



Instruction for use



**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
НАБОРА РЕАГЕНТОВ
ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
АНТИГЕНА MUC1 (M20)
В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ**

«MUC1 (M20)-ИФА»

**A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY
FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION
OF MUC1 (M20) IN HUMAN BLOOD SERUM OR PLASMA**

MUC1 (M20) EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF K228**

ТУ № 9398-033-18619450-2007

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
№ ФСР 2008/02810 от 11 июня 2008 года



For 96 determinations



Для *ин vitro* диагностики



XEMA Co., Ltd.

The 9-ya Parkovaya str., 48

105043 Moscow, Russia

Tel./fax: +7(495) 510-57-07

e-mail: redkin@xema-medica.com

internet: www.xema-medica.com



Authorized Representative in EU:

Polmed.de

Steinacker 20, D-73773

Aichwald, Germany

e-mail: info@polmed.de

СОДЕРЖАНИЕ

| | |
|---|---|
| 1. НАЗНАЧЕНИЕ | 2 |
| 2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА | 3 |
| 3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ | 3 |
| 4. СОСТАВ НАБОРА | 4 |
| 5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ | 5 |
| 6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ | 5 |
| 7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА | 5 |
| 8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА | 6 |
| 9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА | 7 |
| 10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ | 8 |
| 11. ЛИТЕРАТУРА | 8 |

CONTENT

| | |
|------------------------------------|----|
| 1. INTENDED USE | 9 |
| 2. SUMMARY AND EXPLANATION | 9 |
| 3. PRINCIPLE OF THE TEST | 10 |
| 4. WARNINGS AND PRECAUTIONS | 10 |
| 5. KIT COMPONENTS | 11 |
| 6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE | 12 |
| 7. TEST PROCEDURE | 12 |
| 8. QUALITY CONTROL | 14 |
| 9. CALCULATION OF RESULTS | 14 |
| 10. EXPECTED VALUES | 15 |
| 11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS | 15 |
| 12. LITERATURE | 15 |

Инструкция составлена Руководителем службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА»,
к. б. н. Д. С. Кострикиным

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИГЕНА MUC1 (M20) В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «MUC1 (M20)-ИФА»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «MUC1 (M20)-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации антигена MUC1 (M20) в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Антиген MUC1 представляет собой гликопротеин гетерогенного состава с молекулярной массой 300-450 кДа. Уровень MUC1 в крови повышается при раке молочной железы (РМЖ). Определение MUC1 в сыворотке или плазме крови используется для мониторинга РМЖ, оценки эффективности лечения и выявления рецидива или метастазов. Данный набор сделан по принципу конкурентного иммуноанализа – в нем использовано одно моноклональное антитело X19, выявляющее уникальный иммунодоминантный пептидный повтор TRPAPGS гликопротеина MUC1. Данное антитело связывает нанесенный на поверхность микропланшет природный очищенный муциновый антиген, выделенный из опухоли молочной железы. Подобные наборы (например BR27.29, разработанный Biomira) более специфичны в определении опухолевой формы антигена MUC1, чем тест-системы, сделанные по принципу «сэндвича» (например, «CA15.3 (M12)-ИФА», кат.№ K226 «ХЕМА»). Вместе с тем, учитывая крайне высокую гетерогенность опухолевого антигена MUC1, для оценки эффективности хирургического лечения рекомендуем определять антиген MUC1, используя все три тест-системы (M12, M20 и M22) до и после резекции опухоли. Для дальнейшего послеоперационного мониторинга целесообразно использовать только одну тест-систему, показавшую:

- 1) наибольший послеоперационный спад в %;
- 2) при сравнимых значениях этого показателя – более высокое значение концентрации относительно рекомендуемого cut-off.

Если больная не была обследована до операции (например, при отсроченном рецидиве), рекомендуем динамическое определение всех трех маркеров (M12, M20 и M22). Кроме РМЖ, повышение уровня MUC1 в крови может наблюдаться при раке легких, яичников, предстательной железы, шейки матки и желудочно-кишечного тракта. Повышение содержания MUC1 может развиваться и при некоторых доброкачественных процессах: доброкачественных опухолях молочной железы и яичников, эндометриозе, гепатите, циррозе печени, фиброзе легких. Беременность и лактация также могут приводить к повышению уровня MUC1.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение антигена MUC1 (M20) основано на использовании конкурентного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизован антиген MUC1. Антиген из образца конкурирует с иммобилизованным антигеном за связывание с конъюгатом мышиных моноклональных антител к антигену MUC1 человека с пероксидазой. В результате образуется связанный с пластиком «сэндвич», содержащий пероксидазу. Во время инкубации с раствором субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) происходит окрашивание растворов в лунках. Интенсивность окраски обратно пропорциональна концентрации антигена MUC1 (M20) в исследуемом образце. Концентрацию антигена MUC1 (M20) в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания антигена MUC1 (M20) в калибровочных пробах.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность.

Использование высокоочищенного препарата позволяет достичь высокой специфичности анализа

3.2. Воспроизводимость.

Коэффициент вариации результатов определения содержания MUC1 (M20) в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «MUC1 (M20)-ИФА» не превышает 8,0 %.

3.3. Линейность.

Зависимость концентрации MUC1 (M20) в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей MUC1 (M20), имеет линейный характер в диапазоне концентраций 2,5–50 Ед/мл и составляет $\pm 10,0$ %.

3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации MUC1 (M20) предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 5 Ед/мл. Процент «открытия» составляет 90–110 %.

3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «MUC1 (M20)-ИФА» концентрация MUC1 (M20) в сыворотке (плазме) крови не превышает 0,5 Ед/мл.

4. СОСТАВ НАБОРА

| Код компонента | Символ | Наименование | Кол-во | Ед. | Описание |
|----------------|--------------|---|--------|-----|---|
| 1 P228Z | SORB MTP | Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию | 1 | шт. | - |
| 2 C228Z | CAL 1-6 | Калибровочные пробы на основе фосфатного буфера (рН 7.2-7.4), содержащие известные количества антигена MUC1 (M20) – 0; 2.5; 5; 10; 25; 50 Ед/мл , готовы к использованию (калибровочная проба 0 Ед/мл – 6 мл, остальные – по 0.8 мл каждая) | 6 | шт. | прозрачные жидкости синего цвета (калибровочная проба 0 – прозрачная бесцветная жидкость) |
| 3 Q228Z | CONTROL | Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием антигена MUC1 (M20), готова к использованию (0.8 мл) | 1 | шт. | прозрачная бесцветная жидкость |
| 4 T228Z | CONJ HRP | Конъюгат , готов к использованию (6 мл) | 1 | шт. | прозрачная жидкость красного цвета |
| 5 R055Z | SUBS TMB | Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) , готов к использованию (11 мл) | 1 | шт. | прозрачная бесцветная жидкость |
| 6 S008Z | BUF WASH 21X | Концентрат отмывочного раствора , 21x-кратный (22 мл) | 1 | шт. | прозрачная бесцветная жидкость |
| 7 R050Z | STOP | Стоп-реагент , готов к использованию (11 мл) | 1 | шт. | прозрачная бесцветная жидкость |
| 8 N003 | - | Бумага для заклеивания планшета | 2 | шт. | - |
| 9 K228I | - | Инструкция по применению Набора реагентов «MUC1 (M20)-ИФА» | 1 | шт. | - |
| 10 K228Q | - | Паспорт контроля качества Набора реагентов «MUC1 (M20)-ИФА» | 1 | шт. | - |

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

5.1. Потенциальный риск применения Набора – класс 2a (ГОСТ Р 51609-2000).

5.2. Все компоненты Набора, за исключением стоп-реагента (5,0 % раствор серной кислоты), в используемых концентрациях являются нетоксичными.

Раствор серной кислоты обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. При попадании на кожу и слизистые пораженный участок следует промыть большим количеством проточной воды.

5.3. При работе с Набором следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

5.4. При работе с Набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированный материал, способный длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность содержимого лунок планшета при длине волны 450 нм;
- термостат, поддерживающий температуру $+37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,1\text{ }^{\circ}\text{C}$;
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы в диапазоне 25-250 мкл;
- цилиндр мерный вместимостью 500 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- бумага фильтровальная.

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

7.1. Перед проведением анализа компоненты Набора и исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови следует выдержать при комнатной температуре ($+18...+25\text{ }^{\circ}\text{C}$) не менее 30 мин.

7.2. Приготовление планшета.

Вскрыть пакет с планшетом и установить на рамку необходимое количество стрипов. Оставшиеся неиспользованными стрипы, чтобы предотвратить воздействие на них влаги, тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре $+2...+8\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности Набора.

7.3. Приготовление отмывочного раствора.

Содержимое флакона с концентратом отмывочного раствора (22 мл), перенести в мерный цилиндр вместимостью 500 мл, добавить 440 мл дистиллированной воды и тщательно перемешать. В случае дробного использования Набора следует отобрать необходимое количество концентрата отмывочного раствора и развести дистиллированной водой в 21 раз (1 мл концентрата отмывочного раствора + 20 мл дистиллированной воды).

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

8.1. Набор реагентов «MUC1 (M20)-ИФА» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности, указанного на упаковке Набора.

Допускается хранение (транспортировка) Набора при температуре до +25 °С не более 5 суток. Не допускается замораживание целого набора.

Допускается однократное замораживание (-20 °С) калибровочных проб и контрольной сыворотки в аликвотах.

8.2. Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 41 исследуемых образцов, 6 калибровочных проб и 1 пробы контрольной сыворотки (всего 96 определений).

8.3. В случае дробного использования Набора компоненты следует хранить следующим образом:

- оставшиеся неиспользованными стрипы необходимо тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- конъюгат, субстрат, стоп-реагент после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- калибровочные пробы и контрольную сыворотку после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °С не более 2 месяцев;
- оставшийся неиспользованным концентрат отмывочного раствора следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- приготовленный отмывочный раствор следует хранить при комнатной температуре (+18...+25 °С) не более 5 суток или при температуре +2...+8 °С не более 30 суток;

Примечание. После использования реагента немедленно закрывайте крышку флакона. Закрывайте каждый флакон своей крышкой.

8.4. Для проведения анализа не следует использовать гемолизированную, мутную сыворотку (плазму) крови, а также сыворотку (плазму) крови, содержащую азид натрия. Если анализ производится не в день взятия крови, сыворотку (плазму) следует хранить при температуре -20 °С. Повторное замораживание-оттаивание образцов сыворотки (плазмы) крови не допускается.

8.5. Исключается использование для анализа образцов сыворотки (плазмы) крови людей, получавших в целях диагностики или терапии препараты, в состав которых входят мышинные антитела.

8.6. При использовании Набора для проведения нескольких независимых серий анализов следует иметь в виду, что для каждого независимого определения необходимо построение нового калибровочного графика; кроме этого, рекомендуется определение концентрации антигена MUC1 (M20) в контрольной сыворотке.

8.7. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение Инструкции по применению Набора.

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

| | |
|----|--|
| 1 | Поместите в рамку необходимое количество стрипов – исследуемые образцы в 2 повторях и 14 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки. |
| 2 | Если предполагаемая концентрация MUS1 (M20) в исследуемом образце превышает 50 Ед/мл, его следует дополнительно развести, используя калибровочную пробу 0. Использование других буферов и реагентов для разбавления образцов может исказить результаты определения! Примечание. Для получения надежных результатов рекомендуется использовать несколько последовательных разведений исследуемого образца сыворотки (плазмы) крови. |
| 3 | Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 50 мкл калибровочной пробы и контрольной сыворотки. В остальные лунки внесите в дубликатах по 50 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови. Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 5-10 минут. |
| 4 | Внесите во все лунки по 50 мкл конъюгата. |
| 5 | Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте его в течение 60 минут при температуре +37 °С. |
| 6 | По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз. При каждой отмывке добавьте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п. 7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок постукиванием планшета в перевернутом положении по фильтровальной бумаге. |
| 7 | Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензида. Внесение раствора субстрата тетраметилбензида в лунки необходимо произвести в течение 2-3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18-25 °С) в течение 10-20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания. |
| 8 | Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензида, по 100 мкл стоп-реагента , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет. |
| 9 | Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм. Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометраставляйте по воздуху. |
| 10 | Постройте в полулогарифмических координатах калибровочный график: ось абсцисс (x) – десятичный логарифм концентрации MUS1 (M20) в калибровочных пробах (Ед/мл), ось ординат (y) – оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма обчета (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод. Приравняйте концентрацию калибровочной пробы 0 Ед/мл к несущественно малой величине, например, 0,001 Ед/мл |
| 11 | Определите по калибровочному графику содержание MUS1 (M20) в исследуемых образцах. Если исследуемый образец предразводили (см. п.2), умножьте полученный результат на фактор разведения. |

10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ

10.1. Основываясь на результатах исследований, проведенных ООО «ХЕМА», рекомендуем пользоваться нормами, приведенными ниже. Вместе с тем, в соответствии с правилами GLP (Хорошей лабораторной практики), каждая лаборатория должна сама определить параметры нормы, характерные для обследуемой популяции.

Примечание. Значения концентраций MUC1 (M20) в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (1 Ед/мл), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (50 Ед/мл) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация MUC1 (M20) ниже 1 Ед/мл или выше 50 Ед/мл.

| Исследуемая группа | Единицы, Ед/мл | |
|--------------------|----------------|----------------|
| | Нижний предел | Верхний предел |
| Мужчины | - | 10.0 |
| Женщины | - | 10.0 |
| Беременные: | | |
| 1-й триместр | - | 12 |
| 2-й триместр | 2.0 | 14 |
| 3-й триместр | 2.0 | 18 |
| В период лактации | - | 16 |

11. ЛИТЕРАТУРА

- 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

По вопросам, касающимся качества Набора **«MUC1 (M20)-ИФА»**, следует обращаться в ООО «ХЕМА» по адресу:
105043, Москва, а/я 58,
тел./факс: (495) 737-39-36, 737-00-40, 510-57-07 (многоканальный)

электронная почта: info@xema.ru; rqc@xema.ru
интернет: www.xema.ru; www.xema-medica.com

Руководитель службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА»,
к. б. н. Д. С. Кострикин

Instruction for use

A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF MUC1 (M20) IN HUMAN BLOOD SERUM OR PLASMA

1. INTENDED USE

A solid-phase enzyme immunoassay for the quantitative determination of MUC1 (M20) in blood serum or plasma.

This kit is designed for measurement of MUC1 (M20) in blood serum or plasma. For possibility of use with other sample types, please, refer to Application Notes (on request). The kit contains reagents sufficient for 96 determinations and allows to analyze 41 unknown samples in duplicates.

2. SUMMARY AND EXPLANATION

MUC1 is a heterogenous glycoprotein with a molecular mass ca. 300–450 kD. Elevation of serum MUC1 is associated with mammary carcinomas. Quantitative determination of MUC1 in serum and plasma is helpful in monitoring of patients with such tumours to estimate the course of the disease, effectiveness of its treatment and to reveal recurrence or metastases. However, MUC1 values obtained should always be interpreted in context of results obtained by other diagnostic and clinical procedures. Besides mammary carcinomas, MUC1 levels in blood may rise in lung tumours, prostate cancer, ovarian carcinomas, gastro-intestinal tumours. Elevation of MUC1 level in blood can be also found in benign tumours of the mammary gland and the ovary, endometriosis, hepatitis, liver cirrhosis and lung fibrosis. Pregnancy and lactation may also cause elevation of MUC1 level in serum.

The M20 kit is based on a principle of competitive immunoassay. The labelled monoclonal antibody X19 recognizing the peptide determinant TRPAPGS binds the natural purified mammary carcinoma-derived antigen on the solid phase. Such test systems (e.g., BR27.29 developed by Biomira) may give a higher sensitivity for tumour specific forms of MUC1 compared to kits based on sandwich principle. However, due to considerable heterogeneity of tumour derived forms of MUC1 antigen, we recommend to use this test in conjunction with two other test systems designed by XEMA for diagnostics and monitoring of mammary carcinoma – M22 (analogous to MCA, Roche) and M12 (analogous to CA15-3 developed by Centocor). All three systems should be used to evaluate MUC1 concentration before and after surgery; the test system showing the most pronounced postsurgery decline should be then used for further monitoring.

3. PRINCIPLE OF THE TEST

This test is based on competition enzyme immunoassay principle. Tested specimen is placed into the microwells coated by purified MUC1 antigen simultaneously with conjugated antibodies. MUC1 antigen from the specimen competes with the immobilized antigen for binding to labelled antibodies. After washing procedure, the remaining enzymatic activity bound to the microwell surface is detected and quantified by addition of chromogen-substrate mixture, stop solution and photometry at 450 nm. Optical density in the microwell is inversely related to the quantity of the measured analyte in the specimen.

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

4.1. For professional use only.

4.2. This kit is intended for in vitro diagnostic use only.

4.3. INFECTION HAZARD: There is no available test methods that can absolutely assure that Hepatitis B and C viruses, HIV-1/2, or other infectious agents are not present in the reagents of this kit. All human products, including patient samples, should be considered potentially infectious. Handling and disposal should be in accordance with the procedures defined by an appropriate national biohazard safety guidelines or regulations.

4.4. Avoid contact with stop solution containing 5,0 % H_2SO_4 . It may cause skin irritation and burns.

4.5. Wear disposable latex gloves when handling specimens and reagents. Microbial contamination of reagents may give false results.

4.6. Do not use the kit beyond the expiration date.

4.7. All indicated volumes have to be performed according to the protocol. Optimal test results are only obtained when using calibrated pipettes and microplate readers.

4.8. Do not smoke, eat, drink or apply cosmetics in areas where specimens or kit reagents are handled.

4.9. Chemicals and prepared or used reagents have to be treated as hazardous waste according to the national biohazard safety guidelines or regulations.

4.10. Do not mix reagents from different lots.

4.11. Replace caps on reagents immediately. Do not swap caps.

4.12. Do not pipette reagents by mouth.

4.13. Specimens must not contain any AZIDE compounds – they inhibit activity of peroxidase.

4.14. Safety Data Sheet for this product is available upon request directly from XEMA Co., Ltd.

4.15. The Safety Data Sheet fit the requirements of EU Guideline 91/155 EC.

5.1. Contents of the Kit

5. KIT COMPONENTS

| Symbol | Description | Qty | Units | Colour code | Stability of opened/diluted components |
|----------------|---|-----|-------|------------------------|---|
| 1 SORB MTP | MUC1 (M20) EIA strips, 8x12 wells | 1 | pcs | | until exp. date |
| 2 CAL 1 – 6 | Calibrator set, 0.8 ml each, zero calibrator C1 – 6 ml. The set contains 6 calibrators; 0; 2,5; 5; 10; 25; 50 Uj/ml | 6 | pcs | blue (C1 – colourless) | 2 months |
| 3 CONTROL | Control serum (0,8 ml) | 1 | pcs | colourless | 2 months |
| 4 CONJ HRP | Conjugate, 6 ml | 1 | pcs | red | until exp. date |
| 5 SUBS TMB | Substrate solution, 11 ml | 1 | pcs | colourless | until exp. date |
| 6 BUF WASH 21X | Washing solution concentrate 21x, 22 ml | 1 | pcs | colourless | Concentrate – until exp. date Diluted washing solution – 1 month at 2-8 °C or 5 days at RT |
| 7 STOP | Stop solution, 11 ml | 1 | pcs | colourless | until exp. date |
| 8 N003 | Plate sealing tape | 2 | pcs | | N/A |
| 9 K228I | Instruction MUC1 (M20)EIA | 1 | pcs | | N/A |
| 10 K228Q | QC data sheet MUC1 (M20)EIA | 1 | pcs | | N/A |

5.2. Equipment and material required but not provided

- Distilled or deionized water;
- Automatic or semiautomatic multichannel micropipettes, 100–250 µl, is useful but not essential;
- Calibrated micropipettes with variable volume, range volume 25–250 µl;
- Dry thermostat for 37 °C ±0.1 °C;
- Calibrated microplate photometer with 450 nm wavelength and OD measuring range 0–3.0

5.3. Storage and stability of the Kit

Store the whole kit at 2 to 8 °C upon receipt until the expiration date.

After opening the pouch keep unused microtiter wells **TIGHTLY SEALED BY ADHESIVE TAPE (INCLUDED)** to minimize exposure to moisture.

6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

This kit is intended for use with serum or plasma (ACD- or heparinized). Grossly hemolytic, lipemic, or turbid samples should be avoided.

Specimens may be stored for up to 48 hours at +2...+8 °C before testing. For a longer storage, the specimens should be frozen at -20 °C or lower. Repeated freezing/thawing should be avoided.

7. TEST PROCEDURE**7.1.** Reagent Preparation

- All reagents (including unsealed microstrips) should be allowed to reach room temperature (+18...+25 °C) before use.
- All reagents should be mixed by gentle inversion or vortexing prior to use. Avoid foam formation.
- It is recommended to spin down shortly the tubes with calibrators on low speed centrifuge.
- Prepare washing solution from the concentrate BUF WASH 21X by 21 dilutions in distilled water.

7.2. Procedural Note:

It is recommended that pipetting of all calibrators and samples should be completed within 3 minutes.

7.3. Assay flowchart

See the example of calibration graphic in Quality Control data sheet.

7.4. Assay procedure

| | |
|----|--|
| 1 | Put the desired number of microstrips into the frame; allocate 14 wells for the calibrators CAL 1–6 and control samples CONTROL and two wells for each unknown sample. DO NOT REMOVE ADHESIVE SEALING TAPE FROM UNUSED STRIPS. |
| 2 | If suggested analyte concentration in the sample exceeds the highest calibrator, additionally dilute this sample accordingly, using zero calibrator. Use of other buffers or reagents for sample dilution may lead to incorrect measurement. |
| 3 | Pipet 50 µl of calibrators CAL 1–6, control samples CONTROL and unknown samples into the wells. |
| 4 | Dispense 50 µl of CONJ HRP into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape (included into the kit). |
| 5 | Incubate 60 minutes at 37 °C. |
| 6 | Prepare washing solution by 21x dilution of washing solution concentrate (BUF WASH 21X) by distilled water. Wash the strips 5 times. |
| 7 | Dispense 100 µl of SUBS TMB into the wells |
| 8 | Incubate 10-20 minutes at 18-25 °C |
| 9 | Dispense 100 µl of STOP into the wells. |
| 10 | Measure OD (optical density) at 450 nm. |
| 11 | Set photometer blank on air |
| 12 | Apply lin-log method for data reduction. |

7.5. Handling notes

Calibrators and control sample(s) – only one freezing/thawing cycle is allowed

8. QUALITY CONTROL

It is recommended to use control samples according to state and federal regulations. The use of control samples is advised to assure the day to day validity of results.

The test must be performed exactly as per the manufacturer’s instructions for use. Moreover the user must strictly adhere to the rules of GLP (Good Laboratory Practice) or other applicable federal, state, and local standards and/or laws. This is especially relevant for the use of control reagents. It is important to always include, within the test procedure, a sufficient number of controls for validating the accuracy and precision of the test.

The test results are valid only if all controls are within the specified ranges and if all other test parameters are also within the given assay specifications.

9. CALCULATION OF RESULTS

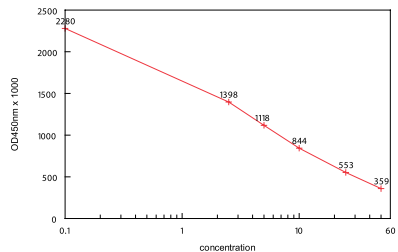
9.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

9.2. Plot a calibration curve on graph paper: OD versus MUC1 (M20) concentration.

9.3. Determine the corresponding concentration of MUC1 (M20) in unknown samples from the calibration curve. Manual or computerized data reduction is applicable on this stage. Point-by-point or linear data reduction is recommended due to non-linear shape of curve.

9.4. Below is presented a typical example of a standard curve with the XEMA Co. Not for calculations!

| Calibrators | Value | Absorbance Units (450 nm) |
|-------------|----------|---------------------------|
| CAL 1 | 0 U/ml | 2.28 |
| CAL 2 | 2.5 U/ml | 1.40 |
| CAL 3 | 5 U/ml | 1.12 |
| CAL 4 | 10 U/ml | 0.84 |
| CAL 5 | 25 U/ml | 0.55 |
| CAL 6 | 50 U/ml | 0.36 |



10. EXPECTED VALUES

Therapeutical consequences should not be based on results of IVD methods alone – all available clinical and laboratory findings should be used by a physician to elaborate therapeutically measures. Each laboratory should establish its own normal range for MUC1 (M20). Based on data obtained by XEMA, the following normal range is recommended (see below). NOTE: the patients that have received murine monoclonal antibodies for radioimaging or immunotherapy develop high titered anti-mouse antibodies (HAMA). The presence of these antibodies may cause false results in the present assay. Sera from HAMA positive patients should be treated with depleting adsorbents before assaying.

| Sex, age | Units, U/ml | |
|-----------------|-------------|-------------|
| | Lower limit | Upper limit |
| Males | - | 10.0 |
| Females | - | 10.0 |
| Pregnancy week: | | |
| 1st trimester | - | 12 |
| 2nd trimester | 2.0 | 14 |
| 3rd trimester | 2.0 | 18 |
| Lactation | - | 16 |

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical specificity / Cross reactivity.

Sensitivity of the assay was assessed as being 0.5 U/ml.

11.2. Linearity.


















Linearity was checked by assaying dilution series of 5 samples with different MUC1 (M20) concentrations. Linearity percentages obtained ranged within 90 to 110 %.

11.3. Recovery.

Recovery was estimated by assaying 5 mixed samples with known MUC1 (M20) concentrations. The recovery percentages ranged from 90 to 110 %.

12. LITERATURE

- 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.
- Lotnicker M, Pavesi F, Scarabelli M. Tumor associated antigens CA15-3 and CA125 in ovarian cancer. Int. J. Biolog Markers 1991; 6:115

| Символ / Symbol | Значение символа / Symbolize |
|---|---|
|  | Производитель / Manufacturer |
|  | Дата производства / Date of manufacture |
|  | Номер по каталогу / Catalogue number |
|  | Номер серии / Batch code |
|  | Использовать до (год-месяц) / Use By |
|  | Ограничение температуры / Temperature limitation |
|  | Только для ин витро диагностики / In Vitro Diagnostic Medical Device |
|  | Внимание! / Caution, consult accompanying documents |
|  | Не использовать при нарушении целостности упаковки / Do not use if package damaged |
|  | Планшет / EIA strips |
|  | Калибровочные пробы / Calibrator set |
|  | Контрольная сыворотка / Control sera |
|  | Конъюгат / Conjugate |
|  | Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) / Substrate solution |
|  | Концентрат отмывочного раствора / Washing solution concentrate |
|  | Стоп-реагент / Stop solution |
|  | ИФА-Буфер / EIA buffer |

Уважаемый Клиент!

Если в процессе работы с нашими наборами Вам понадобились пластиковые ванночки для жидких реагентов, одноразовые наконечники для дозаторов или дополнительные объемы реагентов (концентрат отмывочного раствора, ИФА-Буфер, раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), стоп-реагент), входящих в состав Набора, просим Вас обратиться к поставщику продукции ООО «ХЕМА» в Вашем регионе.

Все указанные расходные материалы предоставляются бесплатно, в необходимом для проведения анализа количестве.

Перечень наборов реагентов для диагностики инфекционных заболеваний производства ООО «ХЕМА»

| № по каталогу | Наименование |
|---------------|----------------------------------|
| K101 | «Toxoplasma IgG-ИФА» |
| K101M | «Toxoplasma IgM-ИФА» |
| K102 | «Rubella IgG-ИФА» |
| K102M | «Rubella IgM-ИФА» |
| K103 | «Cytomegalovirus IgG-ИФА» |
| K103M | «Cytomegalovirus IgM-ИФА» |
| K104 | «HSV 1,2 IgG-ИФА» |
| K104M | «HSV 1,2 IgM-ИФА» |
| K105 | «Chlamydia IgG-ИФА» |
| K106 | «Mycoplasma IgG-ИФА» |
| K111G | «Сифилис IgG-ИФА» |
| K111 | «Сифилис суммарные антитела-ИФА» |
| K121 | «Aspergillus IgG-ИФА» |



Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

8 800 505 23 45

Все звонки на номер горячей линии бесплатны для звонящего с любого мобильного или стационарного телефона по всей территории России.

Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

105043, г. Москва, а/я 58, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1-й под., 5 этаж

тел.: +7 (495) 510-57 07, 737-39-36;

факс: +7 (495) 737-00-40

e-mail: info@xema.ru

www.xema-medica.com

ФООО «Хема», тел.: +7 (812) 271-24-41

191144, Санкт-Петербург, Дегтярный пер., д. 8-10, литер А

e-mail: spb@xema.ru

СП ООО «Хемма-Тест», тел.: (17) 211-80-39

Офис: 220029, Минск, Проспект Машерова, д. 11,

литер А, корп. 8/К, офис 416

e-mail: hemma-test@yandex.ru

ТОВ «Хема», тел.: (044) 521-3-521;

03022 Киев, ул. Васильковская, д. 98, 2 этаж;

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com



