«УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный директор
АО «Вектор-Бест»
М.Д. Хусаинов
«21» 2022 г.
М.П.

ИНСТРУКЦИЯ
по применению Набора реагентов для иммуноферментного определения концентрации СА 19-9 в сыворотке крови

(СА 19-9-ИФА-БЕСТ)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для иммуноферментного определения концентрации СА 19-9 в сыворотке крови «СА 19-9-ИФА-БЕСТ» предназначен для определения концентрации СА 19-9 в сыворотке крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. СА 19-9 (сиалированный антиген Льюиса) – это углеводный антиген с молекулярной массой 500 кДа, являющийся маркером рака поджелудочной железы, желудка, печени, а также толстой и прямой кишок. У больных раком поджелудочной железы содержание этого антигена превышает 30 Ед/мл в 80% случаев. Выведение СА 19-9 из организма происходит исключительно с желчью и зависит от проходимости желчных путей, поэтому холестаз может вызывать неадекватное повышение его концентрации в сыворотке крови.

1.3. Количественное определение содержания СА 19-9 в сыворотке крови, особенно одновременно с определением раковоэмбрионального антигена (РЭА), может быть использовано для диагностики и мониторинга течения рака поджелудочной железы, желудка, печени, кишечника; контроля эффективности проводимого лечения и раннего выявления рецидивов заболевания.

1.4. 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 двухстадийном «сэндвич»-варианте твердофазного иммуноферментного анализа с использованием моноклональных антител к антигену СА 19-9. В лунках планшета при добавлении исследуемого образца во время первой инкубации происходит связывание антигена из сыворотки с моноклональными антителами, иммобилизованными на внутренней поверхности лунок. Во время второй инкубации конъюгат моноклональных антител к СА 19-9 с пероксидазой связывается с антигеном СА 19-9, иммобилизованным в ходе первой инкубации. Во время инкубации с раствором тетраметилбензидина плюс происходит окрашивание раствора в лунках. Степень окраски пропорциональна концентрации СА 19-9 в анализируемых образцах. После измерения величины оптической плотности раствора в лунках на основании калибровочной графика рассчитывается концентрация СА 19-9 в анализируемых образцах.

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

- планшет разборный (12 восьмилуночных стрипов) с иммобилизованными на внутренней поверхности моноклональными антителами к СА 19-9 человека, готовый для использования – 1 шт.;
- калибровочные образцы, содержащие известные количества СА 19-9 – 0; 15; 30; 75; 150; 300 Ед/мл, аттестованные относительно стандартов СА 19-9 (фирма Fujirebio Diagnostics, Швеция, кат. № 120-10); концентрации СА 19-9 в калибровочных образцах могут несколько отличаться от указанных величин, точные величины указаны на этикетках флаконов, готовые для использования – 6 флаконов (по 0,5 мл);
- контрольный образец на основе сыворотки крови человека с известным содержанием СА 19-9, аттестованный относительно стандартов СА 19-9 (фирма Fujirebio Diagnostics, Швеция, кат. № 120-10), готовый для использования – 1 флакон (0,5 мл);

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

– конъюгат моноклональных антител к СА 19-9 с пероксидазой хрена, готовый для использования – 1 флакон (13,0 мл);
– раствор для разведения сывороток (РРС) – 2 флакона (по 12,0 мл);
– концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 1 флакон (28,0 мл);
– раствор тетраметилбензидина плюс (раствор ТМБ плюс), готовый для использования – 1 флакон (13,0 мл);
– стоп-реагент, готовый для использования – 1 флакон (12,0 мл);

Принадлежности:

– пленка для заклеивания планшета – 2 шт;
– трафарет для построения калибровочного графика – 1 шт;
– ванночка для реагента – 2 шт;
– наконечники для пипетки на 5 – 200 мкл – 16 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Используемые в наборе моноклональные антитела обеспечивают специфическое взаимодействие с СА 19-9. Не обнаружено перекрестной реакции с другими онкомаркерами: АФП, ПСА, СА 125, СА 15-3, РЭА.

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.* Воспроизводимость. Коэффициент вариации результатов определения концентрации СА 19-9 в лунках, содержащих контрольный образец не превышает 8%.

3.4.* Линейность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «линейность» – отклонение от расчетной величины концентрации СА 19-9 при разведении калибровочных образцов, содержащих 300; 150; 30 Ед/мл, в 2 раза, и калибровочного образца 75 Ед/мл в 2,5 раза. Процент «линейности» составляет 90–110%.

3.5.* Точность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации СА 19-9, предписанной в образце, полученной путем смешивания равных объемов контрольного образца и калибровочного образца 30 Ед/мл. Процент «открытия» составляет 90–110%.

3.6.* Чувствительность. Минимально определяемая концентрация СА-19-9, рассчитанная на основании среднего арифметического значения оптической плотности калибровочного образца B_0, плюс 2s (s – среднее квадратичное отклонение от среднего арифметического значения B_0) не превышает 1 Ед/мл.

3.7. Клиническая проверка. Концентрация СА 19-9, измеренная в сыворотке крови, взятой с 9 до 11 ч, у 78 здоровых мужчин и женщин в возрасте 20-50 лет не превышала 30 Ед/мл.

3.8. Рекомендуется в каждой лаборатории при использовании набора уточнить значения концентрации СА 19-9, 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. Все компоненты набора являются нетоксичными. Стоп-реагент обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента на кожу и слизистые необходимо пораженный участок промыть большим количеством проточной воды.

4.3. При работе с исследуемыми образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом. Основные правила работы изложены в «Инструкции 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 инфекционные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатита или возбудителей других

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

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». Дезинфекцию наборов реагентов следует проводить по МУ 287-113
«Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- 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 при температуре 37±1°С и 400–800 об/мин;
- промывочное устройство для планшетов;
- холодильник бытовой;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 5 до 5000 мкл;
- пипетка полуавтоматическая многоканальная со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объемы жидкости от 5 до 350 мкл;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- колба вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- дезинфицирующий раствор.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

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

6.2. 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.

Допускается однократное замораживание-размораживание образцов сыворотки крови. После размораживания образцы следует тщательно перемешать.

6.3. Образцы сывороток крови, содержащие осадок, необходимо очистить центрифугированием при 1000–1500 об/мин в течение 5 мин при температуре от 18 до 25°С.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

7.1. Перед проведением анализа компоненты набора и исследуемые образцы сыворотки крови следует выдержать при температуре 18–25°С в течение времени не менее 30 мин.

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

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, удалить из него воздух и плотно закрыть замок.

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

7.3. Приготовление промывочного раствора

Внести в мерный цилиндр необходимое количество концентрата фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) и добавить соответствующее количество дистиллированной воды.

В таблице приведен расход реагента в зависимости от количества используемых стрипов.

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

Приготовленный промывочный раствор можно хранить при температуре от 2 до 8°С не более 5 сут.

7.4. Приготовление калибровочных и контрольного образцов

Калибровочные и контрольный образцы готовы к использованию и не требуют дополнительных разведений. Перед использованием встряхнуть.

После первого вскрытия калибровочные и контрольный образцы хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности набора.

7.5. Подготовка конъюгата

Конъюгат готов к использованию.

Необходимое количество конъюгата отобрать в чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента.

Оставшийся после проведения ИФА конъюгат утилизировать (***не сливать во флакон с исходным конъюгатом)***.

Конъюгат после первого вскрытия флаконов хранить при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности набора .

В таблице приведен расход реагента в зависимости от количества используемых стрипов.

7.6. Подготовка раствора тетраметилбензидина плюс

Раствор тетраметилбензидина плюс (раствор ТМБ плюс) готов к использованию.

Необходимое количество раствора ТМБ плюс отобрать в чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента.

Оставшийся после проведения ИФА раствор ТМБ плюс утилизировать (***не сливать во флакон с исходным раствором ТМБ плюс***).

Необходимо исключить воздействие прямого света на раствор ТМБ плюс.

Раствор ТМБ плюс после первого вскрытия флаконов можно хранить при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности набора .

В таблице приведен расход реагента в зависимости от количества используемых стрипов.

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

7.7. Стоп-реагент готов к использованию.

После вскрытия можно хранить в плотно закрытом флаконе при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности набора.

ПРОВЕДЕНИЕ ИФА

7.8. Внести во все лунки по 200 мкл раствора для разведения сывороток (РРС).

7.9. Внести в соответствующие лунки в дуб-лях по 25 мкл каждого калибровочного образца и по 25 мкл контрольного образца. В остальные лунки внести в дублях по 25 мкл анализируемых образцов

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

сыворотки крови.

Внесение образцов необходимо производить быстро, в течение времени не более 15 мин при условии использовании всех лунок планшета.

7.10. Планшет заклеить пленкой и инкубировать в течение 30 мин при встряхивании на шейкере при температуре 37±1°С и 650 об/мин.

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

7.12. Внести во все лунки по 100 мкл конъюгата (см п. 7.5.).

Для внесения конъюгата использовать ванночку для реагента и одноразовые наконечники.

7.13. Планшет заклеить пленкой и инкубировать в течение 60 мин при встряхивании на шейкере при температуре 37±1°С и 650 об/мин.

7.14. По окончании инкубации удалить содержимое лунок и промыть планшет 5 раз промывочным раствором, как описано в п. 7.11.

7.15. Внести во все лунки по 100 мкл раствора ТМБ плюс (см п. 7.6.).

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

7.16. Планшет инкубировать в темноте в течение 15 мин при встряхивании на шейкере при температуре 37±1°С и 650 об/мин.

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

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

8.1. 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 (выведение спектрофотометра на нулевой уровень («бланк») осуществлять по воздуху).

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

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

9.1. Вычислить среднее арифметическое значение оптической плотности для каждой пары лунок, содержащих калибровочные образцы.

9.2. Построить в линейных координатах калибровочный график зависимости среднего арифметического значения оптической плотности (ед. опт. плотн.) от концентрации СА 19-9 в калибровочных образцах (Ед/мл).

9.3. Определить содержание СА 19-9 в конт-рольном образце и анализируемых образцах по калибровочному графику. Вычислить среднее арифметическое значение концентрации для каждой пары лунок, содержащих анализируемые образцы. В случае дополнительного разведения анализируемых образцов (п. 10.4.) полученную концентрацию СА 19-9 необходимо умножить на фактор разведения.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Набор реагентов «СА 19-9-ИФА-БЕСТ» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности (12 мес).

10.2. Транспортирование наборов должно производиться всеми видами крытого транспорта с соблюдением условий и требований, установленных на данном виде транспорта, при температуре от 2 до 8°С. Допускается транспортирование набора при температуре до 25°С не более 10 сут.

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

Замораживание компонентов набора не допускается.

10.3. 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 образцы, контрольный образец, конъюгат после вскрытия флаконов хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности набора;
- 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;
- построение калибровочного графика необходимо проводить для каждого независимого эксперимента, а также рекомендуется определение концентрации СА 19-9 в контрольном образце.

10.4. Если концентрация СА 19-9 в анализируемых образцах сыворотки крови превышает 300 Ед/мл, образец следует дополнительно развести раствором для разведения сывороток в 20 раз (20 мкл исследуемого образца + 380 мкл раствора для разведения сывороток), повторить анализ и полученный результат умножить на 20.

10.5. 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 во всех наборах АО «Вектор-Бест».

Нельзя использовать реагенты из наборов других фирм-производителей.

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

10.7. Не допускается применение серии набора по истечении срока ее годности.

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

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.

Антитела к ВИЧ-1,2 и вирусу гепатита С и HBsAg отсутствуют.

При динамическом наблюдении пациента для получения результатов, адекватно отражающих изменение концентрации СА 19-9 в крови, необходимо использовать наборы реагентов одного наименования (одного предприятия-изготовителя).

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

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

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 чистые 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 пипетки (внутреннюю и внешнюю поверхности) сначала дистиллированной водой, а затем 70% этиловым спиртом, так как малейшее загрязнение пипеток конъюгатом 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.

– 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:

$$ОП_0 < ОП_{15} < ОП_{30} < ОП_{75} < ОП_{150} < ОП_{300};$$

– $ОП_{300} \geq 1{,}0$ ед. опт. плотн. (о.е.);

– вычисленное по калибровочному графику значение концентрации СА 19-9 в контрольном образце попадает в пределы, указанные на этикетке флакона.

$ОП_0$, $ОП_{15}$, $ОП_{30}$, $ОП_{75}$, $ОП_{150}$ и $ОП_{300}$ – среднее значение оптической плотности калибровочных образцов 0, 15, 30, 75, 150 и 300 Ед/мл соответственно.

3. Расчет результатов анализа

Построить калибровочный график зависимости оптической плотности (ось ординат) от концентрации СА 19-9 (ось абсцисс) в калибровочных образцах. Для этого на прилагаемом трафарете для построения графика против концентрации каждого калибровочного образца отложить соответствующее ей среднее значение оптической плотности. Последовательно соединить полученные точки отрезками прямых линий.

Пример калибровочного графика представлен на рисунке.

Определить концентрацию СА 19-9 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

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

точки пересечения опустить перпендикуляр на ось абсцисс. По полученной точке пересечения определить значение концентрации СА 19-9 в образце.

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

4. Краткая схема проведения ИФА для набора реагентов «СА 19-9-ИФА-БЕСТ»

Использовать только после внимательного ознакомления с инструкцией!

Внести: во все лунки по 200 мкл РРС.
по 25 мкл калибровочных образцов и контрольного образца в дублях;
по 25 мкл анализируемых образцов в дублях.

Инкубировать: 30 мин, 37°С, 650 об/мин.

Промыть: промывочным раствором, 350 мкл, 5 раз.

Внести: по 100 мкл конъюгата.

Инкубировать: 60 мин, 37°С, 650 об/мин.

Промыть: промывочным раствором, 350 мкл, 5 раз.

Внести: по 100 мкл раствора тетраметилбензидина.

Инкубировать: 15 мин, 37°С, 650 об/мин, в темноте.

Внести: по 100 мкл стоп-реагента.

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

Таблица расхода компонентов набора реагентов

Кол-во используемых стрипов	Конъюгат, мл	Раствор ТМБ плюс, мл	Промывочный раствор	
			ФСБ-Т×25, мл	Дистил. вода, мл
2	2,0	2,0	4,0	до 100
3	3,0	3,0	6,0	до 150
4	4,0	4,0	8,0	до 200
5	5,0	5,0	10,0	до 250
6	6,0	6,0	12,0	до 300
7	7,0	7,0	14,0	до 350
8	8,0	8,0	16,0	до 400
9	9,0	9,0	18,0	до 450
10	10,0	10,0	20,0	до 500
11	11,0	11,0	22,0	до 550
12	12,0	12,0	24,0	до 600

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



Рис. Пример зависимости оптической плотности от концентрации СА 19-9 в калибровочных образцах

Графические символы

	Изготовитель		Дата изготовления
LOT	Код партии		Обратитесь к инструкции по применению
REF	Номер по каталогу	IVD	Медицинское изделие для диагностики *in vitro*
	Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению.		Использовать до....
Σ_n	Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов		Температурный диапазон
	Не стерильно		Не допускать воздействия солнечного света

По вопросам, касающимся качества набора «СА 19-9-ИФА-БЕСТ»,
обращаться в АО «Вектор-Бест» по адресу:

630559, Новосибирская область,
Новосибирский район, п. Кольцово, а/я 121
тел. (383) 363-20-60,
тел./факс (383) 363-35-55.
E-mail: vbobtk@vector-best.ru

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

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