

# НАБІР РЕАГЕНТІВ ОНКОМАРКЕР CA19-9 ELISA

## TM-CA 19-9 ELISA

Кат. №: EIA-5069

Дата випуску інструкції: 2016/03  
Версія 4.0



Основною при проведенні аналізу є оригінал інструкції англійською мовою, вкладеної в набір. Номер і дата версії оригіналу і перекладу інструкції повинні збігатися.

### 1 ВСТУП

#### 1.1 Найменування і призначення

Набір **DRG TM-CA 19-9 ELISA** - це ферментний імуноаналіз для кількісного *in vitro* визначення CA19-9 у сироватці крові та плазмі.

### 2 ПРИНЦИП АНАЛІЗУ

Даний аналіз є імуноферментним аналізом (ІФА), заснованим на принципі сендвіча.

Мікротитрові лунки покриті моноклональним антитілом (миші) до антигенних сайтів на молекулі CA19-9.

Аліквота зразка пацієнта, який містить ендogenous CA19-9, інкубується в лунці з нанесеним ферментним кон'югатом, який є анти-CA19-9 антитілом, кон'югованим з пероксидазою хрому. Після інкубації незв'язаний кон'югат вимивається.

Кількість зв'язаної пероксидази пропорційна концентрації CA19-9 у зразку. Після додавання розчину субстрату інтенсивність кольору, що розвивається, пропорційна концентрації CA19-9 у зразку пацієнта.

### 3 ЗАСТЕРЕЖЕННЯ І ПОПЕРЕДЖЕННЯ

1. Тільки для діагностичного використання "in-vitro". Для використання тільки кваліфікованим персоналом.
2. Методів, які б з остаточною впевненістю переконали, що такі інфекційні агенти як вірус гепатиту В, ВІЛ-вірус чи інші в компонентах набору відсутні не існує. Тому, зразки і матеріали треба вважати потенційно інфекційними і використовувати з відповідною обережністю.
3. Перед початком аналізу повністю та уважно прочитати інструкцію. Використовувати дійсну версію інструкції. Впевніться, що все зрозуміло.
4. Мікропланшет складається з відривних смужок. Невикористані лунки зберігати при 2-8 °C запакованими, та використовувати рамку, яка постачається.
5. Піпетування взірців та реагентів проводити як можна швидше та з однаковими інтервалами для кожного кроку.
6. Використовувати пробірки тільки для одного реагенту. Це особливо відноситься до пробірок з субстратами. Використання резервуару для дозування розчину субстрату, який раніше був використаний для розчину кон'югату, може призвести до забарвлення розчину. Не виливайте реагенти назад у флакон, оскільки забруднення може статися.
7. Змішуйте вміст лунок мікропланшетів повністю, щоб забезпечити хороші результати тесту. Не використовуйте повторно лунки.
8. Не дозволяйте лункам висихати під час аналізу; додавати реагенти негайно після закінчення полоскання.
9. Дозволити реагентам досягти кімнатної температури (21-26 ° C) до початку тесту. Температура може вплинути на значення оптичної щільності.
10. Не піпетуйте реагенти ротом і уникайте контакту реагентів і зразків з шкірою і слизовими.
11. Не їжте, не пийте і не курить в приміщеннях, де використовуєте зразки чи реагенти.
12. Одягайте рукавички при роботі із зразками і реагентами. Мікробіологічне забруднення реагентів чи зразків може дати помилкові результати.
13. Використання набору повинно проводитись згідно з вимогами по техніці безпеки.
14. Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності.

15. Необхідно дотримуватись об'ємів, вказаних в інструкції. Оптимальні результати будуть отримані при використанні каліброваних піпеток.
16. Не змішуйте реагенти різних серій і різних наборів, оскільки ці набори могли транспортуватись чи зберігатись при різних умовах.
17. Уникайте контакту зі *Стоп-розчином*, що містить 0,5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Це може викликати подразнення шкіри і опіки.
18. Деякі реагенти містять Proclin 300, BND і/або MIT в якості консервантів. При попаданні в очі або на шкіру, негайно промийте водою.
19. Щодо інформації відносно небезпечних речовин дивіться Паспорт Безпеки Матеріалів.
20. Хімічні речовини і приготовлені чи використані реагенти повинні бути оброблені відповідно до вимог по техніці безпеки.
21. Паспорт Безпеки Матеріалів доступний за запитом.

### 4 РЕАГЕНТИ

#### 4.1 Реагенти, які постачаються

1. **Мікротитраційні лунки:** 12 смужок по 8 лунок, покритих моноклональними анти-CA19-9 антитілами.
2. **Нульовий Стандарт**, 1 флакон, 3 мл, готовий до використання; Містить не-ртутний консервант.
3. **Стандарт (Стандарти 1-5):** 5 флаконів, 0,5 мл, готові до використання; Концентрації: 15-30-60-120-240 Од/мл. Містить не-ртутний консервант.
4. **Контроль Низький та Високий:** 2 флакони, 0,5 мл кожен, ліофілізовані; Значення і діапазони дивіться на етикетці флакона або паспорту якості. Містить не-ртутний консервант.
5. **Буфер для аналізів**, 1 флакон, 7 мл, готовий до використання; Містить не-ртутний консервант.
6. **Ферментний кон'югат**, 1 флакон, 14 мл, готовий до використання, Анти-CA19-9, кон'югований з пероксидазою хрому. Містить не-ртутний консервант.
7. **Розчин субстрату**, 1 флакон, 14 мл, готовий до використання. Тетраметилбензидин (ТМБ)
8. **Стоп-розчин**, 1 флакон, 14 мл, готовий до використання, Містить 0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Уникайте контакту зі *стоп-розчином*. Це може привести до пошкодження шкіри і опіків.
9. **Промивний Розчин**, 1 флакон, 30 мл (40X концентрат). Див. «Приготування реагентів»

**Примітка:** Додатково *Нульовий Стандарт* для розведення зразків наявний за запитом.

#### 4.2 Матеріали, що не постачаються, але необхідні

- Мікротитровий відкалібрований рідер (450 нм±10 нм).
- Відкалібровані регульовані точні мікропіпетки.
- Промокальний папір.
- Дистильована або деіонізована вода.
- Таймер.
- Логарифмічний графічний папір або ПЗ для обробки даних.

#### 4.3 Умови зберігання

При зберіганні при температурі 2-8 °C активність реагентів буде збережена до дати закінчення терміну придатності. Не використовуйте після цієї дати. Відкриті реагенти та лунки повинні зберігатись при 2-8 °C. Після відкриття мішечка із фольги треба знову його герметично закрити. Відкритий набір стабільний два місяці при зберіганні, як вказано вище.

#### 4.4 Підготовка реагентів

Перед використанням доведіть всі реагенти та потрібну кількість стрипів до кімнатної температури.

#### Контроль

Відновіть ліофілізований вміст з 0,5 мл дистильованої води та дайте постояти мінімум 10 хвилин. Перемішайте контроль кілька разів перед використанням.

**Примітка:** Для тривалого зберігання відновлені контроли слід поділити на порції та зберігати при -20 °C.

#### Промивний розчин

Додайте деіонізовану воду до 40x концентрованого Промивного Розчину. Розведіть 30 мл концентрованого Промивного Розчину з 1170 мл деіонізованої води до об'єму 1200 мл. Розведений Промивний Розчин стабільний впродовж 2 тижнів при КТ.

#### 4.5 Утилізація набору

Знищення набору повинно проводитись відповідно до вимог місцевого регулювання. Спеціальна інформація для цих продуктів вказана в Листі Даних Безпеки.

#### 4.6 Пошкоджені набори

При пошкодженні набору чи його компонентів необхідно повідомити в письмовій формі виробника впродовж одного тижня після отримання виробу. Окремі пошкоджені компоненти не слід використовувати. Вони повинні зберігатись до вирішення проблеми. Після цього вони повинні бути знищені відповідно до вимог місцевого регулювання.

#### 5 ЗАБІР І ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

У цьому дослідженні можна використовувати сироватку або плазму (ЕДТА, гепаринову або цитратну плазму).

Не використовувати гемолітичні, іктеричні чи ліпемічні зразки.

Увага: зразки, які містять азид натрію, не повинні використовуватись в аналізі.

##### 5.1 Забір зразків

###### Сироватка:

Проведіть забір крові венепункцією (напр. Sarstedt Monovette для сироватки); дозвольте крові згорнутись і відділіть сироватку, центрифугуючи при кімнатній температурі. Не центрифугуйте до повного згортання крові. Пацієнтам, які проходять терапію антикоагулянтами, може знадобитися більше часу для згортання крові.

###### Плазма:

Цільну кров слід збирати в центрифужні пробірки, що містять антикоагулянти (наприклад, Sarstedt Monovette з відповідним препаратом для плазми) та центрифугувати відразу ж після збору.

##### 5.2 Підготовка та зберігання зразків

Зразки повинні бути закриті і в такому вигляді можуть зберігатись при 2-8 °C до 5 днів перед дослідженням.

Для довшого зберігання (до 2 місяців) зразки повинні бути заморожені до -20 °C. Після відтавання зразки необхідно кілька разів перевернути перед дослідженням.

##### 5.3 Розведення зразків

Якщо при початковому аналізі зразок показує значення вище за найвищий стандарт, зразки можуть бути розведені 0 Стандартом і проаналізовані повторно.

Для вирахування концентрацій необхідно брати до уваги коефіцієнт розведення.

###### Приклад:

- Розведення 1:10: 10 мкл сироватки + 90 мкл 0 Стандарту (ретельно змішайте)
- Розведення 1:100: 10 мкл розведення а) 1:10 + 90 мкл 0 Стандарту (ретельно змішайте).

#### 6 ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

##### 6.1 Загальні зауваження

- Доведіть всі реагенти до кімнатної температури перед початком дослідження. Всі реагенти змішуйте без піноутворення.
- Після початку дослідження всі кроки повинні виконуватись без затримки.
- Використовуйте нові насадки для піпеток перед кожним використанням.
- Абсорбція залежить від температури і часу інкубації. Тому, перед початком дослідження необхідно прослідкувати, щоб все було готово: ковпачки зняті, реагенти приготовлені, лунки позначені і таке інше. Це дозволить проводити всі кроки за однакові інтервали часу.
- За загальним правилом ферментативна реакція прямо пропорційна часу і температурі інкубації.

##### 6.2 Процедура аналізу

Кожна процедура повинна включати калібрувальну криву.

- Закріпіть необхідну кількість мікротитрових лунок у штативі.
- Додайте по 50 мкл кожного Стандарту, Контролю та зразків у відповідні лунки кожен раз з новою насадкою.
- Внесіть в кожну лунку по 50 мкл Буферу для аналізу.
- Інкубуйте протягом 60 хвилин при кімнатній температурі.
- Видаліть вміст лунок.  
Промийте лунки 4 рази розведеним Промивним Розчином (400 мкл на лунку). Видалити з лунок залишки рідини на абсорбуючий папір.

#### Важлива примітка:

На чутливість та точність цього аналізу помітно впливає правильність виконання процедури промивки!

- Додайте по 100 мкл Ферментного Кон'югату в кожну лунку.
- Інкубуйте 60 хвилин при кімнатній температурі.
- Вилийте різко вміст лунок.  
Промийте лунки 4 рази розведеним Промивним Розчином (400 мкл). Переверніть лунки на абсорбуючий папір для видалення залишків.
- Додайте 100 мкл Розчину Субстрату в кожну лунку.
- Інкубуйте 30 хвилин при кімнатній температурі.
- Зупиніть ферментативну реакцію, додавши 100 мкл Стоп-Розчину в кожну лунку.
- Визначте абсорбцію (ОЩ) кожної лунки при 450±10 нм за допомогою мікротитрового планшет-рідера. Рекоменується проводити зчитування лунок **впродовж 10 хвилин** після додавання Стоп-Розчину.

#### 6.3 Розрахунок результатів

- Визначте значення середньої абсорбції для кожного набору стандартів, зразків і контролів.
- Побудуйте стандартну криву, відкладаючи середню абсорбцію для кожного стандарту на У-осі проти відповідних концентрацій на Х-осі.
- Використовуючи значення середньої абсорбції для кожного зразка, визначте відповідну концентрацію зі стандартної кривої.
- Автоматичні дані, комп'ютерні програми, кубічний сплін, 4 PL або логарифмічний також дають хороші результати.
- Концентрація зразків може зчитуватись з стандартної кривої. Зразки з концентрацією вище, чим концентрація найвищого стандарту необхідно розбавити або вважати як > 240 Од/мл. При вирахуванні концентрації цей фактор розбавлення необхідно враховувати.

##### 6.3.1 Приклад типової калібрувальної кривої

Наступні дані наведені тільки для демонстрації і **не можуть** використовуватись для отримання результатів під час аналізу.

Стандарти	Оптичні одиниці
Стандарт 0 (0 О/мл)	0.04
Стандарт 1 (15 О/мл)	0.26
Стандарт 2 (30 О/мл)	0.44
Стандарт 3 (60 О/мл)	0.78
Стандарт 4 (120 О/мл)	1.30
Стандарт 5 (240 О/мл)	1.99

#### 7 ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ НОРМИ

Рекоменується, щоб кожна лабораторія встановлювала власні нормальні і патологічні значення.

У дослідженні, проведеному на зразках нормальних здорових дорослих пацієнтів, використовуючи набір DRG CA19-9 ІФА, були отримані наступні дані.

Population	Valid N	5 <sup>th</sup> Percentile (U/mL)	95 <sup>th</sup> Percentile (U/mL)
Males	32	0.69	20.84
Females	39	1.30	13.38

За результатами досліджень рекомендоване значення Cut-off становить 37 Од/мл для диференціювання між інвазивним та доброякісним IPMN при хронічному панкреатиті (10, 12, 13). Інші дослідження рекомендують значення 70-75 О/мл для диференціювання доброякісних та злоякісних патологій (14,15).

Результати аналізу не можуть бути єдиною причиною для терапевтичного висновку. Результат повинен корелювати з іншими клінічними дослідженнями і діагностичними тестами.

#### 8 КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Рекоменується використовувати контролі відповідно до державних і місцевих правил. Використання контролю дає можливість щоденної оцінки достовірності результатів. Використовуйте контролі як нормального рівня так і патологічного.

Контролі і відповідні результати QC лабораторії вказані в QC сертифікаті, що поставляється з набором. Величини, вказані в даному сертифікаті, відповідають лоту набору і повинні використовуватись для порівняння результатів.

Також рекомендується використовувати національні і міжнародні програми оцінки якості для підтвердження достовірності результатів. Використовуйте відповідний статистичний метод для аналізу величин контролю. Якщо результати аналізу не попадають у встановлені межі матеріалів контролю, результати є не достовірними. В такому випадку перевірте наступні дані: пристрої піпетування і вимірювання часу; фотометр; дати придатності реагентів, умови зберігання і інкубації, методи аспірації і промивання. Якщо не знайдено помилок, зверніться до Вашого постачальника.

## 9 РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

### 9.1 Динамічний діапазон аналізу

Діапазон аналізу знаходиться між 0.2 - 240 О/мл.

### 9.2 Специфічність антитіл (перехресна реактивність)

Перехресна реакція аналізу не відома.

### 9.3 Чутливість

Аналітична чутливість визначена як середнє за мінусом 2 стандартних відхилень (20 реплік) аналізу стандарту 0 і склала 0.20 О/мл.

### 9.4 Відтворюваність

#### 9.4.1 Варіативність в аналізі

Зразок	К-сть	Середнє, О/мл	КВ, %
1	20	27.7	8.4
2	20	47.7	9.2
3	20	74.0	9.6

#### 9.4.2 Варіативність між аналізами

Сироватка	К-сть	Середнє, О/мл	КВ, %
1	6	6.0	8.1
2	6	10.4	1.9
3	6	15.0	8.7

### 9.5 Відновлення

Зразки були насичені шляхом додавання розчинів СА19-9 з відомими концентраціями у співвідношенні 1:1.

Відновлення у % розраховується шляхом множення співвідношення виміряних та очікуваних величин на 100 (очікуване значення = (ендогенний СА19-9 + доданий СА19-9)/2; через розбавлення сироватки 1:2 з матеріалом насичення).

	Sample 1	Sample 2	Sample 3
Concentration [U/mL]	22.6	22.1	17.6
Average Recovery	91.9	87.7	91.1
Range of Recovery [%]	from	87.4	85.5
	to	95.9	91.6

### 9.6 Лінійність

	Sample 1	Sample 2	Sample 3
Concentration [U/mL]	82.7	25.8	41.7
Average Recovery	100.8	109.7	102.6
Range of Recovery [%]	from	93.1	103.9
	to	108.5	114.7

## 10 ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

Надійні та відтворювані результати будуть отримані коли процедура дослідження проводитиметься з повним розумінням цієї інструкції, з дотриманням вимог професійної лабораторної практики.

Будь-яке неправильне поводження зі зразками або зміна цього дослідження може вплинути на результати.

### 10.1 Перехресно діючі речовини

Не впливають на результати гемоглобін (до 4 мг/мл), білірубін (до 0.125 мг/мл) і тригліцериди (до 30 мг/мл).

Набір містить реагенти для мінімізації інтерференції НАМА та гетерофільних антитіл. Проте, надзвичайно високі титри НАМА або гетерофільні антитіла можуть заважати результатам тестів.

### 10.2 Вплив лікарських засобів

На сьогодні не відомо жодних речовин (лікарських засобів), що впливають на вимірювання СА19-9 в зразку.

### 10.3 «Хук-ефект» високої дози

Не спостерігалось хук-ефекту в цьому дослідженні до 3840 О/мл СА19-9.

## 11 ПРАВОВІ АСПЕКТИ

### 11.1 Достовірність результатів

Дослідження необхідно проводити точно у відповідності з інструкцією виробника. Також користувачу необхідно слідувати правилам техніки безпеки, національним стандартам. Особливо це стосується використання контрольних реагентів.

Результати дослідження вважаються достовірними, якщо контролю знаходяться в указаних межах і якщо інші параметри дослідження також відповідають характеристикам процедури.

### 11.2 Терапевтичні висновки

Терапевтичні висновки не повинні базуватись на результатах одного дослідження і повинні враховувати всю клінічну картину пацієнта.

Тільки якщо лабораторні дані повністю збігаються з клінічною картиною, можна встановлювати терапевтичні висновки для пацієнта.

### 11.3 Відповідальність

Будь-які зміни дослідження чи зміна компонентів різних лотів може негативно відобразитись на результатах дослідження. Такі зміни та модифікації не можуть бути приводом для заміни набору.

Будь-які пошкодження набору при транспортуванні не відносяться до відповідальності виробника.



### ВИРОБНИК

DRG Інструментс ГмБХ  
вул. Фраунберг 18, 35039  
м. Марбург, Німеччина  
Тел: +49(0)64 21/170 00  
Факс: +49(0)64 21/17 00 50  
[www.drg-diagnostics.de](http://www.drg-diagnostics.de)  
e-mail: [drq@drq-diagnostics.de](mailto:drq@drq-diagnostics.de)



### УПОВНОВАЖЕНИЙ ПРЕДСТАВНИК

ТОВ «ДІАМЕБ ТРЕЙД»  
вул. Симона Петлюри, 25  
м. Івано-Франківськ, 76014  
тел.: +38 (0342) 775 122  
факс: +38 (0342) 775 123  
e-mail: [info@diameb.ua](mailto:info@diameb.ua)  
[www.diameb.ua](http://www.diameb.ua)

