

НАБОР ИФА

ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ МАРКЕРА РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ UBC II

10-030, UBC II ELISA

Каталог. № : 10-030

Методика от 15-08-2011

Количество : 96

Производитель: IDL Biotech AB
(Швеция)



Основой при проведении анализа является оригинал инструкции на английском языке, вложенной в набор. Номер и дата версии оригинала и перевода инструкции должны совпадать.

ПРИМЕНЕНИЕ

UBC II является набором для исследования *in vitro* для количественного определения цитокератин 8 и 18 в моче. Набор является чувствительным индикатором активности опухолевых клеток в мочевом пузыре и может быть использован для оценки прогноза, мониторинга и контроля лечения.

ПРИНЦИП ИССЛЕДОВАНИЯ

Данный тест представляет собой сэндвич-методику, основанную на иммунохимической технике. Стандарты, контроли и образцы одновременно инкубируются с моноклональными антителами к антигенам UBC II, находящимися в ячейках микропланшета, и с антителами, конъюгированными с пероксидазой хрена. Ячейки промываются и вносится раствор ТМБ-субстрата. После остановки реакции считывается абсорбция. Интенсивность развившейся окраски прямо пропорциональна содержанию анализа.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Данный набор определяет определенные эпитопы цитокератина 8 и 18, используя моноклональные антитела 6D7 и 3F3. Не существует определяемой перекрестной реактивности с другими раково-ассоциированными антигенами, которые могут присутствовать в образце.

ОБРАЗЦЫ

Соберите произвольную порцию мочи, находившуюся в мочевом пузыре не менее 3 часов. Процентрифугируйте образцы мочи при 1000g в течение 10 минут и разбавьте супернатант 1:10 разбавителем мочи перед анализом. Разбавленные образцы стабильны не более 5 дней при 2-8°C. Для более длительного хранения заморозьте образцы до -20°C. Избегайте повторных циклов замораживания/оттаивания. Не используйте контаминированные образцы или образцы с явной гематурией.

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ ДЛЯ ПОЛЬЗОВАТЕЛЕЙ

1. Набор предназначен только для *in vitro* диагностики.
2. Рекомендуется использовать одноразовые перчатки и лабораторную спецодежду.
3. Не использовать реагенты после истечения срока их годности.
4. Не использовать реагенты разных лотов.
5. Компоненты набора и исследуемые образцы сыворотки крови следует рассматривать как потенциальный источник инфекции и использовать при работе с ними все необходимые меры предосторожности.
6. Избегайте контаминации реагентов.
7. Проводите анализ соответственно GLP.
8. Точность теста зависит от точности следования инструкции и точности пипетированных объемов.
9. Стоп-раствор содержит серную кислоту, которая может привести к раздражению кожи и повреждению глаз при прямом попадании. В этом случае промойте большим количеством проточной воды и обратитесь, при необходимости, к врачу.
10. ТМБ-субстрат может привести к раздражению кожи и повреждению глаз при прямом попадании. В этом случае промойте большим количеством проточной воды и обратитесь, при необходимости, к врачу.
11. Компоненты набора содержат ProClip 300 в качестве консерванта. Может вызывать аллергию. При контакте промойте большим количеством проточной воды и обратитесь, при необходимости, к врачу.

12. Список опасных материалов набора – по запросу.

НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Микропланшетный ридер (длина волны 450 нм)
Микропланшетный шейкер (450 об/мин)
Микропланшетное промывочное оборудование
Лабораторное оборудование, как то точные пипетки, вортекс

РАЗБАВЛЕНИЕ СТАНДАРТА

Восстановите стандарт 1 мл свежей деионизированной воды. Дайте содержимому флакона раствориться в течение 15 минут при комнатной температуре. К разбавленному стандарту добавьте 3 мл разбавителя для получения общего объема 4 мл. Тщательно перемешайте на вортексе. Концентрация полученного стандарта составляет 15 мкг/л. Используйте разбавитель в качестве стандарта 0 мкг/л. Приготовьте 6 стандартов путем разбавления стандарта 15 мкг/л согласно таблице:

Стандарт (мкг/л)	Объем стандарта 15 мкг/л (мкл)	Объем разбавителя (мкл)
0	0	1000
1.0	100	1400
2.5	100	500
5	600	1200
10	600	300
15	1000	0

Тщательно перемешайте стандарты на вортексе.

КОМПОНЕНТЫ НАБОРА

Материалы достаточны для 96 определений.

Стрипованный микропланшет с лунками, покрытыми моноклональными антителами 6D7 и 3F3 к цитокератину 8 и 18- 1 планшет на 96 лунок (12 стрипов по 8 лунок) в запечатанном пакете с осушителем. Готов к использованию.

Конъюгат HRP, 2 флакона по 0.5 мл (11x концентрат) - конъюгат HRP-антител в стабилизированном белковом буфере, pH 7.5, с консервантом. Разводится разбавителем (0 мкг/л стандарт). Консервант голубого цвета.

Разбавитель (Стандарт 0 мкг/л), 2 флакона по 15 мл - стабилизированный белковым Буфером, pH 7.5, с консервантом. Готов к использованию.

Разбавитель мочи, 1 флакон 20 мл (концентрат 2.5x) - стабилизированный белковым буфером, pH 7.5, с консервантом. Разбавляется 30 мл свежей деионизированной воды.

Стандарт, 1 флакон, 4 мл - лиофилизированный стандарт цитокератина стабилизированный белковым буфером, pH 7.5, с консервантом.

Контроли, (высокий/низкий), 2 флакона, 1 мл/фл. - лиофилизированные контроли цитокератина, стабилизированный белковым буфером, pH 7.5, с консервантом. Желтого цвета.

Таблетка промывающего буфера, 1 шт. Таблетку нужно развести 500 мл свежей деионизированной воды.

Субстрат ТМБ, 1 флакон 22 мл – Защищайте от света и храните тщательно закрытым. Не используйте субстрата больше, чем нужно для анализа. Готов к использованию.

Стоп-раствор, 1 флакон 12 мл - готовый к использованию стоп-раствор (0,5M серная кислота).

Покрывная пленка. – 1 лист. Покрывная пленка на микропланшет.

Сертификат – 1 протокол. Сертификат лота.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

Исследование нужно проводить при комнатной температуре (22±6 °C)

1. Позвольте реагентам достичь комнатной температуре и перемешайте на вортексе перед использованием.
2. Разбавьте разбавитель мочи 30 мл деионизированной воды, до концентрации 1x.
3. Разбавьте образец 1:10 разбавителем мочи (1x) перед анализом.
4. Приготовьте стандарты (см.выше).
5. Разбавьте контроли 1 мл деионизированной воды на каждый флакон. Дайте содержимому флаконов раствориться в течение 10 минут, затем тщательно перемешайте. Контроли готовы к использованию через 15 минут после разбавления.
6. Исходя из количества необходимых стрипов, разбавьте конъюгат антител с пероксидазой хрена (концентрат 11x) разбавителем (стандарт 0 мкг/л)(5,0 мл/фл). Осторожно перемешайте.
7. Внесите по 100 мкл стандартов, контролей и образцов в соответствующие ячейки в дублях. Оставьте 2 ячейки под бланк.
8. Внесите по 100 мкл разбавленного конъюгата антител с пероксидазой хрена во все ячейки, кроме пустых ячеек бланка. Накройте микропланшет поставляемой пленкой. Внимание:

- Шаги 7 и 8 выполняйте без перерыва.
9. Инкубируйте 2 часа \pm 2 минуты на шейкере при 450 грт.
 10. Приготовьте промывочный раствор. Растворите таблетку промывающего буфера в 500 мл деионизированной воды.
 11. Удалите содержимое ячеек и промойте их 3 раза 300 мкл промывающего раствора.
 12. Внесите по 200 мкл раствора субстрата ТМБ в каждую ячейку, включая две пустые ячейки для бланка. Инкубируйте в течение 15 минут \pm 1 минуту в темноте.
 13. Внесите по 100 мкл стоп-раствора в каждую ячейку. Инкубируйте ячейки на шейкере в течение 1 минуты при 450 грт.
 14. Определите оптическую плотность ячеек при 450 нм не позднее 30 минут после внесения стоп-раствора.
 15. Рассчитайте концентрацию цитокератинов 8 и 18 в мкг/л в образцах. Умножьте на фактор разбавления. Образцы, (в разведении 1:10) показавшие концентрацию выше 15 мкг/л, должны быть разведены разбавителем мочи и повторно проанализированы.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для обработки результатов рекомендуется использовать компьютер и специальное программное обеспечение, возможно построение калибровочной кривой на миллиметровой бумаге. Для генерации достоверных данных, убедитесь, что контроли находятся в заявленном диапазоне.

Ручная обработка результатов:

Вычитите значение ОП бланка из значений ОП всех ячеек. Рассчитайте среднее значение для каждого дубля. Постройте калибровочную кривую, откладывая среднее значение поглощения стандарта по оси Y, а соответствующую концентрацию - по оси X. Определите концентрации образцов пациентов с использованием построенной кривой. Полученные значения умножьте на фактор разбавления.

ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Храните все компоненты набора при 2-8°C. Не замораживать! Если реагенты не использованы сразу, храните их в оригинальных упаковках. Если не использованы все стрипы сразу, запечатайте их в пакете, включая десикант. Промывочный раствор стабилен 4 недели, при 2-8°C. Набор, включая разбавленный ферментный конъюгат, может храниться 4 недели при 2-8°C. Разбавленные контроли могут храниться при 2-8°C в течение 4 недель.

Перед использованием приведите все реагенты к комнатной температуре и осторожно перемешайте на вортексе. Не смешивайте реагенты из различных лотов.

Оптическая плотность ячеек необходимо определять на микропланшетном ридере с фильтром 450 нм. Возможно использование фильтра сравнения 630 нм.

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный тест не должен использоваться в качестве скрининга рака. Результаты исследования необходимо интерпретировать совместно с имеющимися клиническими данными. Повышенные значения также могут быть обнаружены в случаях доброкачественной гиперплазии простаты, карциномах мочеиспускательного тракта выше по локализации, и инфекциях мочеиспускательного тракта. Если подозревается текущая инфекция, возможно, будет необходимо повторить анализ двумя неделями позже. Данный тест не следует проводить при терапии, особенно интравезикальной. При использовании данного теста не требуется коррекция по креатинину.

ХАРАКТЕРИСТИКИ АНАЛИЗА

Диапазон измерений. Диапазон измерений 0-15 мкг/л. Набор не показывает hook-эффекта высокой дозы вплоть до 500 мкг/л.

Воспроизводимость:

CV внутри серии для стандартов и образцов мочи составляет менее 5%. CV между сериями составляет менее 5%.

Чувствительность анализа:

Чувствительность данного анализа составляет 0.1 мкг/л. Предел чувствительности представляет собой концентрацию цитокератинов 8 и 18, определенную как 3 SD выше среднего результата определения стандарта 0 мкг/л.

Ожидаемые значения.

95 перцентиль для исходно здоровых особей (шведов) составляет до 35 мкг/л. В связи с возможными различиями между лабораториями и популяциями, различиями между референсными группами, лабораторной техникой, мы рекомендуем для каждой лаборатории установить собственный нормальный диапазон.

Извлечение:

Определенные количества цитокератина 8 и 18 добавлялись в образцы человеческой мочи. Извлечение составляет 91-98%.

ГАРАНТИИ

Указанные значения получены при использовании вышеуказанной процедуры. Любые изменения и модификации процедуры не рекомендуются производителем и могут влиять на полученные результаты.



ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

ООО «ДИАМЕБ»
ул. Чорновола, 97
г. Ивано-Франковск, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com