«УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный директор
АО «Вектор-Бест»
_____ М.Д. Хусаинов
«03» _____ 2022 г.
м.п.

ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов
для иммуноферментного определения концентрации опухолевого маркера СА 15-3 в сыворотке крови
(СА 15-3-ИФА-БЕСТ)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для иммуноферментного определения концентрации опухолевого маркера СА 15-3 в сыворотке крови «СА 15-3-ИФА-БЕСТ» предназначен для определения концентрации опухолевого маркера СА 15-3 в сыворотке крови человека методом твердофазного иммунофермент-ного анализа.

1.2. Количественное определение содержания СА 15-3 в сыворотке крови может быть использовано для диагностики и мониторинга течения рака молочной железы; контроля эффективности проводимого лечения и раннего выявления рецидивов заболевания.

1.3. Набор рассчитан на проведение анализа в дублях 41 неизвестного образца, 6 калибровочных образцов и 1 контрольного образца, всего 96 определений при использовании всех стрипов планшета.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Метод определения основан на одностадийном «сэндвич»-варианте твердофазного иммуноферментного анализа с использованием двух типов моноклональных антител с различной эпитопной специфичностью к СА 15-3.

В лунках планшета при добавлении исследуемого образца и конъюгата моноклональных антител к СА 15-3 с пероксидазой во время инкубации одновременно происходит связывание СА 15-3 с моноклональными антителами, иммобилизованными на внутренней поверхности лунок, и конъюгатом моноклональных антител с пероксидазой.

Во время инкубации с раствором тетраметилбензидина происходит окрашивание раствора в лунках. Степень окрашивания пропорциональна концентрации СА 15-3 в анализируемых образцах. После измерения величины оптической плотности раствора в лунках на основании калибровочного графика рассчитывается концентрация СА 15-3 в анализируемых образцах.

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

- планшет разборный (12 восьмилуночных стрипов, «ломающихся» по одной лунке) с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок моноклональными антителами к СА 15-3, готовый для использования – 1 шт.;
- калибровочные образцы, содержащие известные количества СА 15-3 – 0; 10; 25; 50; 100; 250 Ед/мл, аттестованные относительно стандартов «CanAg CA15-3 EIA» (фирма Fujirebio Diagnostics AB, Швеция); концентрации СА 15-3 в калибровочных образцах могут несколько отличаться от указанных величин, точные величины указаны на этикетках флаконов; готовые для использования – 6 флаконов (по 0,4 мл);

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

– контрольный образец на основе инактивированной сыворотки крови человека с известным содержанием СА 15-3, аттестованный относительно стандартов «CanAg CA15-3 EIA» (фирма Fujirebio Diagnostics AB, Швеция); готовый для использования – 1 флакон (0,4 мл);
– конъюгат моноклональных антител к СА 15-3 с пероксидазой хрена, готовый для использования – 1 флакон (13 мл);
– раствор для разведения сывороток (РРС) – 1 флакон (20 мл);
– концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 1 флакон (28 мл);
– раствор тетраметилбензидина плюс (раствор ТМБ плюс), готовый для использования – 1 флакон (13 мл);
– стоп-реагент, готовый для использования – 1 флакон (12 мл).

Принадлежности:

– пленка для заклеивания планшета – 1 шт.;
– трафарет для построения калибровочного графика – 1 шт.;
– ванночка для реагента – 2 шт.;
– наконечники для дозатора на 2–200 мкл – 16 шт.;
– планшет для предварительного разведения исследуемых образцов – 1 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Используемые в наборе реагентов моноклональные антитела обеспечивают высокую специфичность выявления СА 15-3. Не обнаружено перекрестной реакции используемых моноклональных антител с РЭА, СА 19-9 и СА-125.

3.2. Использование в наборе реагентов специфических блокирующих агентов исключает возможность получения ложноположительных результатов в сыворотках крови, содержащих гетерофильные, в том числе антимышиные (HAMA), антитела.

3.3. Хук-эффект высоких концентраций при исследовании сывороток крови не был обнаружен вплоть до концентрации 3000 Ед/мл СА-15-3.

3.4.* Воспроизводимость. Коэффициент вариации результатов содержания СА 15-3 в конт-рольном образце, не превышает 8%.

3.5.* Линейность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «линейность» – отклонение от расчетной величины концентрации СА 15-3 при разведении калибровочных образцов, содержащих 250 Ед/мл СА 15-3 в 2,5 раза, 100 и 50 Ед/мл СА 15-3 в 2 раза и калибровочного образца 25 Ед/мл СА 15-3 – в 2,5 раза. Процент «линейности» составляет 90–110%.

3.6.* Точность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации СА 15-3 предписанной в пробе, полученной путем смешивания равных объемов контрольного образца и калибровочного образца 25 Ед/мл. Процент «открытия» составляет 90–110%.

3.7.* Чувствительность. Минимально определяемая концентрация СА 15-3, рассчитанная на основании среднего арифметического значения оптической плотности калибровочного образца B_0 (0 Ед/мл) плюс 2σ (σ – среднее квадратичное отклонение от среднего арифметического значения), не превышает 0,5 Ед/мл.

3.8. Клиническая проверка. Концентрация СА 15-3, измеренная в сыворотке крови у 97 условно здоровых женщин в возрасте 18–50 лет, не превышала 30 Ед/мл.

3.9. Рекомендуется в каждой лаборатории при использовании набора уточнить значения концентрации СА 15-3, соответствующие нормальным у обследуемого контингента людей.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2б (приказ МЗ РФ от 06.06.2012 №4н).

4.2. Стоп-реагент и раствор тетраметилбензидина плюс обладают раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента и раствора тетраметилбензидина плюс на кожу и слизистые необходимо пораженный участок промыть большим количеством проточной воды. Калибровочные и контрольный образцы содержат натрия мертиолят, проклин 150. Конъюгат содержит кислоту ортофосфорную, проклин 150. Раствор для разведения сывороток содержит проклин 300.

4.3. При работе с исследуемыми образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом. Основные правила работы изложены в «Ин-

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

струкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР 17 января 1991 г.
и в методических указаниях МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения», утв. департаментом госсанэпиднадзора Минздрава РФ от 30.12.1998.

4.4. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы сыворотки крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатита или возбудителей других инфекций.

4.5. Химическая посуда и оборудование, которые используются в работе с набором, должны быть соответствующим образом промаркированы и храниться отдельно.

4.6. Запрещается прием пищи, использование косметических средств и курение в помещениях, предназначенных для работы с наборами.

4.7. Для дезинфекции посуды и материалов, контактировавших с исследуемыми и контрольными образцами, рекомендуем использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС, спиртов, третичных аминов. Использование дезинфицирующих средств, содержащих активный кислород и хлор (H_2O_2, деохлор, хлорамин), приводит к серьезному искажению результатов.

4.8. При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках планшета в двухволновом режиме: при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–655 нм; допускается измерение при длине волны 450 нм;
- шейкер термостатируемый орбитального типа, позволяющий производить встряхивание с частотой 400–800 об/мин и температуре 25±3°С;
- промывочное устройство для планшетов;
- дозаторы полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 5 до 5000 мкл;
- дозатор полуавтоматический многоканальный со сменными наконечниками, позволяющий отбирать объемы жидкости от 5 до 350 мкл;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- флаконы вместимостью 15 мл;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые;
- бумага фильтровальная;
- дезинфицирующий раствор.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Для проведения анализа использовать сыворотку крови.

6.2. Для проведения анализа не следует использовать гемолизованную, мутную сыворотку крови, а также сыворотку крови, содержащую азид натрия.

6.3. Образцы сыворотки крови можно хранить при температуре от 2 до 8°С не более 5 суток или при температуре минус 20°С (и ниже) не более 3 мес.

Повторное замораживание-размораживание образцов сыворотки крови не допускается, так как это может привести к получению неправильных результатов.

После размораживания образцы следует тщательно перемешать.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

6.4. Образцы сывороток крови, содержащие осадок, необходимо очистить центрифугированием при 1500 об/мин в течение 10 мин при температуре от 18 до 25°С.

7. ПОДГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

7.1. Перед проведением анализа извлечь набор из холодильника, вскрыть упаковку, извлечь все компоненты, в том числе и запечатанный пакет с планшетом. Выдержать все компоненты и анализируемые образцы сывороток крови при температуре от 18 до 25°С не менее 30 мин.

При дробном использовании набора после отбора части содержимого флаконы сразу плотно закрыть завинчивающимися крышками, поместить в холодильник и хранить при 2–8°С в течение срока годности набора.

7.2. Подготовка планшета

Вскрыть пакет выше замка и установить на рамку необходимое для проведения анализа количество стрипов. Оставшиеся неиспользованными стрипы немедленно поместить вновь в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух, плотно закрыть замок и поместить в холодильник.

Хранение: при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности набора.

7.3. Приготовление промывочного раствора

Промывочный раствор приготовить разведением концентрата фосфатно-солевого буферного раствора с твином в 25 раз. Для этого в соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) внести в мерный цилиндр необходимое количество концентрата ФСБ-Т и довести до соответствующего объема дистиллированной водой.

При выпадении осадка солей в концентрате необходимо прогреть его при температуре от 30 до 40°С до полного растворения осадка.

Хранение: при температуре от 2 до 8°С не более 5 сут.

7.4. Приготовление калибровочных и контрольного образцов

Калибровочные и контрольный образцы готовы для использования и не требуют дополнительного разведения.

Хранение: после первого вскрытия в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности набора.

7.5. Предварительное разведение исследуемых образцов сыворотки крови

В лунки планшета для предварительного разведения исследуемых образцов внести по 180 мкл раствора для разведения сывороток (РРС) и добавить по 20 мкл исследуемых образцов сыворотки крови, тщательно перемешать. При разведении сыворотки красный цвет РРС должен измениться на желтый.

Хранение: при температуре от 18 до 25°С не более 1 часа.

7.6. Подготовка конъюгата

Конъюгат готов для использования.

Непосредственно перед использованием в соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) отобрать в чистый флакон или в ванночку для реагента необходимое количество конъюгата.

Утилизировать конъюгат, оставшийся во флаконе или ванночке для реагента после проведения ИФА ***(не сливать во флакон с исходным конъюгатом).***

Хранение: после первого вскрытия в плотно закрытом флаконе при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности набора.

7.7. Подготовка раствора тетраметилбензидина плюс (раствора ТМБ плюс)

Раствор ТМБ плюс готов для использования.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Исключить воздействие прямого света на раствор ТМБ плюс. Непосредственно перед использованием и в соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) отоб-рать необходимое количество раствора ТМБ плюс в чистый флакон или ванночку для реагента.

Утилизировать раствор ТМБ плюс, оставшийся во флаконе или ванночке для реагента после проведения ИФА ***(не сливать во флакон с исходным раствором ТМБ плюс).***

Внимание! *Для работы с раствором ТМБ плюс необходимо использовать только одноразовые наконечники. Посуду, предназначенную для раствора ТМБ плюс, нельзя отмывать с применением синтетических моющих средств, поскольку даже их следы ведут к неконтролируемому окислению ТМБ плюс в ходе реакции. После работы посуду ополоснуть водой, промыть 70% этиловым спиртом и тщательно отмыть дистиллированной водой.*

Хранение: после первого вскрытия в плотно закрытом флаконе при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности набора.

7.8. Стоп-реагент готов для использования.

Хранение: после первого вскрытия в плотно закрытом флаконе при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности набора.

8. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

8.1. Внести в дублях, начиная с верхних лунок первых двух стрипов, по 25 мкл каждого калибровочного образца и по 25 мкл контрольного образца. В остальные лунки внести в дублях по 25 мкл анализируемых образцов сыворотки крови в предварительном разведении (см п. 7.5).

Время внесения образцов не должно превышать 10 мин при использовании всех лунок планшета.

8.2. Внести во все лунки по 100 мкл конъюгата (см п. 7.6).

Для внесения конъюгата использовать флакон или ванночку для реагента и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

8.3. Планшет заклеить пленкой и инкубировать в течение 60 мин при встряхивании на шейкере с частотой 650 об/мин и температуре 25±3°С.

8.4. По окончании инкубации снять пленку и удалить в сосуд с дезинфицирующим раствором. С помощью промывочного устройства промыть лунки планшета 5 раз промывочным раствором (см п. 7.3), чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок каждого стрипа. В каждую лунку вносить 350 мкл промывочного раствора в процессе промывки каждого стрипа. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. *Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого их заполнения.* По окончании промывки удалить остатки жидкости из лунок, постукивая планшетом в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.

8.5. Внести во все лунки по 100 мкл раствора ТМБ плюс (см п. 7.7).

Для внесения раствора тетраметилбензидина плюс использовать флакон или ванночку для реагента и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

Планшет инкубировать в защищенном от света месте в течение 15 мин при встряхивании на шейкере с частотой 650 об/мин и температуре 25±3°С.

8.6. Внести во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор тетраметилбензидина плюс, по 100 мкл стоп-реагента. Встряхнуть планшет на шейкере в течение 10–15 сек, при этом содержимое лунок окрашивается в желтый цвет.

8.7. Измерить величину оптической плотности растворов в лунках стрипов на спектрофотометре вертикального сканирования в двухволновом режиме: при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–655 нм; допускается измерение при длине волны 450 нм.

Время между остановкой реакции и измерением оптической плотности не должно превышать 10 мин.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

9.1. Вычислить средние арифметические значения оптической плотности для каждой пары лунок, содержащих калибровочные, контрольный и анализируемые образцы.

9.2. Построить в линейных координатах калибровочный график зависимости среднего арифметического значения оптической плотности (ед. опт. плотн.) от концентрации СА 15-3 в калибровочных образцах (Ед/мл).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

9.3. Определить концентрацию СА 15-3 в контрольном образце и анализируемых образцах по калибровочному графику.

9.4. Результаты анализа исследуемых образцов учитывать, если вычисленное по калибровочному графику значение концентрации СА 15-3 в контрольном образце соответствует диапазону концентраций, указанному на этикетке флакона.

9.5. Если концентрация СА 15-3 в анализируемых образцах сыворотки крови превышает 250 Ед/мл, образец следует развести раствором для разведения сывороток в 20 раз (10 мкл исследуемого образца + 190 мкл РРС), затем, в соответствии с п. 7.5, развести в 10 раз, повторить анализ и полученный результат умножить на 20.

9.6. При динамическом наблюдении пациента для получения результатов, адекватно отражающих изменение концентрации СА 15-3 в сыворотке крови, необходимо использовать наборы реагентов одного наименования (одного предприятия-изготовителя).

Примечание: Наличие в образцах сыворотки крови свободного гемоглобина в концентрации до 46,8 г/л; билирубина в концентрации до 141,3 мг/л и триглицеридов в концентрации до 100,1 г/л не оказывало интерферирующего влияния на результаты иммуноферментного определения концентрации СА 15-3.

10. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

10.1. Транспортировать изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, при температуре от 2 до 8°С. Допускается транспортирование при температуре до 25°С не более 10 суток.

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно осуществляться при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

10.3. Срок годности набора – 12 месяцев со дня выпуска. Не допускается применение наборов по истечении срока их годности.

10.4. Дробное использование набора может быть реализовано в течение всего срока годности. В случае дробного использования набора:

- неиспользованные стрипы хранить в плотно закрытом пакете при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности набора;
- калибровочные и контрольный образцы, конъюгат, концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином, раствор для разведения сывороток, раствор ТМБ плюс и стоп-реагент после вскрытия флаконов хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности набора;
- промывочный раствор хранить при температуре от 2 до 8°С не более 5 суток.

10.5. Построение калибровочного графика необходимо проводить для каждого независимого эксперимента, а также рекомендуется определение концентрации СА 15-3 в контрольном образце.

10.6. При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (раствор ТМБ плюс, ФСБ-Т×25, стоп-реагент), которые взаимозаменяемы в наборах АО «Вектор-Бест».

Нельзя использовать реагенты из наборов других фирм-производителей.

10.7. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

11. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

11.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

11.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

11.3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

По вопросам, касающимся качества набора
«СА 15-3-ИФА-БЕСТ»,
следует обращаться в АО «Вектор-Бест»
по адресу:

630559, Новосибирская область,
р.п. Кольцово, а/я 121,
тел. (383) 227-67-64.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ

Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом.

Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

Все реагенты наборов, содержащие в своем составе материалы человеческого происхождения, инактивированы.

1. Обеспечение получения правильных результатов анализа

Достоверность и воспроизводимость результатов анализа зависят от выполнения следующих основных правил:

– не проводите ИФА в присутствии паров кислот, щелочей, альдегидов или пыли, которые могут менять ферментативную активность конъюгатов;

– ферментативная реакция чувствительна к присутствию ионов металлов, поэтому не допускайте контактов каких-либо металлических предметов с конъюгатом и раствором ТМБ;

– избегайте загрязнения компонентов набора микроорганизмами и химическими примесями, для этого используйте в работе чистую посуду и одноразовые наконечники для каждого реагента, контроля, образца;

– рабочие поверхности столов, оборудования следует обрабатывать 70% этиловым спиртом (не допускается использование перекиси водорода, хлорсодержащих растворов);

– никогда не используйте одну и ту же емкость для конъюгата и раствора ТМБ;

– перед отбором раствора ТМБ из флакона необходимо протереть конус дозатора (внутреннюю и внешнюю поверхности) сначала дистиллированной водой, а затем 70% этиловым спиртом, так как малейшее загрязнение конъю-гатом может привести к контаминации всего содержимого флакона;

– используйте только одноразовые наконечники для дозаторов;

– не обрабатывайте дезинфицирующими растворами и моющими средствами посуду (ванночки), используемую для работы с конъюгатом и раствором ТМБ;

– в случае повторного использования посуду (ванночки) для конъюгата необходимо промыть проточной водой и тщательно ополоснуть дистиллированной водой; посуду (ванночки) для раствора ТМБ ополоснуть водой, промыть 70% этиловым спиртом и тщательно отмыть дистиллированной водой;

– если допущена ошибка при внесении анализируемых образцов, нельзя, опорожнив эту лунку, вносить в нее новый образец; такая лунка бракуется.

Качество промывки лунок планшета играет важную роль для получения правильных результатов анализа:

– Для аспирации анализируемых образцов и последующей промывки рекомендуется использовать автоматическое или ручное промывочное устройство.

– Не допускайте высыхания лунок планшета в перерыве между завершением промывки и внесением реагентов.

– Добивайтесь полного заполнения и опорожнения всех лунок планшета в процессе промывки. Недостаточная аспирация жидкости в процессе промывки может привести к понижению чувствительности и специфичности анализа.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

– Следите за состоянием промывочного устройства – регулярно (1 раз в неделю) обрабатывайте шланги и емкости 70% этиловым спиртом.

– Для предотвращения засорения игл промывочного устройства в конце рабочего дня обязательно выполните процедуру ополаскивания системы подачи жидкости дистиллированной водой.

2. Условия правильности работы набора

Результаты анализа исследуемых образцов учитывать, если будут выполнены следующие условия:

– соотношение оптических плотностей калибровочных образцов: $ОП_0 < ОП_{10} < ОП_{25} < ОП_{50} < ОП_{100} < ОП_{250}$;

– $ОП_{250} \geq 1{,}0$ ед. опт. плотн. (о.е.);

– $ОП_0 \leq 0{,}1$ о.е.;

– вычисленное по калибровочному графику значение концентрации СА 15-3 в контрольном образце попадает в пределы, указанные на этикетке флакона.

$ОП_0$, $ОП_{10}$, $ОП_{25}$, $ОП_{50}$, $ОП_{100}$ и $ОП_{250}$ – среднее значение оптической плотности калибровочных образцов 0, 10, 25, 50, 100 и 250 Ед/мл соответственно.

3. Расчет результатов анализа

Для построения калибровочного графика на прилагаемом трафарете против концентрации каждого калибровочного образца отложить соответствующее ей среднее значение оптической плотности. Последовательно соединить полученные точки отрезками прямых линий.

Определить концентрацию СА 15-3 в конт-рольном образце и анализируемых образцах по калибровочному графику. Для этого на оси ординат отметить среднее значение ОП анализируемого образца. Провести прямую линию, параллельно оси абсцисс, до пересечения с калибровочным графиком. От точки пересечения опустить перпендикуляр на ось абсцисс. По полученной точке пересечения определить значение концентрации СА 15-3 в образце.

Результаты, полученные для образцов, разведенных предварительно в 20 раз, умножаются на 20 (п. 9.5.).

При использовании для расчетов концентраций компьютерного или встроенного в спектрофотометр программного обеспечения в настройках выбрать метод, соответствующий кусочно-линейной аппроксимации.

4. Диагностическая значимость определения концентрации СА 15-3

СА 15-3 является важным опухолевым маркером, используемым в диагностике рака молочной железы и мониторинге течения заболевания. Он обладает достаточно высокой специ-фичностью (95%) при раке молочной железы в сравнении с ее доброкачественными заболеваниями. Уровень концентрации СА 15-3 может быть повышен при доброкачественных заболеваниях молочной железы, однако, в отличие от злокачественного процесса, в этом случае не наблюдается значимого роста концентрации маркера в динамике или превышение критического уровня маркера будет преходящим.

При исследовании СА 15-3 следует учитывать его индивидуальную информативность при различных формах и распространенности опухолевого процесса. Частота выявления повышенных значений СА 15-3 и его концентрация напрямую зависят от размера опухоли, вовлечения в процесс лимфоузлов, наличия отдаленных метастазов и варьирует от 30 до 90%. Поэтому определение уровня концентрации СА 15-3 в сыворотке крови наиболее информативно для мониторинга течения заболевания и эффективности проводимой терапии. Именно динамика уровня опухолевого маркера является более информативной, чем его единичное определение. Это может обеспечить выявление рецидива до клинической или радиологической манифестации заболевания.

Регулярное измерение концентрации СА 15-3 необходимо использовать для контроля проводимого лечения. Устойчивое снижение уровня опухолевого маркера свидетельствует об эффективности проводимой терапии. Принято считать, что увеличение концентрации маркера в сыворотке на 25% является признаком прогрессирования заболевания. Следует отметить, что после радиотерапии, химиотерапии может наблюдаться преходящий подъем концентрации опухолевого маркера, как результат деструкции опухоли.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Для усиления диагностической значимости определения СА 15-3 у больных раком молочной железы целесообразно дополнительно исследовать содержание в крови некоторых других маркеров опухолевого роста. Наиболее распространенным является комплекс СА 15-3 / РЭА. Одновременное определение этих маркеров позволяет диагностировать метастазы у 60–80% пациентов.

При опухолях другой локализации, в частности, при карциноме яичников, шейки матки, эндометрия, легких, кишечника, повышение концентрации СА 15-3 наблюдается только на поздних стадиях развития заболевания.

Концентрация маркера может возрастать при заболеваниях, связанных с поражением серозных оболочек: экссудативном плеврите, панкреатите, асците, перикардите, перитоните, аутоиммунных заболеваниях, а также при доброкачественных заболеваниях яичников, эндометриозе, при менструации, беременности и лактации.

5. Краткая схема проведения ИФА для набора реагентов «СА 15-3-ИФА-БЕСТ»

Использовать только после внимательного ознакомления с инструкцией!

Внести: по 25 мкл калибровочных, контрольного образцов в дублях;
по 25 мкл анализируемых сывороток крови в рабочем разведении в дублях.

Внести: по 100 мкл конъюгата.

Инкубировать: 60 мин, 25±3°С, 650 об/мин.

Промыть: промывочным раствором,
по 350 мкл, 5 раз.

Внести: по 100 мкл раствора тетраметилбензидина.

Инкубировать: 15 мин, 25±3°С, 650 об/мин,
в темноте.

Внести: по 100 мкл стоп-реагента.

Измерить: ОП при 450 нм / референсная длина волны 620–655 нм.

6. Графические символы

REF	Номер по каталогу	IVD	Медицинское изделие для диагностики *in vitro*
Σ_n	Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов		Не стерильно
LOT	Код партии		Температурный диапазон
	Изготовитель		Дата изготовления
	Использовать до ...		Обратитесь к инструкции по применению
	Осторожно! Обратитесь к Инструкции по применению	YYYY-MM-DD YYYY-MM	Дата в формате Год-Месяц-День Год-Месяц

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 363-23-77.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Таблица расхода компонентов набора реагентов

Кол-во используемых стрипов	Промывочный раствор		Конъюгат, мл	Раствор ТМБ плюс, мл
	ФСБ-Т×25, концентрат, мл	Дистил. вода, мл		
2	4.0	до 100	2.0	2.0
3	6.0	до 150	3.0	3.0
4	8.0	до 200	4.0	4.0
5	10.0	до 250	5.0	5.0
6	12.0	до 300	6.0	6.0
7	14.0	до 350	7.0	7.0
8	16.0	до 400	8.0	8.0
9	18.0	до 450	9.0	9.0
10	20.0	до 500	10.0	10.0
11	22.0	до 550	11.0	11.0
12	24.0	до 600	12.0	12.0

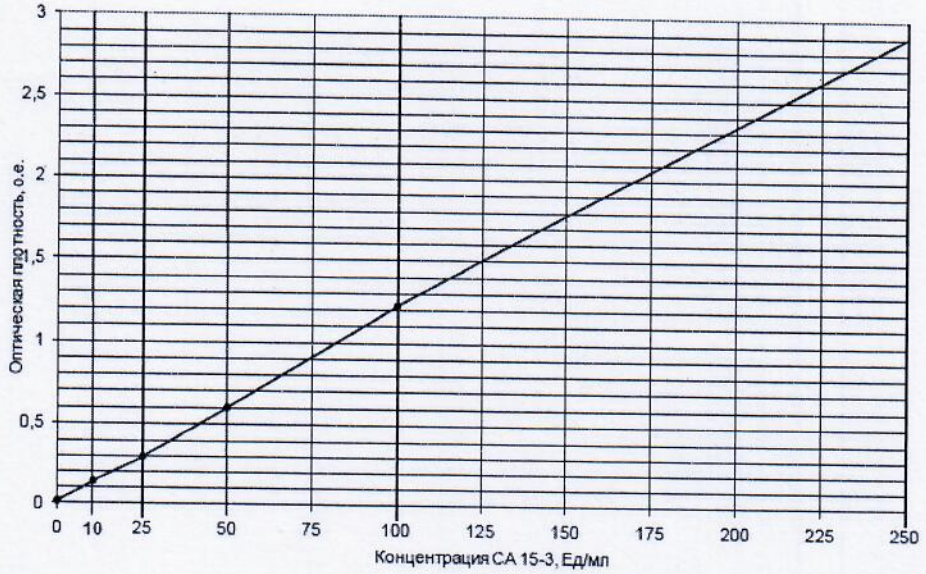


Рис. Пример зависимости оптической плотности от концентрации СА 15-3. в калибровочных образцах.

---

* по ГОСТ Р 51352-2013.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru