

TM E-4100 Раково-эмбриональный антиген (РЭА)

Набор реагентов для ИФА для количественного определения РЭА в сыворотке человека.

Только для in-vitro диагностики.

Реагенты

TM E-4131 Микропланшет:

12 x 8, разборный, покрытый моноклональными анти-РЭА антителами.

Стандарты

Каталожный номер	Стандарт	Концентрация нг/мл	Объём/флаконе
TM E-4101	Стандарт 0	0	1,0 мл
TM E-4102	Стандарт 1	5	1,0 мл
TM E-4103	Стандарт 2	10	1,0 мл
TM E-4104	Стандарт 3	25	1,0 мл
TM E-4105	Стандарт 4	50	1,0 мл
TM E-4106	Стандарт 5	100	1,0 мл

TM E-4151 Контроль

Лиофилизированный, 1 мл, см. приготовление реагентов.

Концентрация указана на этикетке флакона, содержит BND/MIT в качестве консерванта.

TM E-4140 Ферментный конъюгат

1 флакон, 14 мл, готов к использованию, конъюгат моноклональных мышинных анти-РЭА антител - пероксидаза хрена (HRP).

FR E-0055 Субстрат

1 флакон, 14 мл, готов к использованию, содержит тетраметилбензидин (ТМБ)

FR E-0080 Стоп-раствор

1 флакон, 14 мл, готов к использованию, содержит 0,5 М серной кислоты.

Избегайте контакта, может вызвать ожоги и раздражение кожи.

FR E-0030 Концентрированный промывочный раствор x 40

1 флакон, 30 мл, концентрат x40, см. приготовление реагентов.

Необходимые материалы и оборудование, не входящие в комплект:

1. Микропланшетный ридер.
2. Пипетки со сменными наконечниками на 25 и 100 мкл.
3. Абсорбирующая бумага
4. Дистиллированная вода

Хранение и стабильность:

Хранение: при 2-8 °С, в течении всего срока годности, указанного на этикетке.

Не используйте реагенты после истечения срока годности.

Открытые реагенты должны храниться при температуре 2-8 °С. Неиспользованные стрипы должны храниться в плотно закрытой фольгированной упаковке при температуре 2-8 °С.

При соблюдении условий хранения, открытые реагенты могут быть использованы в течении 2 месяцев.

Приготовление реагентов:

Перед использованием приведите все реагенты и необходимое количество стрипов к комнатной температуре.

Контроль:

Восстановите лиофилизированный контроль, добавив 1 мл дистиллированной воды, перемешайте, и дайте постоять минимум 10 минут.

Внимание: при длительном использовании восстановленный контроль или аликвоты должны храниться замороженными при температуре - 20°C.

Промывочный буфер:

Разведите концентрат промывочного буфера, добавив к 30 мл концентрата 1 170 мл дистиллированной воды (до конечного объёма 1 200 мл).

Разведенный промывочный буфер стабилен 2 недели при комнатной температуре.

Подготовка образцов:

Используйте для данного анализа образцы сыворотки.

Не используйте липемические, желтушные и гемолитические образцы.

Забор проб.

Произведите венепункцию, дождитесь сворачивания крови. Отделите сыворотку центрифугированием при комнатной температуре. Не используйте не до конца свернувшиеся образцы крови. У пациентов, получающих антикоагулянты, время свертывания может быть увеличено.

Хранение: до 48 часов при температуре 2-8°C.

до 6 месяцев при – 20 °С (возможно только однократное замораживание)

Размораживайте образцы непосредственно перед процедурой анализа.

Разведение:

Если в результате анализа установлена, что исследуемые образцы содержат более высокие концентрации, чем Стандарт 5, то возможно разведение образцов Стандартом 0 и повторное исследование.

Пример разведения:

а) Разведение 1:10 – 10 мкл сыворотки + 90 мкл Стандарт 0 (тщательно перемешать)

б) Разведение 1:100 – 10 мкл разведения а) + 90 мкл Стандарт 0 (тщательно перемешать)

Процедура анализа:

Общая информация:

- Все реагенты и образцы перед применением должны достичь комнатной температуры. Все реагенты должны быть перемешаны без образования пены.

- После начала процедуры анализа все этапы должны быть завершены без перерыва.

- Используйте новые одноразовые пластиковые наконечники пипеток для каждого стандарта, контроля или образца.

- ОП зависит от температуры и времени инкубации. Перед началом анализа необходимо подготовить все реагенты, снять крышки, закрепить стрипы в штативе и т.п. Это позволит обеспечить равные интервалы при пипетировании на разных этапах анализа.

- как правило, ферментная реакция прямо пропорциональна времени и температуре.

Исследование всех стандартов, образцов и контролей должны быть начаты одновременно и производиться в дублях, для создания одинаковых условий. Для каждого исследования должна строиться своя калибровочная кривая.

1. Закрепите необходимое количество стрипов в штативе.
2. Добавьте 50 мкл каждого стандарта, контроля и образца в соответствующие лунки.
3. Добавьте 100 мкл Конъюгата в каждую лунку.
4. Тщательно перемешайте в течение 10 секунд. Очень важно на этом этапе достичь полного смешивания.
5. Инкубируйте 60 минут при комнатной температуре (без закрытия планшета)
6. Резко вытряхните содержимое лунок.
Промойте каждую лунку 3 раза разведенным промывочным раствором (по 400 мкл на каждую лунку). Для удаления оставшейся влаги резко переверните планшет и прижмите к абсорбирующей бумаге.
Важно: Чувствительность и точность данного исследования зависит от правильного выполнения процедуры промывания.
7. Добавьте 100 мкл Субстрата в каждую лунку.
8. Инкубируйте 30 минут при комнатной температуре.
9. Для остановки ферментной реакции добавьте 100 мкл Стоп-раствора.
10. Считайте ОП при 450 ± 10 нм в течение 10 минут после добавления Стоп-раствора.

Результаты:

1. Определите среднюю ОП для каждого стандарта, контроля и образца.
2. Нарисуйте калибровочную кривую на логарифмической бумаге со средней оптической плотностью на Y-оси и концентрацией стандарта на X-оси
3. Определите значение концентрации РЭА непосредственно с калибровочной кривой. (или определите при помощи автоматического метода (4-х парам. логистика)
4. Образцы с концентрацией больше чем 100 нг/мл, должны быть разбавлены. При подсчете результатов необходимо учитывать фактор разведения.

Типичная таблица (не используйте для расчета)

Стандарт	ОП нг/мл
Стандарт 0 (0 нг/мл)	0.06
Стандарт 1 (5 нг/мл)	0.20
Стандарт 2 (10 нг/мл)	0.34
Стандарт 3 (25 нг/мл)	0.62
Стандарт 4 (50 нг/мл)	1.12
Стандарт 5 (100 нг/мл)	2.04

Ожидаемые значения:

Рекомендуется, чтобы каждая лаборатория создавала свои данные нормальных и аномальных значений.

Согласно литературным данным: 5 нг / мл у некурящих

10 нг / мл у курильщиков.

Определяемый диапазон: 0 – 100 нг/мл.

Чувствительность: < 0.596 нг/мл.