

**СЕА
КАРЦИНОЕМБРИОНЕН АНТИГЕН**

ИН ВИТРО ЕНЗИМЕН ИМУНОЛОГИЧЕН ТЕСТ ЗА КОЛИЧЕСТВЕННО ИЗСЛЕДВАНЕ НА КОНЦЕНТРАЦИЯТА НА КАРЦИНОЕМБРИОНЕН АНТИГЕН (СЕА) В СЕРУМ.

ВЪВЕДЕНИЕ

Карциноембрионният антиген (СЕА) е клетъчно-повърхностен гликопротеин. През 1969 бе съобщено, че плазменият СЕА е повишен при 35 от 36 пациенти с аденокарцином на дебелото черво и че концентрациите на СЕА се понижават след успешно проведено оперативно лечение. Нормални нива се наблюдават при всички пациенти с други форми на рак или доброкачествени заболявания. Проучванията в последствие не потвърдиха тези първоначални открития и сега се приема, че повишени нива на СЕА се откриват при множество форми на рак. Повишени нива на СЕА се наблюдават при повече от 30% от пациентите с рак на белите дробове, черния дроб, панкреаса, гърдата, дебелото черво, главата или врата, пикочния мехур, шийката на матката и простатата. Повишените плазмени нива са съотносими с етапа и степента на заболяването, нивото на диференциация на тумора и наличието на метастази. СЕА се открива и в нормални тъкани.

ПРИНЦИП НА МЕТОДА

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

РЕАГЕНТИ

1. Antibody coated microtiter plate, 96 wells
2. СЕА Reference Standards: 0, 3, 12, 30, 60 and 120 ng/ml готови за употреба
3. Enzyme Conjugate Reagent, 13 ml
4. TMB Reagent (готов), 11 ml
5. 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. 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.

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 и който е отделен до 60 минути от вземането на пробата. 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. Не замразявайте повторно.

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 досбавянето на Stop Solution.

ПРИГОТВЯНЕ НА РЕАГЕНТИТЕ

1. Всички реагенти трябва да се поставят при стайна температура (18-25 °C) преди употреба.

ПРОЦЕДУРА

1. Поставете желаните брой ямки в носача.
2. Пипетирайте 50µl от стандартите, пробите и контролите в съответните ямки.

3. Пипетирайте 100µl от Enzyme Conjugate Reagent във всяка ямка.
4. Размесете напълно в продължение на 30 секунди. Доброто размесване е особено важно в тази начална фаза.
5. Инкубирайте при стайна температура (18-25 °C) 60 минути.
6. Отстранете инкубационната смес като изпразните плаката с ямките в контейнер за отпадъци.
7. Измийте ямките с дестилирана или дейонизирана вода 5 пъти, като преди всеки следващ път изпразвате ямките.
8. Изтупайте рязко ямките върху попиваща хартия или салфетки, за да се отстранят останалите капки вода.
9. Пипетирайте 100µl от TMB реагента във всяка ямка. Леко разбъркайте 5 секунди.
10. Инкубирайте при стайна температура 20 минути.
11. Спрете реакцията като добавите 100 µl Stop Solution във всяка ямка.
12. Леко разбъркайте 30 секунди. *Много е важно синият цвят напълно да се превърне в жълт.*
13. Отчетете абсорбцията при 450 nm с ELISA апарат до 15 минути.

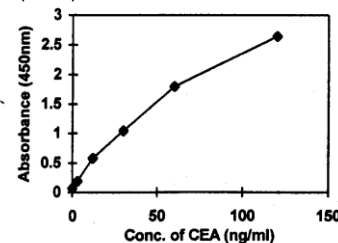
ИЗЧИСЛЕНИЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

1. Изчислете средната абсорбция (A₄₅₀) 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 СЕА в ng/ml от стандартната крива.
4. Стойностите, получени от разредени 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.

СЕА (ng/ml)	Абсорбция (450nm)
0	0.057
3	0.235
12	0.637
30	1.388
60	2.144
120	3.050



ОЧАКВАНИ СТОЙНОСТИ И ЧУВСТВИТЕЛНОСТ НА ТЕСТА

Най-пълното проучване на СЕА, при което са обработени данните от 35000 проби от повече от 10000 пациента и контроли дава следните резултати: От 1425 пациенти с нормални стойности, които не са пушачи 98.7% имат СЕА под 5.0 ng/ml.

Препоръчително е всяка лаборатория трябва да установи свой собствен диапазон от очаквани стойности.

Минималната концентрация на СЕА, която този тест може да открие, е 1.0 ng/ml.

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.

REV:081712

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