

TM E-4300 Клеточный раковый антиген СА 125

Набор реагентов для ИФА для количественного определения СА 125 в сыворотке и плазме человека.

Только для in-vitro диагностики.

#### **Компоненты набора**

1. Микропланшет:  
96-луночный (12X8), стриповый, разборный микролуночный планшет, покрытый мышинными моноклональными анти- СА 125 антителами.
2. Нулевой стандарт: 1 флакон, 3 мл, готов к использованию.  
содержит 0,010% methylisothiazolone, 0,015% bromonitrodioxane в качестве консерванта.
3. Стандарты (1-5), пять флаконов, 0,5 мл, готовы к использованию.  
Содержат: 15, 30, 80, 200, 500 ед. / мл.  
содержит 0,010% methylisothiazolone, 0,015% bromonitrodioxane в качестве консерванта.
4. Контроль: 1 флакон (лиофилизированный), 0,5 мл, готов к использованию.  
Значения и диапазон указаны на этикетке.  
Содержит 0,3% проклин в качестве консерванта.
5. Концентрированный ферментный конъюгат x10, 1 флакон, 0,75 мл.  
анти- СА 125 антитела (мышинные моноклональные) конъюгированные с пероксидазой хрена.  
Содержит 0,010% methylisothiazolone, 0,010% bromonitrodioxane в качестве консерванта.
6. Раствор для разведения конъюгата, 1 флакон, 7 мл,  
содержит 0,3% проклин в качестве консерванта.
7. Раствор ТМБ-субстрата, 1 флакон, 14 мл, готов к использованию.
8. Стоп-раствор, 1 флакон, 14 мл, готов к использованию  
содержит серную кислоту.
9. Концентрированный промывочный раствор x40, 1 флакон, 30 мл.

#### **Оборудование и материалы, необходимые, но не поставляемые:**

- микропланшетный ридер  $450 \pm 10$  нм
- откалиброванные прецизионные микропипетки с наконечниками
- абсорбирующая бумага
- дистиллированная вода

#### **Хранение и стабильность набора**

Храните реагенты при 2-8 °С. Закрытые реагенты сохраняют свою активность в течение всего срока годности.

Открытые реагенты храните при температуре 2-8 °С. Микронуочный планшет храните в закрытом фольгированном пакете.

#### **Подготовка к анализу.**

Перед использованием все реагенты должны достичь комнатной температуры.

#### **Контроль.**

Разведите контроль 0,5 мл дистиллированной воды и дайте постоять 10 минут.

Аккуратно перемешайте контроль непосредственно перед использованием.

Примечание: приготовленный контроль необходимо хранить замороженным при температуре -20 °С.

Промывочный раствор.

Разведите 30 мл концентрированного промывочного раствора с 1170 мл деионизированной воды до конечного объема 1200 мл.

Приготовленный промывочный раствор стабилен в течении 2 недель при комнатной температуре.

Ферментный конъюгат

Разведите концентрированный ферментный конъюгат в соотношении 1:10 раствором для разведения конъюгата.

Стабильность приготовленного раствора конъюгата: 1 неделя при 2-8 °С в закрытом контейнере.

Например: разведите 700 мкл концентрированного конъюгата с 6,3 мл раствора для разведения конъюгата. Если будет использоваться весь планшет, то разведите 600 мкл концентрированного конъюгата с 5,4 мл раствора для разведения конъюгата до общего объема 6 мл.

| Количество стрипов | Концентрированный конъюгат x10 (мкл) | Раствор для разведения конъюгата (мл) |
|--------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|
| 1                  | 50                                   | 0,45                                  |
| 2                  | 100                                  | 0,9                                   |
| 3                  | 150                                  | 1,35                                  |
| 4                  | 200                                  | 1,8                                   |
| 5                  | 250                                  | 2,25                                  |
| 6                  | 300                                  | 2,7                                   |
| 7                  | 350                                  | 3,15                                  |
| 8                  | 400                                  | 3,6                                   |
| 9                  | 450                                  | 4,05                                  |
| 10                 | 500                                  | 4,5                                   |
| 11                 | 550                                  | 4,95                                  |
| 12                 | 600                                  | 5,4                                   |

Образцы:

Плазма или сыворотка (гепарин- или EDTA-плазма).

Не используйте гемолитические, желтушные или липэмические образцы.

Внимание: не используйте образцы содержащие азид натрия.

Разведение образцов:

Если в результате исследования образцы содержат более высокие концентрации, чем стандарты, то их можно развести с нулевым стандартом в соотношении 1:10 или 1:100 и повторить процедуру анализа. При расчете результатов нужно будет учитывать коэффициент разведения.

### **Процедура анализа**

#### **Общая информация:**

- перед применением все реагенты и образцы должны достичь комнатной температуры. Все реагенты необходимо аккуратно перемешать (без образования пены).
- после начала процедуры анализа все этапы должны быть завершены без перерыва.
- используйте новые одноразовые наконечники пипеток для стандартов, контроля и образца.
- Абсорбция является функцией от времени инкубации и температуры. Перед началом анализа, рекомендуется подготовить все реагенты: снять крышки, все необходимые стрипы закрепить в держателе и т.д. Это позволит обеспечить равные промежутки времени на каждом этапе без перерыва.
- Как правило, ферментная реакция носит линейный характер и пропорциональна от времени и температуры.

Анализ:

1. Закрепите необходимое количество стрипов в держателе.
2. Добавьте по 50 мкл стандартов, контроля и образцов сыворотки в соответствующие лунки.
3. Добавьте 50 мкл подготовленного раствора ферментного конъюгата в каждую лунку.
4. Тщательно перемешайте в течение 10 секунд. Очень важно достичь полного смешивания на этом этапе
5. Инкубируйте 30 минут при комнатной температуре без покрытия пластины.
6. Резко вытряхните содержимое лунок  
Промойте лунки 3 раза разведенным промывочным раствором (400 мкл на лунку). Быстро переверните ячейки на абсорбирующую бумагу, чтобы удалить оставшиеся капли.

Важно:

Чувствительность и точность данного анализа зависит от правильного выполнения процедуры промывания!

7. Добавьте 100 мкл раствора ТМБ-субстрата в каждую лунку.
8. Инкубируйте 30 минут при комнатной температуре.
9. Для остановки ферментной реакции добавьте 100 мкл Стоп-раствора в каждую лунку.
10. Считайте ОП при  $450 \pm 10$  нм на микропланшетном ридере в течение 10 минут после добавления Стоп-раствора.

#### **Расчет результатов.**

1. Рассчитайте средние значения абсорбции для каждого набора стандартов, контролей и образцов
2. Постройте стандартную кривую со значением абсорбции на вертикальной (Y) оси и концентрацией стандарта на горизонтальной (X) оси, указав на ней средние величины абсорбции, полученные от каждого стандарта.
3. Используя стандартную кривую и средние значения абсорбции образца, определите соответствующую концентрацию образца (если позволяет оборудование: используйте автоматический метод расчета результата на 4 параметра)

4. Концентрации образцов можно считать непосредственно со стандартной кривой. Если концентрация образца выше, чем верхний предел обнаружения, то он должен быть разбавлен нулевым стандартом. При этом для расчета концентрации должен быть принят во внимание коэффициент разведения.

Ниже приведен типичный пример стандартной кривой СА 125 ИФА

| Стандарт                    | Оптическая плотность при 450 нм |
|-----------------------------|---------------------------------|
| Нулевой стандарт (0 ед./мл) | 0.06                            |
| Стандарт 1 (15 ед / мл)     | 0.12                            |
| Стандарт 2 (30 ед / мл)     | 0.20                            |
| Стандарт 3 (80 ед / мл)     | 0.38                            |
| Стандарт 4 (200 ЕД / мл)    | 0.88                            |
| Стандарт 5 (500 ЕД / мл)    | 2.00                            |

**ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ:**

Настоятельно рекомендуется, чтобы каждая лаборатория определила свои границы нормальных и аномальных значений.

5 – 95%

Здоровые (мужчины и женщины) < 29,6 Ед / мл

Это соответствует значению cut off, указанному в литературе 35 ед / мл.

Определяемый диапазон: 0 - 500 Ед / мл.

Чувствительность: 3,327 ед / мл