

**AFP
АЛФА-ФЕТОПРОТЕИН****ИН ВИТРО ЕНЗИМЕН ИМУНОЛОГИЧЕН ТЕСТ ЗА КОЛИЧЕСТВЕННО ИЗСЛЕДВАНЕ НА
РАКОВИЯ АНТИГЕН АЛФА-ФЕТОПРОТЕИН (AFP) В СЕРУМ.****ВЪВЕДЕНИЕ**

AFP е гликопротеин с молекулно тегло приблизително 70 000 далтона. Той се произвежда по време на феталното и неонаталното развитие от черния дроб и в малки количества от гастроинтестиналния тракт. След раждането серумните концентрации на AFP бързо намаляват и до втората година от живота и впоследствие в серума се откриват съвсем минимални остатъчни количества.

Повишение на серумните нива на AFP до аномално високи стойности се наблюдава при няколко злокачествени заболявания, най-значимо при несеминоматозен рак на тестисите и първичен хепатоклетъчен карцином. В случаите на несеминоматозен рак на тестисите се наблюдава директна връзка между наличието на повишени нива на AFP и напредналостта на заболяването. Повишени нива на AFP се наблюдават и при пациенти с диагноза семинома с несеминоматозни елементи, но не и при пациенти с чиста семинома.

Повишени серумни концентрации на AFP се срещат и при пациенти с други неракови заболявания, включително атаксия телангиectазия, наследствена тироксинемия, неонатална хипербилирубинемия, остър вирусен хепатит и цироза. Повишени серумни нива на AFP понякога се наблюдават и при бременни жени. Следователно измерването на AFP не се препоръчва като процедура за ранно откриване на рак в общото население.

ПРИНЦИП НА МЕТОДА

Концентрацията на AFP е право пропорционална на наситеността на получения при реакцията цвят на пробата. Абсорбцията се измерва спектрофотометрично при 450 nm.

РЕАГЕНТИ

1. Anti-AFP coated microtiter plate, 96 wells
2. Zero Buffer, 13 ml
3. Reference Standards: 0, 5, 20, 50, 150 and 300 ng/ml лиофилизирани
4. Enzyme Conjugate Reagent, 18 ml
5. TMB Reagent, готов, 11 ml
6. Stop Solution (1N HCl), 11 ml.

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ НА ТЕСТА

Неотворените тестове трябва да се съхраняват при 2-8°C в затворената си опаковка с торбички поглъщащи влагата, за да се сведе до минимум излагането на влажен въздух. Отворените тестове остават стабилни до изтичане на срока на годност, ако се съхраняват както е описано по-горе. Тестовите могат да се използват на апарат с ширина на честотната лента 10 nm или по-малка, оптична плътност 0-2 OD или повече при 450 nm дължина на вълната.

ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

1. Внимателно: Този тест съдържа човешки материал. Източникът на този материал е тестван отрицателен за HbsAg, HIV1/2 и HCV, но никой наличен метод не може да гарантира напълно отсъствието им. Следователно третирайте всички кръвни продукти и проби като потенциално заразни. Спазвайте националните разпоредби за работа с биологично опасни материали.
2. Не използвайте реактивите след изтичане на срока на годност и не смесвайте компоненти от кутии с различен партиден номер.
3. Веднага поставйте капачките и не разменяйте капачките на различни шишенца.
4. Не пипетирайте с уста.
5. Избягвайте контакт с 1N HCl – може да причини дразнене или изгаряне на кожата. В случай на контакт измийте обилно с вода и потърсете лекарска помощ, ако дразненето продължи.
6. Само за ин витро диагностична употреба.

СЪБИРАНЕ И СЪХРАНЕНИЕ НА ПРОБИТЕ

Трябва да се използва серум, приготвен от пълна кръв, посредством стандартните лабораторни процедури. Тестът може да се използва само със серум, в който няма добавки. Не използвайте силно хемолизирани, липемични или мътни проби. Пробите могат да се съхраняват при 2-8°C до 24 часа. За по-дълги периоди на съхранение трябва да се замразят до -20°C. Проби, които са били замразени или са мътни трябва да се центрофугират преди да се тестват.

ПРИГОТВЯНЕ НА РЕАГЕНТИТЕ

1. Всички реагенти трябва да се поставят при стайна температура преди употреба.
2. Разтворете всеки лиофилизиран стандарт с 1.0 ml дестилирана вода. Изчакайте поне 20 минути след разтваряне на материала. Разбъркайте леко. Разтворените стандарти трябва да се съхраняват при 2-8°C и са стабилни до 30 дни.

БЕЛЕЖКИ ПО ПРОЦЕДУРАТА

1. Пипетиране: Пипетирането на всички стандарти, проби и контроли трябва да се извърши в рамките на 3 минути.
2. Всички стандарти, проби и контроли, които се пускат в дублиращо измерване трябва да се пускат едновременно, за да са поставени при еднакви условия.

3. Препоръчва се всички ямки да бъдат отчетени до 15 минути след досбяването на Stop Solution.

ПРОЦЕДУРА

1. Поставете желан брой ямки в носача.
2. Пипетирайте 20 µl от стандартите, пробите и контролите в съответните ямки.
3. Пипетирайте 100 µl от Zero Buffer във всяка ямка.
4. Разбъркайте добре в продължение на 30 секунди. Доброто размесване е много важно.
5. Инкубирайте при стайна температура (18-25°C) 30 минути.
6. Отстранете инкубационната смес като изпразните плаката с ямките в контейнер за отпадъци.
7. Измийте ямките с дестилирана вода 5 пъти, като преди всеки следващ път изпразвате ямките.
8. Изступайте рязко ямките върху попиваща хартия или салфетки, за да се отстранят останалите капки вода.
9. Пипетирайте 150 µl от Enzyme Conjugate Reagent във всяка ямка. Разбъркайте леко в продължение на 5 секунди.
10. Инкубирайте при стайна температура (18-25°C) 30 минути.
11. Отстранете инкубационната смес като изпразните плаката с ямките в контейнер за отпадъци.
12. Измийте ямките с дестилирана или дейонизирана вода 5 пъти, като преди всеки следващ път изпразвате ямките.
13. Изступайте рязко ямките върху попиваща хартия или салфетки, за да се отстранят останалите капки вода.
14. Пипетирайте 100 µl TMB реагент във всяка ямка. Леко разбъркайте 5 секунди.
15. Инкубирайте при стайна температура 20 минути.
16. Спрете реакцията като добавите 100 µl Stop Solution във всяка ямка.
17. Леко разбъркайте 30 секунди. Много е важно синият цвят напълно да се превърне в жълт.
18. Отчетете абсорбцията при 450 nm с ELISA апарат до 15 минути.

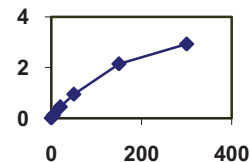
ИЗЧИСЛЕНИЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

1. Изчислете средната абсорбция (A_{450}) за всеки комплект стандарти, контроли и проби на пациенти.
2. Конструирайте стандартна крива въз основа на абсорбцията на всеки реферетен стандарт.
3. Използвайте средната стойност на абсорбцията за всяка проба, за да определите съответната концентрация на AFP в ng/ml от стандартната крива.

ПРИМЕР ЗА СТАНДАРТНА КРИВА

Дадената като пример стандартна крива може да служи само като илюстрация и не трябва да се използва при изчисление на неизвестни проби. Всяка лаборатория трябва да получи свои собствени данни и стандартна крива.

AFP (ng/ml)	Абсорбция (450nm)
0	0.012
5	0.127
20	0.455
50	0.952
150	2.150
300	2.932

**ОЧАКВАНИ СТОЙНОСТИ И ЧУВСТВИТЕЛНОСТ НА ТЕСТА**

97% от здравите хора имат нива на AFP < 8.5 ng/ml

AFP стойности между 100 и 350 ng/ml подсказват диагноза хепатоклетъчен карцином, а нива над 350 ng/ml обикновено говорят за наличие на болестта.

Минималната концентрация, която този тест може да открие е 2.0 ng/ml.

ОГРАНИЧЕНИЯ НА ТЕСТА

1. Надеждни и възпроизводими резултати ще се получат ако описаната процедура е напълно разбрана и правилно изпълнена.
2. Този продукт не е предназначен за изчисляване на риска от тримомия 21.
3. Процедурата с миенето е от критично значение. Недостатъчно доброто измиване ще повлияе на точността и ще доведе до фалшиво високи стойности на абсорбцията.
4. Серумни проби, които са силно липемични, силно хемолизирани или мътни не трябва да се тестват с тази процедура.
5. Резултатите от теста трябва да се използват само като една съставна част от диагностичната процедура, при която лекарят трябва да вземе пред вид цялата налична информация.

Rev:030104

Производител: BioCheck Inc., 323 Vintage Park Drive, Foster City, CA94404, USA
Вносител: "ЕТГ" ЕООД, София 1504, ул. Тракия №15, офис 1