

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от \_\_\_\_\_ 200\_\_ г.

№ \_\_\_\_\_

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор ООО «Хема-Медика»

Ю. С. Лебедин

2007 г.



## ИНСТРУКЦИЯ

по применению Набора реагентов для иммуноферментного определения  
антигена MUC 1 (M22) в сыворотке и плазме крови

«MUC 1 (M22)-ИФА»

### 1. НАЗНАЧЕНИЕ.

1.1. Набор реагентов «MUC 1 (M22)-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации антигена MUC 1 (M22) в сыворотке или плазме крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Антиген MUC 1 (M22) представляет собой гликопротеин гетерогенного состава с молекулярной массой 300-450 кДа. Уровень MUC 1 (M22) в крови повышается при раке молочной железы (РМЖ). Определение MUC 1 (M22) в сыворотке или плазме крови используется для мониторинга РМЖ, оценки эффективности лечения и выявления рецидива или метастазов.

Набор «MUC 1 (M22)-ИФА» реализован на основе принципа «гомогенного сэндвича» – для «захвата» и «проявления» антигена в нем использовано одно и то же моноклональное антитело X19, выявляющее уникальный иммунодоминантный пептидный повтор TRPAPGS гликопротеина MUC 1 (M22). Подобные Наборы более чувствительны, чем реализованные на принципе «гетерогенного сэндвича» (например, Набор «MUC 1 (M12)-ИФА, ООО «Хема-Медика») или конкурентного связывания (например, Набор «MUC 1 (M29)-ИФА, ООО «Хема-Медика»), но могут давать завышенные значения у некоторых индивидов, особенно при наличии доброкачественных кистозных образований. Поэтому для оценки эффективности хирургического лечения рекомендуется определять антиген MUC1, используя все три типа Наборов до и после резекции опухоли. Для дальнейшего послеоперационного мониторинга целесообразно использовать только один Набор, показавший:

- 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), мы рекомендуем динамическое определение всех трех антигенов (M12, M20 и M22). Кроме РМЖ, повышение уровня антигена MUC1 в крови может наблюдаться при раке легких, яичников, предстательной железы, шейки матки и желудочно-кишечного тракта. Повышение содержания антигена 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. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА.

**2.1. Принцип работы Набора.** Определение основано на использовании «сэндвич»-варианта твердофазного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы моноклональные антитела к MUC 1 (M22) человека. В лунках планшета, при добавлении анализируемого образца, во время инкубации происходит связывание MUC 1 (M22), содержащегося в образце, с антителами на твердой фазе. Количество связавшегося MUC 1 (M22) пропорционально его концентрации в анализируемой пробе. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата моноклональных антител к MUC 1 (M22) 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 прямо пропорциональна концентрации MUC 1 (M22) в анализируемом образце. Концентрацию MUC 1 (M22) в анализируемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания MUC 1 (M22) в калибровочных пробах.

### 2.2. Состав Набора:

- планшет 96-луночный полистироловый стрипированный, с сорбированными на внутренней поверхности лунок моноклональными анти-MUC 1 (M22)-антителами - 1 шт.;
- калибровочные пробы на основе сыворотки крови человека, содержащие известные количества MUC 1 (M22) - 0; 5; 10; 20; 50 и 100 Ед/мл MUC 1 (M22); концентрации MUC 1 (M22) в калибровочных пробах могут несколько отличаться от указанных величин, точные величины указаны на этикетках пробирок (флаконов), готовы к использованию - 6 пробирок или флаконов (по 1,0 мл каждая);
- конъюгат, готов к использованию - 1 флакон (11 мл);
- ИФА-Буфер, готов к использованию - 1 флакон (11 мл);
- раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), готов к использованию - 1 флакон (11 мл);
- контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием MUC 1 (M22), готова к использованию - 1 пробирка или флакон (1,0 мл);
- концентрат отмывочного раствора - 1 флакон (22 мл);
- стоп-реагент (5% серная кислота), готов к использованию - 1 флакон (11 мл);
- липкая лента с клеевой поверхностью с одной стороны на бумажной подложке для заклеивания планшета - 2 шт.

## 3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ.

**3.1. Специфичность.** Использование моноклональных антител к MUC 1 (M22) позволяет достичь высокую специфичность анализа.

**3.2. Воспроизводимость.** Коэффициент вариации результатов определения содержания

MUC 1 (M22) в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «MUC 1 (M22)-ИФА» не превышает 8,0%.

**3.3. Линейность.** Зависимость концентрации MUC 1 (M22) в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей MUC 1 (M22), имеет линейный характер в диапазоне концентраций 5,0-100 Ед/мл и составляет  $\pm 10,0\%$ .

**3.4. Точность.** Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» MUC 1 (M22) - соответствие измеренной концентрации MUC 1 (M22) предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 10 Ед/мл. Процент «открытия» составляет 90 -110%.

**3.5. Чувствительность.** Минимальная достоверно определяемая Набором концентрация MUC 1 (M22) не превышает 2,5 Ед/мл.

**3.6. Клиническая проверка.**

| Клиническая проверка | Нижний предел, Ед/мл | Верхний предел, Ед/мл |
|----------------------|----------------------|-----------------------|
| Мужчины              | 0                    | 30                    |
| Женщины              | 0                    | 30                    |
| Беременные:          | 0                    |                       |
| 1-ый триместр        | 0                    | 65                    |
| 2-ой триместр        | 0                    | 80                    |
| 3-ий триместр        | 0                    | 235                   |
| в период лактации    | 0                    | 150                   |

**3.7.** Рекомендуется в каждой лаборатории при использовании Набора уточнить значения концентрации, соответствующие нормальным у обследуемого контингента людей.

**4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.**

**4.1. Потенциальный риск применения Набора – класс 26 (ГОСТ Р 51609-2000).**

**4.2.** Все компоненты Набора, за исключением стоп-реагента (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 следует смыть кислоту большим количеством проточной воды.

**4.3.** 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.).

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

## 5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность раствора в лунках при длине волны 450 нм;
- прибор для встряхивания планшет (шейкер);
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 50; 100 и 250 мкл;
- цилиндр мерный вместимостью 500 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- бумага фильтровальная.

## 6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА.

6.1. Перед проведением анализа компоненты Набора и исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови следует выдержать при комнатной температуре (+18-25 °С) в течение времени не менее 30 мин.

6.2. Образцы сыворотки (плазмы) крови, используемые для анализа, можно хранить при температуре +2-8 °С не более 24 ч или при температуре -20 °С не более 2 недель. Не допускается повторное замораживание-оттаивание анализируемых образцов. При несоблюдении этих условий возможно резкое снижение уровня MUC 1 (M22) в исследуемых образцах.

6.3. Для проведения анализа не следует использовать гемолизированную, мутную сыворотку (плазму) крови, а также сыворотку (плазму) крови, содержащую азид натрия.

6.4. Исключается использование для анализа образцов крови людей, получавших для диагностики или терапии препараты, в состав которых входят мышинные антитела.

6.5. 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 MUC 1 (M22) в контрольной сыворотке.

### 6.6. Привготовление планшета.

Вскрыть пакет с планшетом и установить на рамку необходимое количество стрипов. Вскрытые стрипы следует использовать в течение 1 ч, длительному хранению не подлежат. Оставшиеся неиспользованными стрипы, чтобы предотвратить воздействие на них влаги, необходимо тщательно заклеить липкой лентой для заклеивания планшета и хранить в упаковке при температуре +2-8 °С в течение всего срока годности Набора.

### 6.7. Приготовление отмывочного раствора.

Содержимое флакона с концентратом отмывочного раствора перенести в мерный цилиндр вместимостью 500 мл, добавить 198 мл дистиллированной воды и тщательно перемешать.

В случае дробного использования Набора следует отобрать необходимое количество концентрата отмывочного раствора и развести дистиллированной водой в 10 раз (1 объем концентрата + 9 объемов дистиллированной воды).

Приготовленный отмывочный раствор можно хранить при комнатной температуре (+18-25 °C) не более 2 дней или при температуре +2-8 °C не более 10 дней.

## **7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА.**

**7.1.** Внести во все лунки по 50 мкл ИФА-Буфера.

**7.2.** Внести в соответствующие лунки в дубликатах по 50 мкл каждой калибровочной пробы и контрольной сыворотки. В остальные лунки внести в дубликатах по 50 мкл анализируемых образцов сыворотки (плазмы) крови.

Внесение образцов необходимо производить в течение времени не более 5-10 мин.

**7.3.** Аккуратно перемешать содержимое планшета круговыми движениями по горизонтальной поверхности, заклеить планшет липкой лентой для заклеивания планшета и инкубировать его в течение 30 мин при постоянном встряхивании при комнатной температуре (+18-25 °C).

**7.4.** По окончании инкубации удалить содержимое лунок аспирацией (например, с помощью водоструйного насоса) или декантированием и промыть лунки 3 раза. При каждой промывке добавить во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора, перемешать содержимое планшета круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок постукиванием планшета в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.

**7.5.** Внести во все лунки по 100 мкл конъюгата. Аккуратно перемешать содержимое планшета круговыми движениями по горизонтальной поверхности, заклеить планшет липкой лентой для заклеивания планшета и инкубировать его в течение 30 мин при постоянном встряхивании при комнатной температуре (+18-25 °C).

**7.6.** По окончании инкубации удалить содержимое лунок и промыть лунки 5 раз так, как это указано в п. 7.4.

**7.7.** Внести во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина (ТМБ).

Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) в лунки необходимо произвести в течение 1-2 мин.

Инкубировать планшет в темноте при комнатной температуре (+18-25 °C) в течение 15-25 мин в зависимости от степени развития синего окрашивания.

**7.8.** Внести во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), по 100 мкл стоп-реактанта; при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.

## **8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ.**

**8.1.** Измерить величину оптической плотности (ОП) в лунках планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм. Измерение ОП растворов в лунках планшета необходимо произвести в течение времени не более 5 мин после внесения стоп-реактанта.

В случае невозможности своевременного измерения ОП растворов в лунках на фотометре, планшет можно хранить при температуре  $+2-8^{\circ}\text{C}$  не более 4 ч.

**8.2.** Если программа фотометра позволяет вычитать величину ОП в лунках с калибровочной пробой 0 Ед/мл из значений ОП всех остальных лунок, то для дальнейших расчетов необходимо использовать величину В - среднее арифметическое значение величины ОП в лунках, содержащих калибровочные или анализируемые пробы. Если же фотометр не позволяет вычитать величину ОП лунок с калибровочной пробой 0 Ед/мл, то необходимо пользоваться формулой  $B-B_0$ , где  $B_0$  - среднее арифметическое значение величины ОП в лунках с калибровочной пробой 0 Ед/мл.

## 9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ.

**9.1.** Построить в линейных координатах калибровочный график: ось абсцисс - концентрация МUC 1 (М22) в калибровочных пробах (Ед/мл), ось ординат - оптическая плотность калибровочных проб ( $ОП_{450}$ ).

**9.2.** Определить по калибровочному графику содержание МUC 1 (М22) в анализируемых пробах.

## 10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА.

**10.1.** Набор реагентов «МUC 1 (М22)-ИФА» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре  $+2-8^{\circ}\text{C}$  в течение всего срока годности (12 мес.). Допускается хранение Набора при температуре до  $+25^{\circ}\text{C}$  не более 5 сут.

**10.2.** Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 41 неизвестного образца, 6 калибровочных проб и 1 пробы контрольной сыворотки (всего 96 определений).

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

- вскрытые стрипы следует использовать в течение 1 ч, длительному хранению не подлежат;
- оставшиеся неиспользованными стрипы тщательно заклеить липкой лентой для заклеивания планшета и хранить в упаковке при температуре  $+2-8^{\circ}\text{C}$  в течение всего срока годности Набора;
- конъюгат и раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) после вскрытия флакона можно хранить при температуре  $+2-8^{\circ}\text{C}$  не более 1 мес;
- ИФА-Буфер и стоп-реагент после вскрытия флаконов можно хранить при температуре  $+2-8^{\circ}\text{C}$  в течение всего срока годности Набора;
- калибровочные пробы и контрольную сыворотку после вскрытия пробирок (флаконов) можно хранить при температуре  $+2-8^{\circ}\text{C}$  не более 1 мес; при необходимости более длительного хранения - при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$  в течение всего срока годности Набора;
- приготовленный отмывочный раствор можно хранить при комнатной температуре ( $+18-25^{\circ}\text{C}$ ) не более 2 дней или при температуре  $+2-8^{\circ}\text{C}$  не более 10 дней;
- оставшийся неиспользованным концентрат отмывочного раствора можно хранить при

температуре  $+2-8^{\circ}\text{C}$  в течение всего срока годности Набора;

**10.4.** Запрещается использовать стоп-реагенты из наборов других фирм-производителей.

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

*По вопросам, касающимся качества Набора реагентов «MUC 1 (M22)-ИФА», следует обращаться в ООО «Хема-Медика» по адресу: 125319, Москва, 4-я ул. 8 Марта, д. 3, стр.3, тел/факс (095) 1523160; 1523731.*

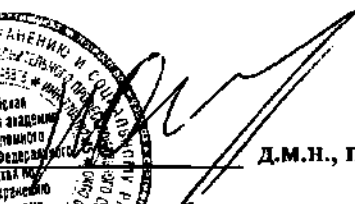
Руководитель исследовательского  
отдела ООО «Хема-Медика»  Кострикин



«СОГЛАСОВАНО»

Заведующий кафедрой клинической  
лабораторной диагностики  
ГОУ ДПО РМАПО Росздрава



 д.м.н., профессор В.В. Долгов

УТВЕРЖДЕНА

«УТВЕРЖДАЮ»

Приказом Росздравнадзора

от \_\_\_\_\_ 200\_\_ г.

№ \_\_\_\_\_

Генеральный директор ООО «Хема-Медика»

Ю. С. Лебедин

2007 г.



## ИНСТРУКЦИЯ

по применению Набора реагентов для иммуноферментного определения  
антигена MUC 1 (M22) в сыворотке и плазме крови

«MUC 1 (M22)-ИФА»

### 1. НАЗНАЧЕНИЕ.

1.1. Набор реагентов «MUC 1 (M22)-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации антигена MUC 1 (M22) в сыворотке или плазме крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Антиген MUC 1 (M22) представляет собой гликопротеин гетерогенного состава с молекулярной массой 300-450 кДа. Уровень MUC 1 (M22) в крови повышается при раке молочной железы (РМЖ). Определение MUC 1 (M22) в сыворотке или плазме крови используется для мониторинга РМЖ, оценки эффективности лечения и выявления рецидива или метастазов.

Набор «MUC 1 (M22)-ИФА» реализован на основе принципа «гомогенного сэндвича» – для «захвата» и «проявления» антигена в нем использовано одно и то же моноклональное антитело X19, выявляющее уникальный иммунодоминантный пептидный повтор TRPAPGS гликопротеина MUC 1 (M22). Подобные Наборы более чувствительны, чем реализованные на принципе «гетерогенного сэндвича» (например, Набор «MUC 1 (M12)-ИФА, ООО «Хема-Медика») или конкурентного связывания (например, Набор «MUC 1 (M29)-ИФА, ООО «Хема-Медика»), но могут давать завышенные значения у некоторых индивидов, особенно при наличии доброкачественных кистозных образований. Поэтому для оценки эффективности хирургического лечения рекомендуется определять антиген MUC1, используя все три типа Наборов до и после резекции опухоли. Для дальнейшего послеоперационного мониторинга целесообразно использовать только один Набор, показавший:

- 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), мы рекомендуем динамическое определение всех трех антигенов (M12, M20 и M22). Кроме РМЖ, повышение уровня антигена MUC1 в крови может наблюдаться при раке легких, яичников, предстательной железы, шейки матки и желудочно-кишечного тракта. Повышение содержания антигена 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. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА.

**2.1. Принцип работы Набора.** Определение основано на использовании «сэндвич»-варианта твердофазного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы моноклональные антитела к MUC 1 (M22) человека. В лунках планшета, при добавлении анализируемого образца, во время инкубации происходит связывание MUC 1 (M22), содержащегося в образце, с антителами на твердой фазе. Количество связавшегося MUC 1 (M22) пропорционально его концентрации в анализируемой пробе. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата моноклональных антител к MUC 1 (M22) 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 прямо пропорциональна концентрации MUC 1 (M22) в анализируемом образце. Концентрацию MUC 1 (M22) в анализируемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания MUC 1 (M22) в калибровочных пробах.

### 2.2. Состав Набора:

- планшет 96-луночный полистироловый стрипированный, с сорбированными на внутренней поверхности лунок моноклональными анти-MUC 1 (M22)-антителами - 1 шт.;
- калибровочные пробы на основе сыворотки крови человека, содержащие известные количества MUC 1 (M22) - 0; 5; 10; 20; 50 и 100 Ед/мл MUC 1 (M22); концентрации MUC 1 (M22) в калибровочных пробах могут несколько отличаться от указанных величин, точные величины указаны на этикетках пробирок (флаконов), готовы к использованию - 6 пробирок или флаконов (по 1,0 мл каждая);
- конъюгат, готов к использованию - 1 флакон (11 мл);
- ИФА-Буфер, готов к использованию - 1 флакон (11 мл);
- раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), готов к использованию - 1 флакон (11 мл);
- контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием MUC 1 (M22), готова к использованию - 1 пробирка или флакон (1,0 мл);
- концентрат отмывочного раствора - 1 флакон (22 мл);
- стоп-реагент (5% серная кислота), готов к использованию - 1 флакон (11 мл);
- липкая лента с клеевой поверхностью с одной стороны на бумажной подложке для заклеивания планшета - 2 шт.

## 3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ.

**3.1. Специфичность.** Использование моноклональных антител к MUC 1 (M22) позволяет достичь высокую специфичность анализа.

**3.2. Воспроизводимость.** Коэффициент вариации результатов определения содержания

MUC 1 (M22) в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «MUC 1 (M22)-ИФА» не превышает 8,0%.

**3.3. Линейность.** Зависимость концентрации MUC 1 (M22) в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей MUC 1 (M22), имеет линейный характер в диапазоне концентраций 5,0-100 Ед/мл и составляет  $\pm 10,0\%$ .

**3.4. Точность.** Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» MUC 1 (M22) - соответствие измеренной концентрации MUC 1 (M22) предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 10 Ед/мл. Процент «открытия» составляет 90 -110%.

**3.5. Чувствительность.** Минимальная достоверно определяемая Набором концентрация MUC 1 (M22) не превышает 2,5 Ед/мл.

### **3.6. Клиническая проверка.**

| Клиническая проверка | Нижний предел, Ед/мл | Верхний предел, Ед/мл |
|----------------------|----------------------|-----------------------|
| Мужчины              | 0                    | 30                    |
| Женщины              | 0                    | 30                    |
| Беременные:          | 0                    |                       |
| 1-ый триместр        | 0                    | 65                    |
| 2-ой триместр        | 0                    | 80                    |
| 3-ий триместр        | 0                    | 235                   |
| в период лактации    | 0                    | 150                   |

**3.7.** Рекомендуется в каждой лаборатории при использовании Набора уточнить значения концентрации, соответствующие нормальным у обследуемого контингента людей.

## **4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.**

**4.1. Потенциальный риск применения Набора – класс 2Б (ГОСТ Р 51609-2000).**

**4.2.** Все компоненты Набора, за исключением стоп-реагента (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 следует смыть кислоту большим количеством проточной воды.

**4.3.** 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.).

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

## 5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность раствора в лунках при длине волны 450 нм;
- прибор для встряхивания планшет (шейкер);
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 50; 100 и 250 мкл;
- цилиндр мерный вместимостью 500 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- бумага фильтровальная.

## 6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА.

6.1. Перед проведением анализа компоненты Набора и исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови следует выдержать при комнатной температуре (+18-25 °С) в течение времени не менее 30 мин.

6.2. Образцы сыворотки (плазмы) крови, используемые для анализа, можно хранить при температуре +2-8 °С не более 24 ч или при температуре -20 °С не более 2 недель. Не допускается повторное замораживание-оттаивание анализируемых образцов. При несоблюдении этих условий возможно резкое снижение уровня MUC 1 (M22) в исследуемых образцах.

6.3. Для проведения анализа не следует использовать гемолизированную, мутную сыворотку (плазму) крови, а также сыворотку (плазму) крови, содержащую азид натрия.

6.4. Исключается использование для анализа образцов крови людей, получавших для диагностики или терапии препараты, в состав которых входят мышинные антитела.

6.5. 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 MUC 1 (M22) в контрольной сыворотке.

### 6.6. Приготовление планшета.

Вскрыть пакет с планшетом и установить на рамку необходимое количество стрипов. Вскрытые стрипы следует использовать в течение 1 ч, длительному хранению не подлежат. Оставшиеся неиспользованными стрипы, чтобы предотвратить воздействие на них влаги, необходимо тщательно заклеить липкой лентой для заклеивания планшета и хранить в упаковке при температуре +2-8 °С в течение всего срока годности Набора.

### 6.7. Приготовление отмывочного раствора.

Содержимое флакона с концентратом отмывочного раствора перенести в мерный цилиндр вместимостью 500 мл, добавить 198 мл дистиллированной воды и тщательно перемешать.

В случае дробного использования Набора следует отобрать необходимое количество концентрата отмывочного раствора и развести дистиллированной водой в 10 раз (1 объем концентрата + 9 объемов дистиллированной воды).

Приготовленный отмывочный раствор можно хранить при комнатной температуре (+18-25 °C) не более 2 дней или при температуре +2-8 °C не более 10 дней.

## **7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА.**

**7.1.** Внести во все лунки по 50 мкл ИФА-Буфера.

**7.2.** Внести в соответствующие лунки в дубликатах по 50 мкл каждой калибровочной пробы и контрольной сыворотки. В остальные лунки внести в дубликатах по 50 мкл анализируемых образцов сыворотки (плазмы) крови.

Внесение образцов необходимо производить в течение времени не более 5-10 мин.

**7.3.** Аккуратно перемешать содержимое планшета круговыми движениями по горизонтальной поверхности, заклеить планшет липкой лентой для заклеивания планшета и инкубировать его в течение 30 мин при постоянном встряхивании при комнатной температуре (+18-25 °C).

**7.4.** По окончании инкубации удалить содержимое лунок аспирацией (например, с помощью водоструйного насоса) или декантированием и промыть лунки 3 раза. При каждой промывке добавить во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора, перемешать содержимое планшета круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок постукиванием планшета в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.

**7.5.** Внести во все лунки по 100 мкл конъюгата. Аккуратно перемешать содержимое планшета круговыми движениями по горизонтальной поверхности, заклеить планшет липкой лентой для заклеивания планшета и инкубировать его в течение 30 мин при постоянном встряхивании при комнатной температуре (+18-25 °C).

**7.6.** По окончании инкубации удалить содержимое лунок и промыть лунки 5 раз так, как это указано в п. 7.4.

**7.7.** Внести во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина (ТМБ).

Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) в лунки необходимо произвести в течение 1-2 мин.

Инкубировать планшет в темноте при комнатной температуре (+18-25 °C) в течение 15-25 мин в зависимости от степени развития синего окрашивания.

**7.8.** Внести во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), по 100 мкл стоп-реагента; при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.

## **8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ.**

**8.1.** Измерить величину оптической плотности (ОП) в лунках планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм. Измерение ОП растворов в лунках планшета необходимо произвести в течение времени не более 5 мин после внесения стоп-реагента.

В случае невозможности своевременного измерения ОП растворов в лунках на фотометре, планшет можно хранить при температуре  $+2-8^{\circ}\text{C}$  не более 4 ч.

8.2. Если программа фотометра позволяет вычитать величину ОП в лунках с калибровочной пробой 0 Ед/мл из значений ОП всех остальных лунок, то для дальнейших расчетов необходимо использовать величину В - среднее арифметическое значение величины ОП в лунках, содержащих калибровочные или анализируемые пробы. Если же фотометр не позволяет вычитать величину ОП лунок с калибровочной пробой 0 Ед/мл, то необходимо пользоваться формулой  $B-B_0$ , где  $B_0$  - среднее арифметическое значение величины ОП в лунках с калибровочной пробой 0 Ед/мл.

## 9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ.

9.1. Построить в линейных координатах калибровочный график: ось абсцисс - концентрация MUC 1 (M22) в калибровочных пробах (Ед/мл), ось ординат - оптическая плотность калибровочных проб ( $OP_{450}$ ).

9.2. Определить по калибровочному графику содержание MUC 1 (M22) в анализируемых пробах.

## 10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА.

10.1. Набор реагентов «MUC 1 (M22)-ИФА» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре  $+2-8^{\circ}\text{C}$  в течение всего срока годности (12 мес.). Допускается хранение Набора при температуре до  $+25^{\circ}\text{C}$  не более 5 сут.

10.2. Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 41 неизвестного образца, 6 калибровочных проб и 1 пробы контрольной сыворотки (всего 96 определений).

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

- вскрытые стрипы следует использовать в течение 1 ч, длительному хранению не подлежат;
- оставшиеся неиспользованными стрипы тщательно заклеить липкой лентой для заклеивания планшета и хранить в упаковке при температуре  $+2-8^{\circ}\text{C}$  в течение всего срока годности Набора;
- конъюгат и раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) после вскрытия флакона можно хранить при температуре  $+2-8^{\circ}\text{C}$  не более 1 мес;
- ИФА-Буфер и стоп-реагент после вскрытия флаконов можно хранить при температуре  $+2-8^{\circ}\text{C}$  в течение всего срока годности Набора;
- калибровочные пробы и контрольную сыворотку после вскрытия пробирок (флаконов) можно хранить при температуре  $+2-8^{\circ}\text{C}$  не более 1 мес; при необходимости более длительного хранения - при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$  в течение всего срока годности Набора;
- приготовленный отмывочный раствор можно хранить при комнатной температуре ( $+18-25^{\circ}\text{C}$ ) не более 2 дней или при температуре  $+2-8^{\circ}\text{C}$  не более 10 дней;
- оставшийся неиспользованным концентрат отмывочного раствора можно хранить при

температуре  $+2-8^{\circ}\text{C}$  в течение всего срока годности Набора;

**10.4.** Запрещается использовать стоп-реагенты из наборов других фирм-производителей.

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

*По вопросам, касающимся качества Набора реагентов «MUC 1 (M22)-ИФА», следует обращаться в ООО «Хема-Медика» по адресу: 125319, Москва, 4-я ул. 8 Марта, д. 3, стр.3, тел/факс (095) 1523160; 1523731.*

Руководитель исследовательского  
отдела ООО «Хема-Медика»  Кострикин

«СОГЛАСОВАНО»

Заведующий кафедрой клинической  
лабораторной диагностики  
ГОУ ДПО РМАПО Росздрава



 д.м.н., профессор В.В. Долгов