

**СА 125****ИН ВИТРО ЕНЗИМЕН ИМУНОЛОГИЧЕН ТЕСТ ЗА КОЛИЧЕСТВЕНО ИЗСЛЕДВАНЕ НА КОНЦЕНТРАЦИЯТА НА АНТИГЕН СА 125 (РАК НА ЯЙЧНИЦИТЕ) В СЕРУМ.****ПРИНЦИП НА МЕТОДА**

Концентрацията на СА 125 е право пропорционална на наситеността на получения при реакцията цвят на пробата. Абсорбцията се измерва спектрофотометрично при 450 nm.

РЕАГЕНТИ

1. Anti-CA 125 coated microtiter plate, 96 wells
2. Enzyme Conjugate Reagent, 13 ml
3. CA 125 Reference Standards: 0, 15, 50, 100, 200 and 400 U/ml, 1ml всеки, готови за употреба
4. Wash Buffer Concentrate (20X), 50ml
5. TMB Reagent, 11 ml
6. Stop Solution (1N HCl), 11 ml.

ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

1. Внимание: 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.

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.

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.

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 досавянето на Stop Solution.

ПРИГОТВЯНЕ НА РЕАГЕНТИТЕ

1. Всички реагенти трябва да се поставят при стайна температура преди употреба.
2. Смесете 50 ml от Wash Buffer Concentrate (20x) и 950 ml дестилирана вода, за да получите 1000 ml Wash Buffer (1x). Този миеш буфер е стабилен 1 месец при 2-8°C. Преди употреба разклатете добре. Ако са се образували кристали, те трябва да се разтворят на стайна температура преди да се направи разреждането.
3. Завъртете леко шишенцата за да се размесят. Не предизвиквайте разпенване.

ПРОЦЕДУРА

1. Поставете желаните брой ямки в носача. Пипетирайте 100µl от стандартите, пробите и контролите в съответните ямки.
2. Пипетирайте 100µl от Enzyme Conjugate Reagent във всяка ямка.
3. Разбъркайте леко 30 секунди. Много е важно доброто размесване на този етап.
4. Инкубирайте при 37°C 90 минути.
5. Отстранете инкубационната смес като изпразните плаката с ямките в контейнер за отпадъци.
6. Измийте ямките с Wash Buffer (1x) 5 пъти, като преди всеки следващ път изпразвате ямките.
7. Изступайте рязко ямките върху попиваща хартия или салфетки, за да се отстранят останалите капки вода.
8. Пипетирайте 100µl от TMB Reagent във всяка ямка. Леко разбъркайте 10 секунди. Инкубирайте при стайна температура на тъмно 20 минути.
9. Спрете реакцията като добавите 100µl Stop Solution във всяка ямка.
10. Леко разбъркайте 30 секунди. Много е важно синият цвят напълно да се превърне в жълт.
11. 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 и концентрацията на всеки референтен стандарт.
3. Използвайте средната стойност на абсорбцията за всяка проба, за да определите съответната концентрация на СА 125 в U/ml от стандартната крива.
4. Стойностите, получени от разреждени проби трябва да се конвертират като се умножат по съответния фактор на разреждане.

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.

СА 125 (U/ml)	Абсорбция (450nm)
0	0.071
15	0.205
50	0.551
100	0.936
200	1.746
400	2.824

ОЧАКВАНИ СТОЙНОСТИ И ЧУВСТВИТЕЛНОСТ НА ТЕСТА

Здрави жени < 35 U/ml

Минималната концентрация на СА 125, която този тест може да открие, е 5 U/ml.

Всяка лаборатория трябва да установи свой собствен диапазон от очаквани стойности.

ОГРАНИЧЕНИЯ НА ТЕСТА

1. Надеждни и възпроизводими резултати ще се получат ако описаната процедура е напълно разбрана и правилно изпълнена.
2. Процедурата с миенето е от критично значение. Недостатъчно доброто измиване ще повлияе на точността и ще доведе до фалшиво високи стойности на абсорбцията.
3. Серумни проби, които са силно липемични, силно хемолизирани или мътни не трябва да се тестват с тази процедура.
4. 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.

Re: 012609

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