

TM E-4500 Клеточный раковый антиген CA 19-9

Набор реагентов для ИФА для количественного определения СА 19-9 в сыворотке и плазме человека.

Только для in-vitro диагностики.

Компоненты набора

1. Микропланшет:
96-луночный (12X8), стриповый, разборный микролуночный планшет, покрытый моноклональными анти- СА 19-9 антителами.
2. Нулевой стандарт: 1 флакон, 3 мл, готов к использованию.
3. Стандарты (1-5), пять флаконов, 0,5 мл, готовы к использованию.
Содержат: 15, 30, 60, 120, 240 ед. / мл.
4. Контроли: 2 флакона (лиофил.), 0,5 мл, готов к использованию.
Значения и диапазон указаны на этикетке.
Содержат 0,3% проклин в качестве консерванта.
5. Буфер для анализа: 1 флакон, 7 мл, готов к использованию.
содержит консервант не содержащий ртути.
6. Ферментный конъюгат , 1 флакон, 14 мл, готов к использованию.
анти- СА 19-9 антитела конъюгированные с пероксидазой хрена.
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 0,5 М серной кислоты.
Избегайте контакта со стоп-раствором. Это может вызвать раздражение кожи и ожоги.
9. Концентрированный промывочный раствор x40, 1 флакон, 30 мл.

Оборудование и материалы, необходимые, но не поставляемые:

- микропланшетный ридер 450 ± 10 нм
- откалиброванные прецизионные микропипетки с наконечниками
- абсорбирующая бумага
- дистиллированная вода
- таймер

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. Микролуночный 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 объёма 1200 мл.

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

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.

Например: разведение а) 1:10 10 мкл сыворотки + 90 мкл нулевого стандарта (тщательно перемешайте)

б) разведение 1:100 10 мкл разведения 1:10 как в примере а) + 90 мкл нулевого стандарта (тщательно перемешайте)

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:

Исследование всех стандартов, образцов и контроля должны проводиться одновременно в дублях, для создания одинаковых условий тестирования.

Стандартная кривая должна строиться по результатам каждого исследования.

1. Закрепите необходимое количество стрипов в держателе.
2. Добавьте по 50 мкл стандартов, контроля и образцов сыворотки в соответствующие лунки.
3. Добавьте 50 мкл Буфера для анализа в каждую лунку.
4. Инкубируйте 60 минут при комнатной температуре.
5. Резко встряхните содержимое лунок
Промойте лунки 4 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!
6. Добавьте 100 мкл ферментного конъюгата в каждую лунку.
7. Тщательно перемешайте в течение 10 секунд. Очень важно достичь полного смешивания на этом этапе
8. Инкубируйте 60 минут при комнатной температуре.
9. Резко встряхните содержимое лунок
Промойте лунки 3 раза разведенным промывочным раствором (400 мкл на лунку). Быстро переверните ячейки на абсорбирующую бумагу, чтобы удалить оставшиеся капли.
10. Добавьте 100 мкл раствора ТМБ-субстрата в каждую лунку.
11. Инкубируйте 30 минут при комнатной температуре.
12. Для остановки ферментной реакции добавьте 100 мкл Стоп-раствора в каждую лунку.
13. Считайте ОП при 450 ± 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 считывать непосредственно со стандартной кривой. Если концентрация образца выше, чем верхний предел обнаружения, то он должен быть разбавлен нулевым стандартом или записывается как концентрация > 240 ЕД / мл При этом для расчета концентрации должен быть принят во внимание коэффициент разведения.

Ниже приведен типичный пример стандартной кривой СА 19-9 ИФА

Стандарт	Оптическая плотность при 450 нм
Нулевой стандарт (0 ед./мл)	0.04
Стандарт 1 (15 ед / мл)	0.26
Стандарт 2 (30 ед / мл)	0.44
Стандарт 3 (60 ед / мл)	0.78

Стандарт 4 (120 ЕД / мл)	1.30
Стандарт 5 (240 ЕД / мл)	1.99

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ:

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

Группа	N	5%	95%
Мужчины	32	0,685	20,84
Женщины	39	1,3	13,38

Определяемый диапазон: 0,2 - 240 ЕД / мл.

Чувствительность: 0,20 Ед / мл.