71

**8.4.2 Между анализами**

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

**8.5 Достоверность****8.5.2 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 анализа.

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 случае если ошибка не выявлена, контактируйте дистрибьютора.

**8.5.2 Восстановление**

(См. в оригинале инструкции).

**8.5.3 Линейность**

(См. в оригинале инструкции).

**9. ОГРАНИЧЕНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ****9.1 Влияющие вещества**

Неправильное обращение с образцами или модификация анализа 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.

Анализ содержит реагенты для минимизирования смешивания с НАМА и гетерофильными антителами. Тем не менее, высокие уровни НАМА или гетерофильных антител могут влиять на результаты анализа.

**9.2 Влияние лекарств**

До сегодняшнего дня не известны вещества (лекарства), что влияют на результаты анализа.

**9.3 «Хук-эффект» высокой дозы**

В настоящем анализе не обнаружен.

**10. ПРАВОВЫЕ АСПЕКТЫ****10.1 Достоверность результатов**

Анализ должен проводиться точно с инструкцией производителя. Также пользователь должен следовать национальным стандартам и законам. Это особенно относится к использованию контролей. Очень важно всегда включать в анализ достаточное количество контролей для оценки достоверности и точности анализа. Результаты анализа достоверные, только если контроли попадают в указанные границы и если все другие параметры соответствуют спецификации.

**10.2 Терапевтические заключения**

Терапевтические заключения никогда не должны основываться только на одних результатах лабораторных исследований, если даже все результаты исследований соответствуют параметрам в п. 10.1. Любой лабораторный результат является только частью общей клинической картины пациента.

**10.3 Ответственность**

Любое изменение набора и/или замена или компонентов разных лотов с одного набора или с другого может негативно влиять на результаты и весь тест. Такая замена не может быть основой для претензий или просьбы о замене набора.

Претензии в случаях неправильного использования набора лабораторией исходя из п. 10.2 тоже не могут являться действительными. Не смотря на это, в случае любой претензии, в производитель обязывается не повышать значения набора. Производитель не несет ответственности за любое повреждение набора, случившееся вследствие его неправильной транспортировки.

**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](http://www.diameb.ua)