



**Набор ИФА  
для определения в сыворотке или плазме  
человека ракового антигена  
CA 15-3**

**Каталог. №** : EIA-3941  
**Количество** : 96  
**Производитель** : DRG (Германия)

*Методика от 08-2006*

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

### 1. ВВЕДЕНИЕ

**DRG CA 15-3 набор** для количественного определения, связанного с раком антигена CA 15-3 в сыворотке и плазме человека.  
**Набор только для *in vitro* диагностики.**

### 2. ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Микротитровальные лунки покрыты моноклональным антителом к антигенному сайту на молекуле CA 15-3. Аликвоту пациента с эндогенной CA 15-3 икубируют в лунке с конъюгатом фермента (анти- CA 15-3 моноклональное антитело конъюгированное пероксидазой хрена). После инкубации несвязавшийся конъюгат вымывают.

Количество связавшегося конъюгата пропорционально концентрации CA 15-3 в образце. При добавлении раствора субстрата, интенсивность образовавшейся окраски пропорциональна концентрации CA 15-3 в образце пациента.

### 3. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Только для использования в *in vitro* 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 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Можно получить раздражение кожи или ожог.
4. Не пипетировать в том 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. Все обозначенные объемы нужно вносить согласно протоколу. Оптимальные результаты анализа получают только при использовании калибровочных пипеток и микропланшетного ридера.
9. Не смешивать реагенты между собой и не использовать реагенты из других наборов. Не рекомендуется также смешивать лунки разных планшет даже при использовании одного набора. Наборы могли перевозиться при разных условиях и их использование и результаты могут немного отличаться.
10. При утилизации реагентов нужно следовать местному законодательству.

### 4. КОМПОНЕНТЫ НАБОРА

#### 4.1 Содержимое набора

1. **Микротитровальная панель** с 96 лунками, покрытыми анти- CA 15-3 моноклональным антителом.
2. **Нулевой Стандарт**, 1 флакон, 3 мл, готов к использованию, содержит 0,010% метилизотиазолину, 0,015% антитела бромонитродиксана в качестве консерванта.
3. **Стандарт (Стандарт 1-4)**, 4 флаконы, 0,5 мл, готов к использованию.  
Концентрации: 25,50,100,200 Е/мл. Содержит 0,010% метилизотиазолину, 0,015% бромонитродиксана в качестве консерванта.
4. **Контроль**, 1 флакон, 0,5 мл, (лиоф.)  
Значения контролей и границы узнайте на этикетке. Содержит 0,3% Проклина 300 в качестве консерванта.
5. **Робочий буфер**, 1 флакон, 30 мл, готов к использованию. Содержит 0,010% метилизотиазолину, 0,015% бромонитродиксана в качестве консерванта.
6. **Ферментный конъюгат**, 1 флакон, 14 мл, готов к использованию.

Анти- CA 15-3 антитело конъюгированное пероксидазой хрена. Содержит 0,01% метилизотиазолину, 0,01% бромонитродиксана, 10 ппм Проклина 300 в качестве консерванта.

7. **Субстрат Раствор**, 1 флакон, 14 мл, готов к использованию. ТМВ.

8. **Стоп-раствор**, 1 флакон, (0,5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 14 мл.

Избегайте контакта из стоп раствором. Можно получить ожоги.

9. **Промывочный раствор**, 1 флакон, 40X концентрат, 30 мл  
ПРИМЕЧАНИЕ: Поставка нулевого стандарта для разбавления образцов возможна при требовании.

#### 4.1.1 Материалы необходимые, но не поставляемые

- Планшетный считыватель откалиброванный на измерение при 450±10 нм
- Откалиброванные прецизионные микропипетки
- Дистиллированная вода.
- Промокательная бумага.

#### 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 пакетике из фольги. Вскрытый набор стабилен до даты срока годности, при условии хранения как описано выше. Не использовать после истечения даты хранения реагентов.

#### 4.2 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.

#### 4.4 Уничтожение набора

Уничтожение набора нужно проводить согласно национальному регулированию.

### 5. ОБРАЗЕЦ

Сыворотка или плазма подходят для анализа. НЕ использовать гемолизированные, иктерические или липемические образцы. ПРИМЕЧАНИЕ: Образцы, содержащие азид натрия не должны использоваться в анализе.

#### 5.1 Сбор образцов

##### Сыворотка:

Собрать кровь через вену, дать свернуться крови и отцентрифугировать её при комнатной температуре. Не центрифугировать пока кровь полностью не сгустится. Кровь пациентов, проходящих антикоагулянтную терапию, нужно сгустить дольше.

##### Плазма:

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

#### 5.2 Хранение образцов

Образцы следует накрыть и хранить до 48 часов при 2 – 8°C перед проведением анализа. Для большего периода хранения образцы нужно заморозить при – 20°C. Растопленные образцы нужно несколько раз перевернуть перед проведением анализа.

#### 5.3 Разведение образцов

При проведении первого анализа, образец сыворотки показывает 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 **10 мкл** каждого из стандартов, образцов, контролей в соответствующие лунки с новыми наконечниками в пипетках.
3. Раскапать **250 мкл** Рабочего Буфера в каждую лунку первого стрипа. Аккуратно перемешивать 10 секунд. **Важно добиться полного смешивания на этом этапе.**
4. Проведите работу как показано в шагах 2 и 3 для следующих стрипов 2-12 пока все стрипы не будут заполнены образцом и рабочим Буфером.

**ПРИМЕЧАНИЕ:** Важно провести пипетирование Стандарта, контролей, образцов и Рабочего Буфера от стрипа к стрипу так как инкубация образца без Рабочего Буфера может привести к завышениям результатов значения CA 15-3.

5. Инкубировать 60 минут при комнатной температуре не накрывая планшет.
6. Резко встряхните содержимое лунок. Промойте лунки 3 раза разбавленным Промывочным Раствором (400 мкл на лунку). Постучите резко лунками по абсорбирующей бумаге для удаления остатков капель.

**Важное примечание:** На чувствительность и точность анализа заметно влияет точное исполнение промывочной процедуры.

7. Внесите **100 мкл** Энзима Конъюгата в каждую лунку.
8. Инкубировать при комнатной температуре **30 минут**.
9. Резко встряхните содержимое лунок. Промойте лунки 3 раза разбавленным Промывочным Раствором (400 мкл на лунку). Постучите резко лунками по абсорбирующей бумаге для удаления остатков капель.
10. Внесите **100 мкл** Раствора Субстрата в каждую лунку.
11. Инкубировать при комнатной температуре **30 минут**.
12. Остановите ферментную реакцию добавлением **100 мкл Стоп раствора** в каждую лунку.
13. Считывать оптическую плотность при 450 нм **в течение 10 минут**.

### 6.3 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 на вертикальной оси (y) и концентрацией на горизонтальной оси (x).
3. Используя средние значения абсорбции для каждого образца, определить соответствующую концентрацию CA 15-3 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.

## 7. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Для каждой лаборатории рекомендуется определять свои нормальные и патологические значения.

Рекомендуется чтобы каждая лаборатория установила свои собственные граничные значения.

При изучении здоровых взрослых и при использовании этого набора были получены следующие значения:

Население	5% процентиль	95% процентиль
Мужчины и женщины	8,3 Е/мл	33,8 Е/мл

Результаты соответствуют напечатанным значениям.

Стандарт	Оптические единицы (450 нм)
Нулевой стандарт (0 Е/мл)	0.03
Стандарт 1 (25 Е/мл)	0.83
Стандарт 2 (50 Е/мл)	1.24
Стандарт 3 (100 Е/мл)	1.60
Стандарт 4 (200 Е/мл)	2.05

## 8. ХАРАКТЕРИСТИКА ТЕСТА

### 8.1 Динамический диапазон анализа

Граничные нормы анализа 0-200 Е/мл

### 8.2 Специфичность антител (перекрестная реактивность)

Перекрестной реактивности с набором не наблюдалось.

### 8.3 Аналитическая чувствительность

Аналитическая чувствительность была определена как среднее + два стандартных отклонения 20 дублированных анализов Нулевого Стандарта и становит 0,905 Е/мл

### 8.4 Точность

#### Внутри анализа

Образец	К-во	Среднее (Е/мл)	КВ (%)
1	20	18,07	3,78
2	20	28,59	5,53

#### Между анализами

Образец	К-во	Среднее (Е/мл)	КВ (%)
1	12	19,26	7,86
2	12	29,85	5,20

### 8.5 Точность

#### 8.5.1 Контроль качества

Рекомендуется использовать контрольные образцы согласно регулированию. Контрольные образцы нужно использовать каждый день для подтверждения результатов. Контроли 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.

#### 8.5.2 Восстановление

См. оригинал инструкции.

#### 8.5.3 Линейность

См. оригинал инструкции.

## 9. ОГРАНИЧЕНИЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

### 9.1 Влияющие вещества

Неправильное обращение с образцами или модификация теста может влиять на результаты.

Гемоглобин (до 4 мг/мл), билирубин (до 0,5 мг/мл) и триглицериды (до 30 мг/мл) не влияют на результаты анализа.

Тест содержит реагенты для минимизирования смешения 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»

До концентрации CA 15-3 3000 Е/мл «хук-эффекта» не наблюдалось.

## 11. ЮРИДИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

### 11.1 Достоверность результатов

Тест должен проводиться согласно инструкции производителя. Более того, потребитель должен точно соблюдать все правила профессиональной лабораторной практики или другие соответствующие национальные стандарты и/или законы. Это особенно относится к контрольным реагентам. В процессе проведения анализа важно включать достаточное количество контролей для оценки точности теста. Результаты теста действительны, только если они отвечают нормам и если все параметры теста отвечают спецификации теста. В случае любого сомнения свяжитесь с производителем.

### 11.2 Терапевтические заключения

Терапевтические заключения не должны базироваться только на результатах лабораторных исследований, даже если они считаются достоверными согласно п. 11.1. Любой результат является только частью общей клинической картины пациента.

Диагностика инфекционного заболевания не может устанавливаться только на основе единственного результата анализа. Точная диагностика должна учитывать всю клиническую картину пациента (историю, симптомы, сывороточные данные). Только в случаях, когда лабораторные результаты совпадают с нормами и общей картиной пациента, можно делать терапевтическое заключение.

Только результаты этого теста не могут быть основой для терапевтического заключения.

### 11.3 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. 11.2 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.

## ЛИТЕРАТУРА

(См. в оригинале инструкции).

### ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА:

**ЧМП «ДИАМЕБ»**  
Ул. Черновола, 97, г. Ивано-Франковск, 76005  
Тел.: (0342) 775122  
Тел/факс: (0342) 775612  
E-mail: [info@diameb.ua](mailto:info@diameb.ua)  
[www.diameb.ua](http://www.diameb.ua)