



**НАБІР РЕАГЕНТІВ
ДЛЯ ІМУНОФЕРМЕНТНОГО ВИЗНАЧЕННЯ
АНТИГЕНУ MUC1 (M20)
В СИРОВАТЦІ (ПЛАЗМІ) КРОВІ
«MUC1 (M20)-ІФА»**

НОМЕР ЗА КАТАЛОГОМ **REF** **K228**

ТУ У 24.4-36038442-001:2011



На 96 визначень



Для ін вітро діагностики

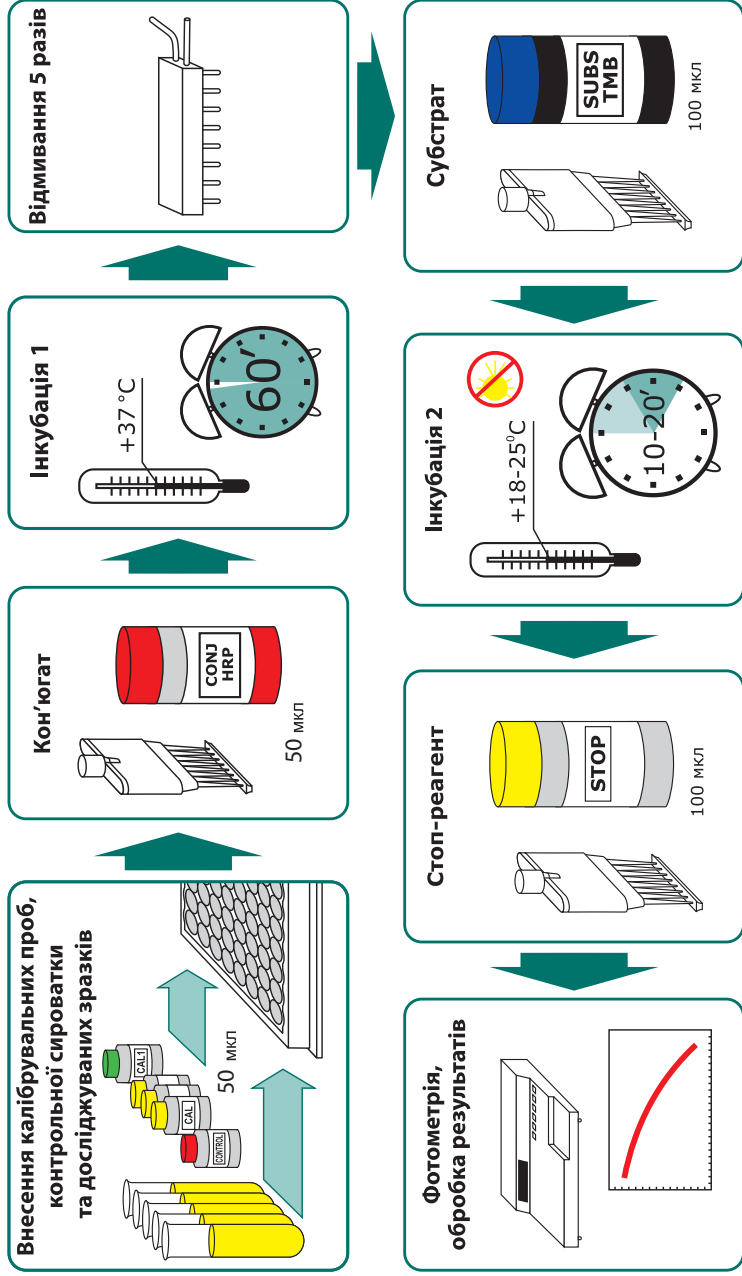


ТОВ «ХЕМА» 03179 м.Київ, а/с 49
вул. Академіка Єфремова, 23
+38 (044) 422-62-16
info@xema.com.ua
www.xema-medica.com

Система управління якістю:



Схема проведення аналізу



K228

ЗМІСТ

1. ПРИЗНАЧЕННЯ	2
2. ПРИНЦИП РОБОТИ НАБОРУ	2
3. АНАЛІТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ	3
4. СКЛАД НАБОРУ	4
5. ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ	5
6. ОБЛАДНАННЯ ТА МАТЕРІАЛИ, ЯКІ НЕОБХІДНІ ПІД ЧАС РОБОТИ З НАБОРОМ	5
7. ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ ДЛЯ АНАЛІЗУ	5
8. УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ ТА ЕКСПЛУАТАЦІЇ НАБОРУ	6
9. ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ	7
10. ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ ТА НОРМИ	8
11. ЛІТЕРАТУРА	8

ІНСТРУКЦІЯ З ВИКОРИСТАННЯ НАБОРУ РЕАГЕНТІВ ДЛЯ ІМУНОФЕРМЕНТНОГО ВИЗНАЧЕННЯ АНТИГЕНУ MUC1 (M22) У СИРОВАТЦІ (ПЛАЗМІ) КРОВІ «MUC1 (M20)-ІФА»

1. ПРИЗНАЧЕННЯ

1.1. Набір реагентів «MUC1 (M20)-ІФА» призначений для кількісного визначення концентрації антигену MUC1 (M20) у сироватці (плазмі) крові методом твердофазного імуноферментного аналізу.

1.2. Антиген MUC1 представляє собою глікопротеїн гетерогенного складу з молекулярною масою 300-450 кДа. Рівень MUC1 в крові підвищується при захворюванні на рак молочної залози (PMЗ). Визначення MUC1 у сироватці або плазмі крові використовується для моніторингу PMЗ, оцінки ефективності лікування і виявлення рецидиву або метастазів. Даний набір виготовлений за принципом “гомогенного сендвіча” – для «захоплення» та «прояву» антигену в ньому використано одне і теж моноклональне антитіло X19, що виявляє унікальний імунодомінантний пептидний повтор TRPAPGS глікопротеїн MUC1; аналогічний формат має тест-система MCA (Roche). Подібні набори більш чутливі, ніж тест-системи, розроблені по принципу “гетерогенного сендвіча” (наприклад «CA15.3 (M12)-ІФА», кат.№ K226 «ХЕМА») або конкурентного зв'язування (наприклад «MUC1 (M20)-ІФА», кат.№ K228 «ХЕМА», або BR27.29, Fujirebio), але можуть давати завищені значення в окремих індивідів, особливо при наявності доброякісних кістозних утворень. В зв'язку з цим, для оцінки ефективності хірургічного лікування рекомендуємо визначати антиген MUC1, використовуючи всі три тест-системи (M12, M20 и M22) до і після резекції пухлини. Для подальшого післяопераційного моніторингу доцільно використовувати тільки одну тест-систему, що показала:

- 1) найбільший післяопераційний спад в %;
- 2) при значеннях, що порівнюються для цього показника, - більш високе значення концентрації щодо рекомендованого cut-off.

В разі відсутності обстеження пацієнта до операції (наприклад, при відстроченому рецидиві), ми рекомендуємо динамічне визначення всіх трьох маркерів (M12, M20 и M22). Крім PMЗ, підвищення рівня MUC1 в крові може спостерігатися при раку легенів, яєчників, передміхурової залози, шийки матки і шлунково-кишкового тракту. Підвищення вмісту MUC1 може розвиватися і при деяких доброякісних процесах: доброякісних пухлинах молочної залози та яєчників, ендометріозі, гепатиті, цирозі печінки, фіброзі легенів. Вагітність та лактація також можуть приводити до підвищеного рівня MUC1.

2. ПРИНЦИП РОБОТИ НАБОРУ

Визначення антигену MUC1 (M20) ґрунтується на використанні конкурентного імуноферментного аналізу. На внутрішній поверхні лунок планшета іммобілізований антиген MUC1. Антиген зі зразка конкурує з мобілізованим антигеном за зв'язування з кон'югатом мишачих моноклональних антитіл проти антигену MUC1 людини з пероксидазою. В результаті утворюється зв'язаний з твердою фазою комплекс, що містить пероксидазу. Під час інкубації з розчином субстрату тетраметилбензидину (ТМБ) рідина в лунках забарвлюється. Інтенсивність забарвлення обернено пропорційна концентрації антигену MUC1 (M20) в досліджуваному зразку. Концентрацію антигену MUC1 (M20) в досліджуваних зразках визначають за калібрувальним графіком залежності оптичної густини від змісту антигену MUC1 (M20) в калібрувальних пробах.

3. АНАЛІТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфічність.

Використання високоочищеного препарату дозволяє досягти високої специфічності аналізу.

3.2. Відтворюваність.

Коефіцієнт варіації результатів визначення вмісту MUC1 (M20) в тому самому зразку сироватки (плазми) крові з використанням Набору «MUC1 (M20) -ІФА» не перевищує 8.0%.

3.3. Лінійність.

Залежність концентрації MUC1 (M20) в зразках сироватки (плазми) крові при розведенні їх сироваткою (плазмою) крові, що не містить MUC1 (M20), має лінійний характер в діапазоні концентрацій 2.5-50 Од/мл і становить $\pm 10.0\%$.

3.4. Точність.

Даний аналітичний параметр перевіряється тестом на «відкриття» - відповідність вимірної концентрації MUC1 (M20) підготовленої проби, отриманої шляхом змішування рівних об'ємів контрольної сироватки і калібрувальної проби 5 Од/мл. Відсоток «відкриття» становить 90-110%.

3.5. Чутливість.

Мінімальна достовірно визначена Набором «MUC1 (M20)-ІФА» концентрація MUC1 (M20) в сироватці (плазмі) крові не перевищує 0.5 Од/мл.

4. СКЛАД НАБОРУ

Код компонента	Символ	Найменування	К-ть	Од	Опис
1 P228Z	SORB MTP	Планшет 96-луНКовий полістироловий, стрипований, готовий до використання	1	шт.	-
2 C228Z	CAL 1-6	Калібрувальні проби на основі фосфатного буфера (рН 7.2-7.4), що містять відомі кількості антигену MUC1 (M20) – 0 ; 2.5 ; 5 ; 10 ; 25 ; 50 Од/мл , готові до використання (калібрувальна проба C1 – 6 мл, інші – по 0.8 мл кожна)	6	шт.	прозорі рідини синього кольору (калібрувальна проба C1 – прозора безбарвна рідина)
3 Q228Z	CONTROL	Контрольна сироватка на основі сироватки крові людини з відомим вмістом антигену MUC1 (M20), готова до використання (0.8 мл)	1	шт.	прозора безбарвна рідина
4 T228Z	CONJ HRP	Кон'югат , готовий до використання (7 мл)	1	шт.	прозора рідина червоного кольору
5 R055Z	SUBS TMB	Розчин субстрату тетраметилбензидину (ТМБ), готовий до використання (14 мл)	1	шт.	прозора безбарвна рідина
6 S008Z	BUF WASH 26X	Концентрат розчину для відмивання , 26х-кратний (22 мл)	1	шт.	прозора безбарвна рідина
7 R050Z	STOP	Стоп-реагент , готовий до використання (14 мл)	1	шт.	прозора безбарвна рідина
8 N003	-	Плівка для заклеювання планшета	2	шт.	-
9 K228I	-	Інструкція з використання Набору реагентів «MUC1 (M20)-ІФА»	1	шт.	-
10 K228Q	-	Паспорт контролю якості Набору реагентів «MUC1 (M20)-ІФА»	1	шт.	-

5. ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ

5.1. Всі компоненти Набору, за винятком стоп-реагенту (5,0% розчин сірчаної кислоти), у концентраціях, що використовуються, є нетоксичними.

Розчин сірчаної кислоти має подразнюючу дію; при роботі з ним потрібно уникати його розбризкування та потрапляння на шкіру і слизові оболонки. При потраплянні на шкіру і слизові оболонки уражену ділянку слід промити великою кількістю проточної води.

5.2. При роботі з Набором слід дотримуватись НПАОП 85.14-1.09-81. Правила влаштування, техніки безпеки, виробничої санітарії, протиепідемічного режиму і особистої гігієни при роботі в лабораторіях (відділеннях, відділах) санітарно-епідеміологічних установ системи Міністерства охорони здоров'я СРСР (НАОП 9.1.50-1.09-81).

5.3. При роботі з Набором необхідно користуватися одноразовими гумовиками або пластиковими рукавичками, оскільки зразки крові людини необхідно розглядати як потенційно інфікований матеріал, здатний тривалий час зберігати і передавати віруси ВІЛ, гепатиту або будь-який інший збудник вірусної інфекції.

5.4. Не використовуйте Набір з ознаками пошкодження.

6. ОБЛАДНАННЯ ТА МАТЕРІАЛИ, ЯКІ НЕОБХІДНІ ПІД ЧАС РОБОТИ З НАБОРОМ

- фотометр вертикального сканування, що дозволяє вимірювати оптичну густину розчину в кюветі з довжиною оптичного шляху 10 мм, має швидкість 600-800 об/хв
- дозатори зі змінними наконечниками, що дозволяють відбирати об'єми в діапазоні 25–250 мкл;
- циліндр мірний об'ємом 1000 мл;
- вода дистильована;
- рукавички гумові або пластикові;
- папір фільтрувальний

7. ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ ДЛЯ АНАЛІЗУ

7.1. Перед проведенням дослідження компоненти Набору і досліджувані зразки сироватки (плазми) крові мають бути витримані при кімнатній температурі (+18...+25°C) не менше 30 хв.

7.2. Підготовка планшета.

Відкрити пакет із планшетом і встановити в рамку необхідну кількість стрипів. Стрипи, що залишилися невикористаними, ретельно заклеїти плівкою для заклеювання планшета з метою запобігання впливу вологи на лунки планшета. Планшет зберігати при температурі +2...+8°C протягом терміну придатності Набору.

7.3. Приготування розчину для відмивання.

Вміст флакона з концентратом розчину для відмивання (22 мл), перенести в мірний циліндр об'ємом 1000 мл, додати 550 мл дистильованої води та ретельно перемішати. В разі часткового використання Набору слід відібрати відповідну частину концентрату розчину для відмивання та розвести дистильованою водою в 26 разів (до 1 мл концентрату розчину для відмивання додати 25 мл дистильованої води).

8. УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ ТА ЕКСПЛУАТАЦІЇ НАБОРУ

8.1. Набір реагентів «MUC1 (M20)-ІФА» потрібно зберігати в упаковці підприємства-виробника при температурі +2...+8°C протягом всього терміну придатності, який вказаний на пакуванні Набору.

Допускається зберігання (транспортування) Набору при температурі до +25 °C не довше 15 діб. Не допускається заморожування цілого Набору.

Допускається однократне заморожування (-20°C) калібрувальних проб та контрольної сироватки.

8.2. Набір розрахований на проведення аналізу в двох повторах 41 досліджуваного зразка, 6 калібрувальних проб та 1 контрольної сироватки (всього 96 визначень).

8.3. У випадку часткового використання Набору, компоненти необхідно зберігати в такий спосіб:

- стрипи, що залишилися невикористаними, необхідно ретельно заклеїти плівкою для заклеювання планшета та зберігати при температурі +2...+8°C протягом всього терміну придатності Набору;
- кон'югат, субстрат, стоп-реагент після відкриття флаконів необхідно зберігати при температурі +2...+8°C протягом всього терміну придатності Набору;
- калібрувальні проби та контрольну сироватку після відкриття флаконів необхідно зберігати при температурі +2...+8°C не довше 2 місяців;
- концентрат розчину для відмивання, що залишився невикористаним, необхідно зберігати при температурі +2...+8°C протягом всього терміну придатності Набору;
- готовий розчин для відмивання необхідно зберігати при кімнатній температурі (+18...+25°C) не довше 15 діб або при температурі +2...+8°C не довше 45 діб;

Важливе зауваження: після використання реагенту закривайте флакон кришкою. Закривайте кожний флакон відповідною кришкою.

Для проведення аналізу не слід використовувати гемолізовану, непрозору, сироватку (плазму) крові, а також сироватку (плазму) крові, що містить азид натрію. У разі проведення аналізу не в день взяття крові, сироватку (плазму) слід зберігати при температурі -20°C. Не допускається повторне заморожування/розморожування зразків. Допускається аналіз сироваток, зберігання яких здійснювалось при температурі +2...+8°C не довше 7 діб.

8.5. Дослідження зразків сироватки (плазми) крові людей, що отримували з метою діагностики або терапії препарати, до складу яких входять мишачі антитіла, може давати помилкові (підвищені) значення.

8.6. Під час використання Набору для проведення декількох незалежних серій аналізів слід мати на увазі, що для кожного визначення необхідна побудова нового калібрувального графіка та використання контрольної сироватки.

8.7. Не використовуйте компоненти з інших наборів або з аналогічних наборів інших партій.

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	Помістіть в рамку необхідну кількість стрипів – із розрахунку на кількість досліджуваних зразків в двох повторах та 14 лунок для калібрувальних проб та контрольної сироватки.
2	Якщо передбачувана концентрація MUC1 (M20) в досліджуваному зразку перевищує 50 О /мл, його слід додатково розвести, використовуючи калібровану пробу С1. Використання інших буферів і реагентів для розведення зразків може призвести до помилкових результатів. Примітка: в такому випадку для отримання надійних результатів рекомендується використовувати кілька послідовних розведень досліджуваного зразка сироватки (плазми) крові.
3	Внесіть у відповідні лунки в двох повторах по 50 мкл калібрувальної проби та контрольної сироватки. В лунки, що залишилися, внесіть в двох повторах по 50 мкл досліджуваних зразків сироватки (плазми) крові. Внесення калібрувальних проб, контрольної сироватки та досліджуваних зразків, необхідно провести протягом 15 хвилин.
4	Внесіть у всі лунки по 50 мкл кон'югату.
5	Обережно перемишайте планшет круговими рухами на горизонтальній поверхні плівкою для заклеювання планшета. Інкубуйте планшет протягом 60 хвилин при температурі +37°C.
6	По закінченні інкубації видаліть вміст лунок і відмийте лунки 5 разів. При кожному відмиванні додавайте в усі лунки по 250 мкл розчину для відмивання (див. п. 7.3), струшуйте планшет круговими рухами по горизонтальній поверхні, а потім видаліть рідину за допомогою вакууму або витршуванням. По закінченні відмивання необхідно ретельно видалити залишки рідини з лунок на фільтрувальний папір.
7	Внесіть у всі лунки по 100 мкл розчину субстрату тетраметилбензидину. Внесення розчину субстрату тетраметилбензидину в лунки необхідно провести протягом 2-3 хв. Інкубуйте планшет в темряві при кімнатній температурі (+18...+25°C) протягом 10-20 хвилин в залежності від ступеня розвитку синього забарвлення.
8	Внесіть в усі лунки з тією же швидкістю і у тій же послідовності, як і розчин субстрату тетраметилбензидину, по 100 мкл стоп-реагенту , при цьому вміст лунок забарвлюється в яскраво-жовтий колір.
9	Визначте величину оптичної густини (ОГ) вмісту лунок планшета на фотометрі вертикального сканування при довжині хвилі 450 нм. Вимірювання ОГ вмісту лунок планшета необхідно провести протягом 15 хв. після внесення стоп-реагенту. Бланк фотометра виставляйте за повітрям.
10	Побудуйте у напілогарифмічних координатах калібрувальний графік: вісь абсцис (x) – десятиковий логарифм концентрації MUC 1 (M20) у калібрувальних пробах (Од/мл), вісь ординат (y) – оптична густина калібрувальних проб (ОГ 450 нм). Для алгоритму обчислення (апроксимації) калібрувального графіка використовуйте інтервальний (відрізково-лінійний, «від точки до точки») метод. Прирівняйте концентрацію калібрувальної проби С1 до нескінченно малої величини, наприклад, 0,001 Од/мл.
11	Визначте за калібрувальним графіком вміст MUC1 (M20) в досліджуваних зразках. У разі попереднього розведення досліджуваного зразка (див. п.2), отриманий результат необхідно домножити на фактор розведення

10. ОЧІКУВАННІ ЗНАЧЕННЯ ТА НОРМИ

10.1. Ґрунтуючись на результатах досліджень, проведених ТОВ «ХЕМА», рекомендуємо скористатися нормами, наведеними нижче. Разом з тим, відповідно до правил GLP (Гарної лабораторної практики), кожна лабораторія повинна сама визначити параметри норми, характерні для обстежуваної популяції.

Примітка. значення концентрацій MUC1 (M20) в досліджуваних зразках, які знаходяться нижче межі чутливості Набору (0.5 Од/мл), а також перевищують значення верхньої калібрувальної проби (50 Од/мл), належить проводити в наступній формі: «в досліджуваному зразку X концентрація MUC1 (M20) нижча за 0.5 Од/мл» або «вища за 50 Од/мл».

Досліджувана група	Одиниці, Од/мл	
	Нижня межа	Верхня межа
Чоловіки	-	10.0
Жінки	-	10.0
Вагітні:		
1-й триместр	-	12
2-й триместр	2.0	14
3-й триместр	2.0	18
В період лактації	-	16

11. ЛІТЕРАТУРА

- McGuire WL, Tandon AK, Allred D, Chamnes GC, Clark GM. How to use prognostic factors in axillary node negative breast cancer patients. J Natl Cancer Inst 1990; 82:1006-7.
- Nicholson S, Richard J, Sainsbury C, et al. Epidermal growth factor receptor (EGFr): results of a 6-year follow up study in operable breast cancer with emphasis on the node-negative subgroup. Br J Cancer 1991; 63:146-50.
- Somerville JE, Clarke LA, Biggart JD. C-erb B-2 overexpression and histological type of in-situ and invasive breast carcinoma. J Clin Pathol 1992;45:16-20.
- Ueronese S, Gambacorta M. Detection of Ki-67 rate in breast cancer. AM J Clin Pathol 1991; 95:30-4.
- Lotnick M, Pavesi F, Scarabelli M. Tumor associated antigens CA15-3 and CA125 in ovarian cancer. Int. J. Biolog Markers 1991; 6:115

З питань якості Набору «**MUC1 (M20)-ІФА**»

звертатися в ТОВ «ХЕМА» за адресою:

м. Київ, вул. Академіка Єфремова, 23














тел./факс: + 38 (044) 422-62-16

email: info@xema.com.ua

www.xema-medica.com

Начальник відділу з контролю якості ТОВ «ХЕМА»

Коваленко Еліна Володимирівна

Символ	Значення символу
	Виробник
	Номер за каталогом
	Номер партії
	Використати до
	Обмеження температури
	Тільки для ін вітро діагностики
	Увага!
	Інструкція з використання
	Планшет
	Калібрувальні проби
	Контрольна сироватка
	Кон'югат
	Розчин субстрату тетраметилбензидину
	Концентрат розчину для відмивання
	Стоп-реагент
	ІФА-буфер

Шановний клієнт!

Якщо в процесі роботи з нашими Наборами Вам знадобляться пластикові ванночки для рідких реагентів, одноразові наконечники для дозаторів або додаткові об'єми реагентів (концентрат розчину для відмивання, ІФА-буфер, розчин тетраметилбензидину, стоп-реагент), що входять до складу Набору, просимо Вас звернутися до постачальника продукції ТОВ «ХЕМА» у вашому регіоні.

Всі вказані матеріали надаються безкоштовно, в необхідній для проведення дослідження кількості.

Перелік Наборів реагентів для діагностики інфекційних захворювань виробництва ТОВ «ХЕМА»

№ за каталогом	Найменування
K009	«HBsAg-ІФА»
K110	«антиВГС-ІФА»
K021	«GalMAg-ІФА»
K101	«Toxoplasma IgG-ІФА»
K101M	«Toxoplasma IgM-ІФА»
K102	«Rubella IgG-ІФА»
K102M	«Rubella IgM-ІФА»
K103	«Cytomegalovirus IgG-ІФА»
K103M	«Cytomegalovirus IgM-ІФА»
K104	«HSV 1,2 IgG-ІФА»
K104M	«HSV 1,2 IgM-ІФА»
K105	«Chlamydia IgG-ІФА»
K105M	«Chlamydia IgM-ІФА»
K106	«Mycoplasma IgG-ІФА»
K106M	«Mycoplasma IgM-ІФА»
K111	«Treponema pallidum-ІФА»
K111G	«Treponema pallidum IgG-ІФА»
K111M	«Treponema pallidum IgM-ІФА»
K112	«антиВІЛ І(0), ІІ/р24-ІФА»
K119	«Helicobacter pylori IgG-ІФА»
K121	«Aspergillus IgG-ІФА»
K126	«Ureaplasma IgG-ІФА»
K171	«анти-Giardia lamblia-ІФА»

Номер гарячої лінії технічної підтримки Клієнтів:

0 800 50 29 62

Усі дзвінки за номером гарячої лінії безкоштовні з будь-якого мобільного або стаціонарного телефону на всій території України.

Чекаємо Ваших відгуків та пропозицій за адресою:
ТОВ «Хема», тел.: +38 (044) 422-62-16;
03179, м. Київ, вул. Академіка Єфремова, 23;
e-mail: info@xema.com.ua

