



# XEMA

ООО «ХЕМА»  
105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 5 эт.  
+7 (495) 510-57-07  
8 800 505-23-45  
sale@xema.ru  
www.xema-medica.com

10.02.2022

Исх. № 10-01/02

## STATEMENT

We, XEMA Co., Ltd. Having a registered office at 48, 9<sup>th</sup> Parkovaya st., 104264 Moscow, Russia, assign Sanmedico Srl. Having a registered office at srt. A. Corobceanu 7A, apt. 9, Chişinău MD 2012, Moldova, as authorized representative in correspondence with the conditions of directive 93/42/EEC, 98/79/EEC and 90/385/EEC.

We declare that the company mentioned above is authorized to register, notify, renew or modify the registration of medical devices on the territory of the Republic of Moldova.

Signature:



Dmitry S. Kostrikin

Deputy general manager

# Certificate

## Of Marketing Authorization of Medical Product

Nr. **AR/IVMD/Xema/01/2020**

Issued on the basis of the Declaration of conformity and registration taking into account Article 10 of Directive 98/79/EC on In Vitro Diagnostic Medical Devices and Medical Devices Act (MPG) § § 5,25,29,30

Ausgestellt auf Grund der Konformitätserklärung und Registrierung unter Berücksichtigung der Richtlinie 98/97/EG Artikel 10 über In-vitro-Diagnostika und Medizinproduktgesetz (MPG) §§ 5,25,29,30

**Manufacturer:**  
Hersteller

**Xema Co., Ltd.**

bld.4, 48, The 9th Parkovaya str.  
Moscow 105264, RUSSIA,  
info@xema.ru; www.xema.ru

**Product name:**  
Produkt

**See annex to the Certificate**  
Siehe Anhang zum Zertifikat

**Product Classification:**  
Produktklassifizierung

**In Vitro Diagnostic Medical Devices**  
In-vitro-Diagnostikum (IVD) Medizinprodukte

**Category:**  
Kategorie

**Common/ Other IVD**  
Sonstige IVD-Produkte

**Conformity Module:**  
Konformitätsmodul

**Module A (EC Declaration of Conformity)**  
**(Annex III, except point 6, Directive 98/79/EC)**  
Modul A (EG-Konformitätserklärung)  
(Anhang III, außer Nummer 6, Richtlinie 98/79 / EG)

**Lead Competent Authority:**  
Zuständige Behörde

**DIMDI** – German Institute of Medical Documentation and Information  
**DIMDI** – Deutsches Institut für Medizinische Dokumentation und Information

**Product Registration Ref. No.:**  
**(Per Article 10, Directive 98/79/EC)**  
Produkt Registrationsnummer  
(Gemäß Artikel 10 der Richtlinie 98/79 / EG)

**See annex to the Certificate**  
Siehe Anhang zum Zertifikat

**Date of issue: 2020-01-01**  
Das Ausstellungsdatum

**Valid to : 2022-05-25**  
Gültig bis

**Represented in the EC by Polmed.de**  
Steinacker 5, 73773 Aichwald, Germany  
email: [info@polmed.de](mailto:info@polmed.de)  
tel: +49 711 52853279



Polmed.de



**Annex to the Certificate No.:**

Anhang zum Zertifikat Nr.:

**AR/IVMD/Xema/01/2020**

The following medical devices can be placed on the market in the Federal Republic of Germany, in the member states of the European Economic Community (EEC) and in the other contract states of the agreement about the European Economic Area.

Die folgenden Medizinprodukte in der Bundesrepublik Deutschland, in den Mitgliedsstaaten der Europäischen Wirtschaftsgemeinschaft (EG) und in den Vertragsstaaten der EG in den Verkehr gebracht werden dürfen.

|     | <b>Nomenclature term<br/>Nomenklaturbezeichnung</b> | <b>Catalog No.<br/>Katalog-Nr.</b> | <b>Name of device Produktbezeichnung</b>   | <b>DIMDI<br/>Registration number<br/>Registriernummer</b> |
|-----|---|------------------------------------|--|---|
| 1.  | THYROID PEROXIDASE (INCL. MICROSOMAL) ANTIBODIES    | K131                               | aTPO EIA Cat. Nr K131  | DE/CA37/IVD/13/44   |
| 2.  | THYROGLOBULIN AUTOANTIBODIES                        | K132                               | aTG EIA Cat. Nr K132   | DE/CA37/IVD/13/43   |
| 3.  | MPO ANCA  | K133                               | aMPO EIA Cat. Nr K133  | DE/CA37/IVD/13/42   |
| 4.  | TISSUE TRANSGLUTAMINASE ANTIBODIES                  | K160<br>K161                       | Anti-tTG IgG EIA Cat. Nr K160;<br>Anti-tTG IgA EIA Cat. Nr K161  | DE/CA37/IVD/13/41   |
| 5.  | GLIADIN ANTIBODIES                                  | K180<br>K181<br>K182A<br>K182G     | Gliadin IgG EIA Cat. Nr K180;<br>Gliadin IgA EIA Cat. Nr K181 ;<br>Deamidated Gliadin IgA EIA,<br>Deamidated Gliadin IgG EIA | DE/CA37/IVD/13/40   |
| 6.  | IMMUNOGLOBULIN E – TOTAL                            | K200                               | Total IgE EIA Cat. Nr K200   | DE/CA37/IVD/13/39   |
| 7.  | THYROID STIMULATING HORMONE                         | K201<br>K201A                      | TSH EIA Cat. Nr K201;<br>TSH Plus EIA Cat. Nr K201A  | DE/CA37/IVD/13/38   |
| 8.  | LUTEINISING HORMONE                                 | K202                               | LH EIA Cat. Nr K202  | DE/CA37/IVD/13/37   |
| 9.  | FOLLICLE STIMULATING HORMONE                        | K203                               | FSH EIA Cat. Nr K203   | DE/CA37/IVD/13/36   |
| 10. | HUMAN GROWTH HORMONE                                | K204                               | GH EIA Cat. Nr K204  | DE/CA37/IVD/13/35   |
| 11. | HUMAN CHORIONIC GONADOTROPIN TOTAL                  | K205                               | HCG EIA Cat. Nr K205   | DE/CA37/IVD/13/34   |
| 12. | PROLACTIN   | K206                               | Prolactin EIA Cat. Nr K206   | DE/CA37/IVD/13/33   |
| 13. | PROGESTERONE  | K207<br>K207S                      | Progesterone EIA Cat. Nr K207 ;<br>Salivary Progesterone EIA   | DE/CA37/IVD/13/32   |
| 14. | ESTRADIOL   | K208                               | Estradiol EIA Cat. Nr K208   | DE/CA37/IVD/13/31   |
| 15. | TESTOSTERONE (WITH DEHYDRO AND FREE TESTOSTERONE)   | K209<br>K209S                      | Testosterone EIA Cat. Nr K209 ;<br>Salivary Testosterone EIA   | DE/CA37/IVD/13/30   |
| 16. | CORTISOL  | K210<br>K210S                      | Cortisol EIA Cat. Nr K210 ;<br>Salivary Cortisol EIA   | DE/CA37/IVD/13/29   |
| 17. | TRIIODOTHYRONINE                                    | K211                               | T3 EIA Cat. Nr K211  | DE/CA37/IVD/13/28   |
| 18. | THYROXINE   | K212                               | T4 EIA Cat. Nr K212  | DE/CA37/IVD/13/27   |
| 19. | FREE TRIIODOTHYRONINE                               | K213                               | Free T3 EIA Cat. Nr K213   | DE/CA37/IVD/13/26   |
| 20. | FREE THYROXINE                                      | K214                               | Free T4 EIA Cat. Nr K214   | DE/CA37/IVD/13/25   |
| 21. | DEHYDRO-EPIANDROSTERONE SULPHATE (INCL. DHEA)       | K215                               | DHEA-S EIA Cat. Nr K215  | DE/CA37/IVD/13/24   |
| 22. | 17 OH PROGESTERONE                                  | K217                               | 17-OH-Progesterone EIA<br>Cat. Nr K217   | DE/CA37/IVD/13/22   |
| 23. | CANCER ANTIGEN 125                                  | K222                               | CA 125 EIA Cat. Nr K222  | DE/CA37/IVD/13/23   |
| 24. | CANCER ANTIGEN 19-9                                 | K223                               | CA 19.9 EIA Cat. Nr K223   | DE/CA37/IVD/13/21   |
| 25. | CARCINOEMBRYONIC ANTIGEN                            | K224                               | CEA EIA Cat. Nr K224   | DE/CA37/IVD/13/20   |

The above-mentioned medical products are marked with the CE symbol.  
Die oben genannten medizinischen Produkte sind mit dem CE-Zeichen gekennzeichnet.

**Annex to the Certificate No.:**

Anhang zum Zertifikat Nr.:

**AR/IVMD/Xema/01/2020**

The following medical devices can be placed on the market in the Federal Republic of Germany, in the member states of the European Economic Community (EEC) and in the other contract states of the agreement about the European Economic Area.

Die folgenden Medizinprodukte in der Bundesrepublik Deutschland, in den Mitgliedsstaaten der Europäischen Wirtschaftsgemeinschaft (EG) und in den Vertragsstaaten der EG in den Verkehr gebracht werden dürfen.

|     | <b>Nomenclature term<br/>Nomenklaturbezeichnung</b> | <b>Catalog No.<br/>Katalog-Nr.</b> | <b>Name of device Produktbezeichnung</b>  | <b>DIMDI<br/>Registration number<br/>Registriernummer</b> |
|-----|---|------------------------------------|---|---|
| 26. | ALPHAFETOPROTEIN                                    | K225                               | AFP EIA Cat. Nr K225  | DE/CA37/IVD/13/19   |
| 27. | CANCER ANTIGEN 15-3                                 | K226                               | M12 (CA 15.3) EIA Cat. NrK226   | DE/CA37/IVD/13/18   |
| 28. | OTHER CANCER ANTIGENS                               | K227<br>K228                       | MUC1 M22 EIA Cat. Nr K227;<br>MUC1 M20 EIA Cat. Nr K228   | DE/CA37/IVD/13/17   |
| 29. | OTHER OTHER TUMOUR MARKERS                          | K232                               | Thyroglobulin EIA Cat. Nr K232  | DE/CA37/IVD/13/16   |
| 30. | β HUMAN CHORIONIC GONADOTROPIN (INCL. SUBUNIT)      | K235                               | Free beta HCG EIA Cat. Nr K235  | DE/CA37/IVD/13/15   |
| 31. | PREGNANCY ASSOCIATED PLASMA PROTEIN - A (DOWNS)     | K238                               | PAPP-A EIA Cat. Nr K238   | DE/CA37/IVD/13/14   |
| 32. | OTHER OTHER PLASMA PROTEINS                         | K240                               | Alveomucin EIA Cat. Nr K240   | DE/CA37/IVD/13/13   |
| 33. | C-REACTIVE PROTEIN                                  | K250                               | CRP EIA Cat. Nr K250  | DE/CA37/IVD/13/12   |
| 34. | SEX HORMONE BINDING GLOBULIN                        | K268                               | SHBG EIA Cat. Nr K268   | DE/CA37/IVD/13/11   |
| 35. | TROPONIN (T + I)                                    | K291                               | Troponin I EIA Cat. Nr K291   | DE/CA37/IVD/13/10   |
| 36. | IMMUNOGLOBULIN G                                    | K271                               | Total IgG EIA Cat. Nr K271  | DE/CA37/IVD/13/9  |
| 37. | IMMUNOGLOBULIN G SUBCLASS REAGENTS                  | K272<br>K274                       | IgG2 EIA Cat. Nr K272;<br>IgG4 EIA Cat. Nr K274   | DE/CA37/IVD/13/8  |
| 38. | IMMUNOGLOBULIN A                                    | K275                               | Total IgA EIA Cat. Nr K275  | DE/CA37/IVD/13/7  |
| 39. | IMMUNOGLOBULIN M                                    | K277                               | Total IgM EIA Cat. Nr K277  | DE/CA37/IVD/13/6  |
| 40. | RHEUMATOID/AUTOIMMUNE CONTROLS                      | KQ13<br>KQ14<br>KQ15               | AutoQon AT immunoassay control set Cat. Nr KQ13;<br>AutoQon ANA/ENA immunoassay control set Cat. Nr KQ14;<br>AutoQon ACL immunoassay control set Cat. Nr KQ15 | DE/CA37/IVD/13/5  |
| 41. | HORMONE CONTROLS                                    | KQ21                               | HormoQon immunoassay control set Cat. Nr KQ21   | DE/CA37/IVD/13/4  |
| 42. | TUMOUR MARKER CONTROLS                              | KQ22                               | OmaQon immunoassay control set Cat. Nr KQ22   | DE/CA37/IVD/13/3  |
| 43. | CYFRA 21-1  | K236                               | CYFRA 21-1 EIA  | DE/CA37/IVD/13/45   |
| 44. | CANCER ANTIGEN 72-4                                 | K244                               | CA 72-4 EIA   | DE/CA37/IVD/13/46   |
| 45. | NEONATAL THYROID STIMULATING HORMONE                | K201N                              | TSH-Neo EIA   | DE/CA37/IVD/13/47   |
| 46. | ESTRIOL   | K218                               | Free Estriol EIA  | DE/CA37/IVD/13/48   |
| 47. | IMMUNOGLOBULIN E - MONOTEST/MONORESULT - MULTI AG   | K200S                              | Specific IgE EIA  | DE/CA37/IVD/13/49   |
| 48. | KAPPA AND LAMBDA CHAIN                              | K279K<br>K279L                     | Free kappa Igg light chain EIA,<br>Free lambda Igg light chain EIA  | DE/CA37/IVD/13/50   |
| 49. | TRYPsin NEONATAL                                    | K242                               | Neonatal IRT EIA Cat. Nr K242   | DE/CA37/IVD/13/51   |
| 50. | NEURON SPECIFIC ENOLASE                             | K234                               | NSE EIA Cat. Nr K234  | DE/CA37/IVD/13/52   |

The above-mentioned medical products are marked with the CE symbol.  
 Die oben genannten medizinischen Produkte sind mit dem CE-Zeichen gekennzeichnet.



**Annex to the Certificate No.:**

Anhang zum Zertifikat Nr.:

**AR/IVMD/Xema/01/2020**

The following medical devices can be placed on the market in the Federal Republic of Germany, in the member states of the European Economic Community (EEC) and in the other contract states of the agreement about the European Economic Area.

Die folgenden Medizinprodukte in der Bundesrepublik Deutschland, in den Mitgliedsstaaten der Europäischen Wirtschaftsgemeinschaft (EG) und in den Vertragsstaaten der EG in den Verkehr gebracht werden dürfen.

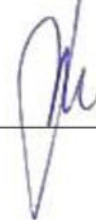
|     | <b>Nomenclature term<br/>Nomenklaturbezeichnung</b> | <b>Catalog No.<br/>Katalog-Nr.</b> | <b>Name of device Produktbezeichnung</b>   | <b>DIMDI<br/>Registration number<br/>Registriernummer</b> |
|-----|---|------------------------------------|--|---|
| 50. | NEURON SPECIFIC ENOLASE                             | K234                               | NSE EIA Cat. Nr K234   | DE/CA37/IVD/13/52   |
| 51. | OTHER OTHER TUMOUR MARKERS                          | K239                               | HE – 4 EIA Cat. Nr K239  | DE/CA37/IVD/13/53   |
| 52. | HSV IgG   | K104                               | HSV ½ IgG EIA (Cat. Nr K104)   | DE/CA37/IVD/13/67   |
| 53. | HSV IgM   | K104M                              | HSV ½ IgM EIA (Cat. Nr K104M)  | DE/CA37/IVD/13/66   |
| 54. | MYCOPLASMA ANTIBODY ASSAYS                          | K106                               | Mycoplasma IgG EIA (Cat. Nr K106)  | DE/CA37/IVD/13/65   |
| 55. | SYPHILIS ANTIBODY ASSAYS TOTAL                      | K111                               | Treponema pallidum Total Ab EIA (Cat. Nr K111)   | DE/CA37/IVD/13/64   |
| 56. | SYPHILIS ANTIBODY IGG                               | K111G                              | Treponema pallidum IgG EIA (Cat. Nr K111G)   | DE/CA37/IVD/13/63   |
| 57. | SYPHILIS ANTIBODY IGM                               | K111M                              | Treponema pallidum IgM EIA (Cat. Nr K111M)   | DE/CA37/IVD/13/62   |
| 58. | H. PYLORI ANTIBODY ASSAYS                           | K119                               | H.pylori IgG EIA (Cat. Nr K119)  | DE/CA37/IVD/13/61   |
| 59. | H. PYLORI ANTIBODY ASSAYS                           | K119M                              | H.pylori IgM EIA (Cat. Nr K119M)   | DE/CA37/IVD/13/60   |
| 60. | ASPERGILLUS   | K121                               | Aspergillus IgG EIA (Cat. Nr K121)   | DE/CA37/IVD/13/59   |
| 61. | OTHER OTHER BACTERIOLOGY IMMUNOASSAY                | K126                               | Ureaplasma IgG EIA (Cat. Nr K126)  | DE/CA37/IVD/13/58   |
| 62. | GIARDIA LAMBLIA                                     | K171<br>K171X                      | Giardia lamblia Total Ab EIA (Cat. Nr 171)<br>Giardia lamblia IgG/IgM/IgA EIA (Cat. No. K171X) | DE/CA37/IVD/13/57Ä1                                       |
| 63. | OTHER TUMOUR MARKER RAPID TESTS                     | X220V                              | XEMAtestOvaScreen (Cat. Nr X220V)  | DE/CA37/IVD/13/56   |
| 64. | OTHER TUMOUR MARKER RAPID TESTS                     | X222                               | XEMAtestCA125 (Cat. Nr X222)   | DE/CA37/IVD/13/55   |
| 65. | OTHER TUMOUR MARKER RAPID TESTS                     | X239                               | XEMAtestHE4 (Cat. Nr X239)   | DE/CA37/IVD/13/54   |
| 66. | IMMUNOGLOBULIN A IgA                                | K276                               | SECRETORY IgA (sIgA) EIA (Cat. No. K276)   | DE/CA37/IVD/13/68   |
| 67. | ECHINOCOCCUS  | K175                               | Cestodes IgG EIA (Cat. No. K175)   | DE/CA37/IVD/13/72E  |
| 68. | DISTOMATOSIS  | K176                               | Fasciola IgG EIA (Cat. No. K176)   | DE/CA37/IVD/13/71E  |
| 69. | TESTOSTERONE (WITH DEHYDRO AND FREE TESTOSTERONE)   | K219                               | Free Testosterone EIA (Cat. No. K219)  | DE/CA37/IVD/13/70E  |
| 70. | HUMAN PLACENTAL LACTOGEN HPL                        | K246                               | Human Placental Lactogen EIA (Cat. No. K246)   | DE/CA37/IVD/13/69E  |
| 71. | CANCER ANTIGEN 242                                  | K243                               | CA 242 EIA (Cat. No. K243)   | DE/CA37/IVD/13/73   |
| 72. | INSULIN   | K267N                              | Insulin EIA (Cat. No. K267N)   | DE/CA37/IVD/13/77   |
| 73. | C-PEPTIDE   | K267C                              | C-peptide EIA (Cat. No. K267C)   | DE/CA37/IVD/13/76   |
| 74. | OTHER PREGNANCY TESTING HORMONES                    | K245                               | AMH EIA (Cat. No. K245)  | DE/CA37/IVD/13/75   |
| 75. | SQUAMOUS CELL CARCINOMA ANTIGEN                     | K237                               | SCC(A) EIA (Cat. No. K237)   | DE/CA37/IVD/13/74   |
| 76. | ASPERGILLUS   | K021                               | GalM Ag EIA (Cat. No. K021)  | DE/CA37/IVD/13/78   |

The above-mentioned medical products are marked with the CE symbol.  
Die oben genannten medizinischen Produkte sind mit dem CE-Zeichen gekennzeichnet.

Represented in the EC by Polmed.de  
Steinacker 5, 73773 Aichwald, Germany  
email: [info@polmed.de](mailto:info@polmed.de)  
tel: +49 711 52853279



Date: January 01, 2020



Polmed.de

# MANAGEMENT SYSTEM CERTIFICATE

Certificate No:  
282710-2019-AQ-MCW-FINAS

Initial certification date:  
14 February 2019

Valid:  
14 February 2019 - 14 February 2022

This is to certify that the management system of

## **XEMA Co, LTD**

bldg. 48, 9-th Parkovaya str., Moscow, Russian Federation, 105264  
and the sites as mentioned in the appendix accompanying this certificate

has been found to conform to the Quality Management System standard:  
**ISO 9001:2015**

This certificate is valid for the following scope:

**Design and development, manufacturing and sales of in vitro tests for food and feed control, clinical and veterinary diagnostics and forensic investigations.**

Place and date:  
**Moscow, 14 February 2019**



For the issuing office:  
**DNV GL – Business Assurance  
Trekhpudny per. 9 build. 2, office 406,  
Moscow, Russian Federation**

*S. Groubine*

**Serguei Groubine**  
Management Representative

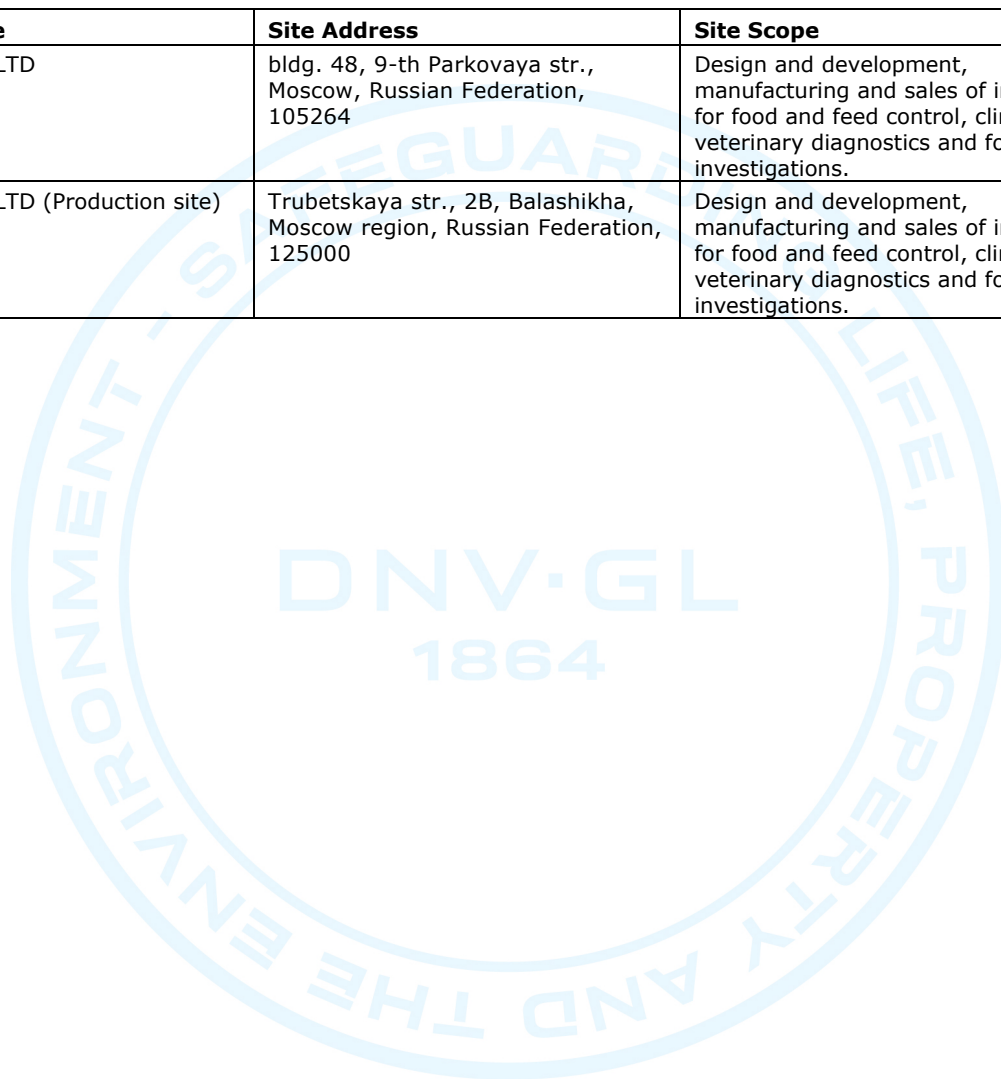
Certificate No: 282710-2019-AQ-MCW-FINAS  
 Place and date: Moscow, 14 February 2019

## Appendix to Certificate

### XEMA Co, LTD

Locations included in the certification are as follows:

| Site Name                      | Site Address  | Site Scope  |
|--------------------------------|---|---|
| XEMA Co, LTD                   | bldg. 48, 9-th Parkovaya str.,<br>Moscow, Russian Federation,<br>105264           | Design and development,<br>manufacturing and sales of in vitro tests<br>for food and feed control, clinical and<br>veterinary diagnostics and forensic<br>investigations. |
| XEMA Co, LTD (Production site) | Trubetskaya str., 2B, Balashikha,<br>Moscow region, Russian Federation,<br>125000 | Design and development,<br>manufacturing and sales of in vitro tests<br>for food and feed control, clinical and<br>veterinary diagnostics and forensic<br>investigations. |



# MANAGEMENT SYSTEM CERTIFICATE

Certificate No:  
53899-2009-AQ-MCW-FINAS

Initial certification date:  
22 May 2009

Valid:  
22 January 2019 - 30 April 2021

This is to certify that the management system of

## **XEMA CO., LTD.**

bldg. 48, 9-th Parkovaya str., Moscow, Russian Federation, 105264  
and the sites as mentioned in the appendix accompanying this certificate

has been found to conform to the Quality Management System standard:  
**ISO 13485:2016**

This certificate is valid for the following scope:

**DESIGN, DEVELOPMENT, MANUFACTURING AND SALES OF KITS FOR IVD  
USE.**

Place and date:  
**Moscow, 22 January 2019**



For the issuing office:  
**DNV GL – Business Assurance  
Trekhpudny per. 9 build. 2, office 406,  
Moscow, Russian Federation**

*S. Groubine*

**Serguei Groubine**  
Management Representative



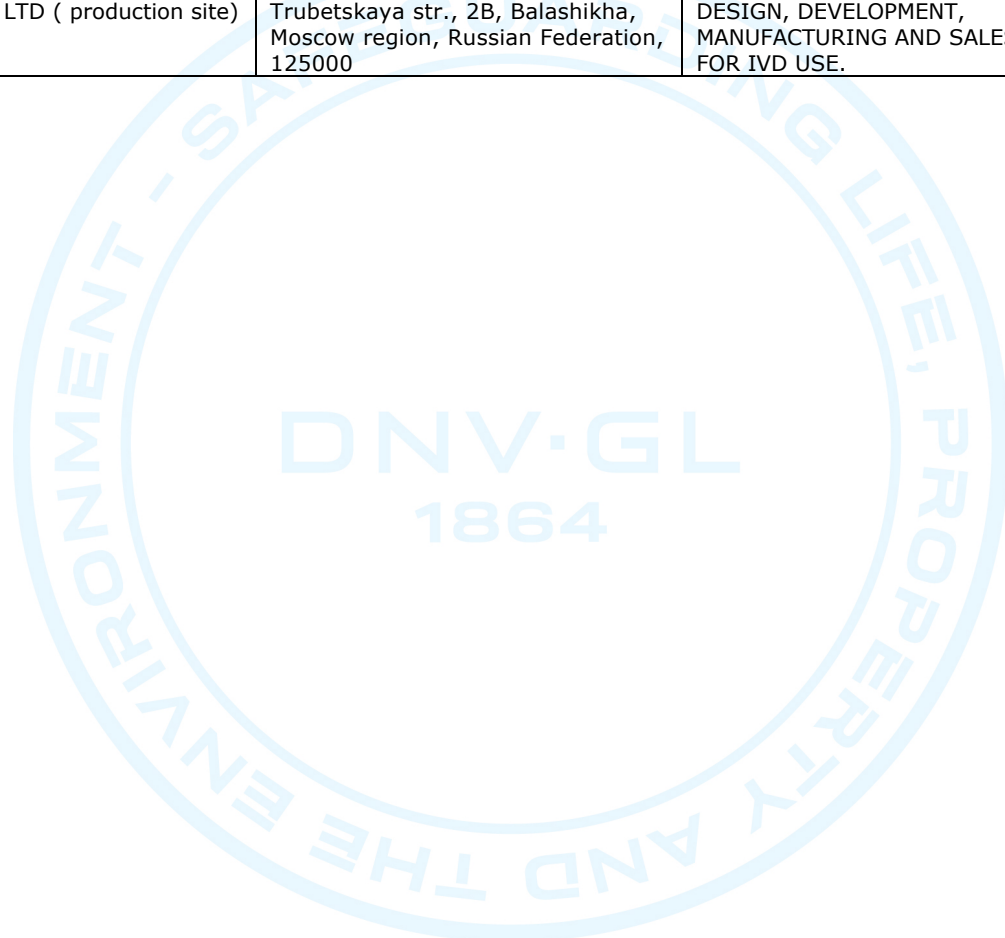
Certificate No: 53899-2009-AQ-MCW-FINAS  
Place and date: Moscow, 22 January 2019

## Appendix to Certificate

### XEMA CO., LTD.

Locations included in the certification are as follows:

| Site Name                        | Site Address  | Site Scope  |
|----------------------------------|---|---|
| XEMA CO., LTD.                   | bldg. 48, 9-th Parkovaya str.,<br>Moscow, Russian Federation,<br>105264           | DESIGN, DEVELOPMENT,<br>MANUFACTURING AND SALES OF KITS<br>FOR IVD USE. |
| XEMA Co., LTD ( production site) | Trubetskaya str., 2B, Balashikha,<br>Moscow region, Russian Federation,<br>125000 | DESIGN, DEVELOPMENT,<br>MANUFACTURING AND SALES OF KITS<br>FOR IVD USE. |





Instruction for use



**РУКОВОДСТВО ПОЛЬЗОВАТЕЛЯ  
НАБОР РЕАГЕНТОВ  
ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ  
ТИРЕОТРОПНОГО ГОРМОНА В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ**

**«ТТГ-ИФА»**

**A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY  
FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF TSH  
IN HUMAN SERUM OR PLASMA**

**TSH EIA**

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ REF **K201**

ТУ № 9398-201-18619450-2010

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ  
№ ФСР 2007/00665 от 25 октября 2010 г.

Антитела к ВИЧ 1,2, вирусу гепатита С и HBsAg отсутствуют  
Контрольные сыворотки, входящие в состав набора, инактивированы.



For 96 determinations/На 96 определений



Для *ин витро* диагностики

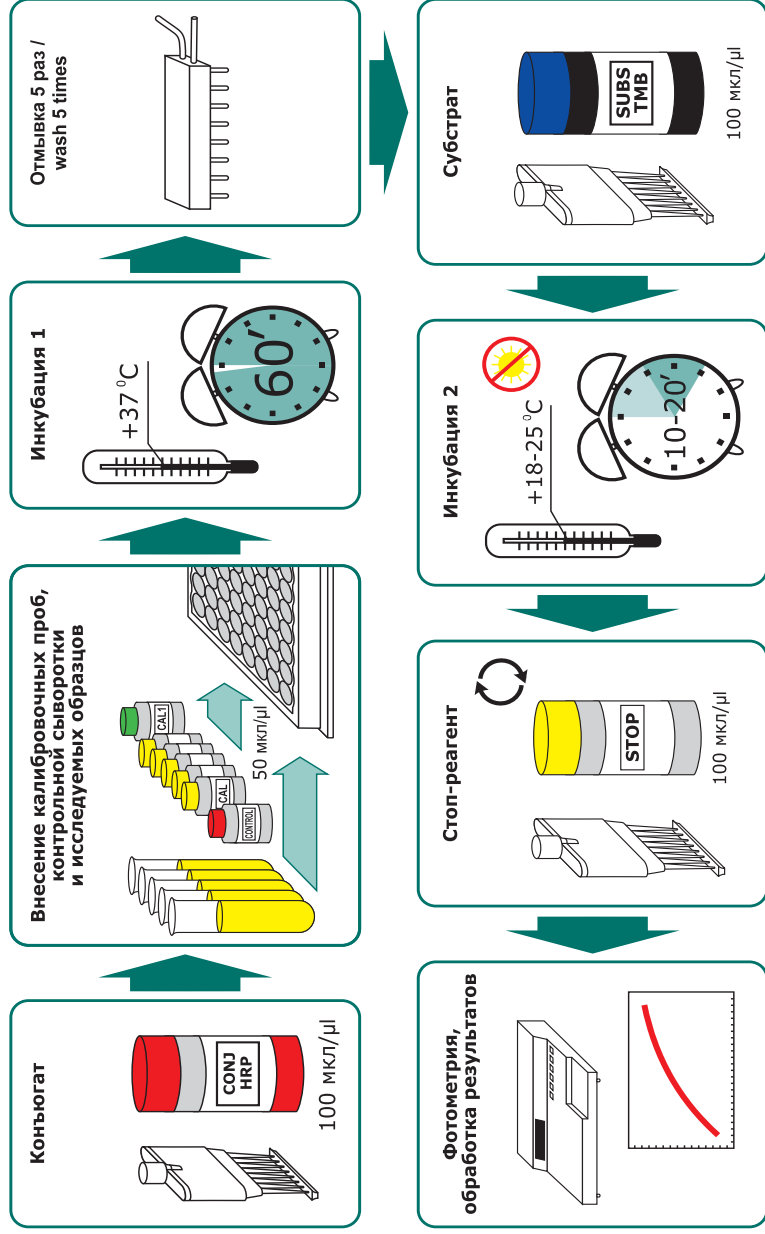


XEMA Co., Ltd.  
The 9th Parkovaya str., 48  
105264 Moscow, Russia  
Telephone/fax: +7(495) 737-39-36; 737-00-40  
e-mail: redkin@xema-medica.com  
internet: www.xema-medica.com



Authorized Representative in EU:  
Polmed.de  
Steinacker 20, D-73773  
Aichwald, Germany  
e-mail: info@polmed.de

## Схема проведения анализа / Test procedure



**K201; K202-206; K221; K224; K225**



**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 |

Руководство составлено руководителем службы клиентского сервиса  
ООО «ХЕМА», к. б. н. Д. С. Кострикиным

## **НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТИРЕОТРОПНОГО ГОРМОНА В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «ТТГ-ИФА»**

### **1. НАЗНАЧЕНИЕ**

**1.1.** Набор реагентов «ТТГ-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации тиреотропного гормона в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

**1.2.** Тиреотропный гормон (ТТГ) - гликопротеин с молекулярной массой около 30 кДа, секретируется передней долей гипофиза. Молекула ТТГ состоит из двух нековалентно связанных полипептидных цепей: альфа- и бета-субъединицы. Специфичность и биологическую активность гормона определяет его бета-субъединица. ТТГ вызывает продукцию и выделение щитовидной железой тироксина (Т4) и трийодтиронина (Т3). При увеличении концентрации этих гормонов в сыворотке крови секреция ТТГ ингибируется; наоборот, когда уровень тиреоидных гормонов уменьшается, в гипофизе увеличивается выброс ТТГ и, следовательно, увеличивается производство и выброс гормонов щитовидной железы. Секреция ТТГ подчиняется циркадным (околосуточным) ритмам с акрофазой в ночное время. Наибольший уровень ТТГ наблюдается в утренние часы (6 часов). Суточные колебания незначительны, однако, если полученные результаты не соответствуют клинической картине и параметрам других исследований, рекомендуется повторное проведение анализа. Показания к определению ТТГ:

- 1) диагностика нарушений функции щитовидной железы;
- 2) гипотиреоз (уровень ТТГ повышается. Диагноз подтверждается низкими концентрациями общего и свободного тироксина и трийодтиронина. При субклиническом легком гипотиреозе, когда уровни Т3 и Т4 в пределах нормы, определение ТТГ является решающим);
- 3) гипертиреоз (синтез и секреция ТТГ подавлены); оценка адекватности заместительной терапии тироксином;
- 4) скрининг врожденного гипотиреоза (на пятом дне жизни определяют уровень ТТГ в пятне крови на фильтровальной бумаге или в сыворотке крови). Уровень ТТГ повышен при рождении (до 35 мМЕд/л), однако через нескольких дней снижается до базального (как у мальчиков, так и у девочек).

Концентрация ТТГ увеличивается во время беременности. Повышенное содержание гормона наблюдается после тяжелых физических нагрузок. Пониженное давление и пониженная температура также стимулируют секрецию ТТГ. Кортизол и гормон роста угнетают секрецию ТТГ. Пониженное содержание ТТГ часто наблюдается у пожилых людей, при хронической почечной недостаточности, циррозе печени, замедленном половом развитии, вторичной аменорее, синдроме Кушинга, акромегалии.

## 2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение тиреотропного гормона основано на использовании «сэндвич»-варианта твердофазного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы мышиные моноклональные антитела к бета-цепи ТТГ человека. В лунках планшета, при добавлении исследуемого образца, происходит связывание ТТГ, содержащегося в исследуемом образце, с антителами на твердой фазе. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата (Fab2) фрагмента мышиных моноклональных антител к бета-цепи ТТГ человека с пероксидазой хрена. 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 тиреотропного гормона в исследуемом образце. Концентрацию тиреотропного гормона в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания тиреотропного гормона в калибровочных пробах.

## 3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

**3.1. Специфичность.** Перекрестная реакция мышиных моноклональных антител к бета-цепи ТТГ с другими анализитами приведена в таблице:

| Аналит | Перекрестная реакция, % |
|--------|-------------------------|
| ХГ     | <0.1                    |
| ЛГ     | <0.1                    |
| ФСГ    | <0.1                    |

### 3.2. Воспроизводимость.

Коэффициент вариации результатов определения содержания ТТГ в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «ТТГ-ИФА» не превышает 8.0%.

### 3.3. Линейность.

Зависимость концентрации ТТГ в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей ТТГ, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 0.2–20.0 мМЕ/л и составляет  $\pm 10.0\%$ .

### 3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации ТТГ предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 1.0 мМЕ/л. Процент «открытия» составляет 90–110%.

### 3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «ТТГ-ИФА» концентрация ТТГ в сыворотке (плазме) крови не превышает 0.04 мМЕ/л.



## 4. СОСТАВ НАБОРА

| Код компонента | Символ       | Наименование   | Кол-во | Ед. | Описание  |
|----------------|--------------|--|--------|-----|---|
| 1 P201Z        | SORB MTP     | <b>Планишет</b> 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию  | 1      | шт. | -   |
| 2 C201Z        | CAL 1-6      | <b>Калибровочные пробы</b> на основе фосфатного буфера (рН 7.2-7.4), содержащие известные количества тиреотропного гормона – <b>0; 0.2; 1; 5; 10; 20 мМЕ/л</b> , готовы к использованию (калибровочная проба 0 мМЕ/л – 2 мл, остальные – по 0.8 мл каждая) | 6      | шт. | прозрачные жидкости красного цвета (калибровочная проба 0 – прозрачная бесцветная жидкость) |
| 3 Q201Z        | CONTROL      | <b>Контрольная сыворотка</b> на основе сыворотки крови человека с известным содержанием тиреотропного гормона, готова к использованию (0.8 мл)   | 1      | шт. | прозрачная бесцветная жидкость  |
| 4 T201Z        | CONJ HRP     | <b>Конъюгат</b> , готов к использованию (14 мл)  | 1      | шт. | прозрачная жидкость синего цвета  |
| 5 R055Z        | SUBS TMB     | <b>Раствор субстрата тетраметилбензидина</b> (ТМБ), готов к использованию (14 мл)  | 1      | шт. | прозрачная бесцветная жидкость  |
| 6 S008Z        | BUF WASH 26X | <b>Концентрат отмывочного раствора</b> (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26x-кратный (22 мл)   | 1      | шт. | прозрачная бесцветная жидкость  |
| 7 R050Z        | STOP         | <b>Стоп-реагент</b> , готов к использованию (14 мл)  | 1      | шт. | прозрачная бесцветная жидкость  |
| 8 N003         | -            | Бумага для заклеивания планшета  | 2      | шт. | -   |
| 9 K201I        | -            | Руководство пользователя по применению Набора реагентов «ТТГ-ИФА»  | 1      | шт. | -   |
| 10 K201Q       | -            | Паспорт контроля качества Набора реагентов «ТТГ-ИФА»   | 1      | шт. | -   |

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

**Комплектация 5:** Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 205 исследуемых образцов, 30 калибровочных проб и 5 пробы контрольной сыворотки (всего 480 определений).

|   | Символ       | Комплекция 5  |
|---|--------------|---|
|   |              | Количество  |
| 1 | SORB MTP     | 5 шт  |
| 2 | CAL 1 - 6    | 5 комплектов (C1 – 2 мл, C2-C6, по 0.8 мл);<br>или 10 мл C1 и по 4 мл C2-C6 |
| 3 | CONTROL      | 5x0.8 мл или 1x4 мл   |
| 4 | CONJ HRP     | 5x14 мл или 2x30 мл   |
| 5 | SUBS TMB     | 2x30 мл   |
| 6 | BUF WASH 26X | 2x50 мл   |
| 7 | STOP         | 2x30 мл   |
| 8 | N003         | 10 шт   |

## 5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

**5.1.** Потенциальный риск применения Набора – класс 1 (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 °С ±3 °С;
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы в диапазоне 25–250 мкл;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 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 °С) 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 °С в течение всего срока годности Набора.

### 7.3. Приготовление отмывочного раствора.

Содержимое флакона с концентратом отмывочного раствора (22 мл), перенести в мерный цилиндр вместимостью 1000 мл, добавить 550 мл дистиллированной воды и тщательно перемешать. В случае дробного использования Набора следует отобрать необходимое количество концентрата отмывочного раствора и развести дистиллированной водой в 26 раз (1 мл концентрата отмывочного раствора + 25 мл дистиллированной воды).

## 8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

**8.1.** Набор реагентов «ТТГ-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 15 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 исследуемого образца, 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 15 суток или при температуре +2...+8 °С не более 45 суток.

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

**8.4.** Для проведения анализа не следует использовать гемолизованную, 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. Допускается исследование сывороток, хранение которых с момента забора крови осуществлялось при температуре от +2 °С до +8 °С не более 7 суток.

**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 ТТГ в контрольной сыворотке.

**8.7.** Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение руководства пользователя по применению Набора.

**8.8.** Не используйте компоненты из других наборов или из аналогичных наборов других серий.



## 9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

|    |  |
|----|--|
| 1  | Поместите в рамку необходимое количество стрипов – исследуемые образцы в 2 повторах и 14 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки.   |
| 2  | Если предполагаемая концентрация ТТГ в исследуемом образце превышает 20 мМЕ/л, его следует дополнительно развести, используя калибровочную пробу 0. Использование других буферов и реагентов для разбавления образцов может искажать результаты определения!<br>Примечание. Для получения надежных результатов рекомендуется использовать несколько последовательных разведений исследуемого образца сыворотки (плазмы) крови.   |
| 3  | <b>Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.</b>  |
| 4  | <b>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.</b> Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.   |
| 5  | Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и <b>инкубируйте его в течение 60 минут при температуре +37 °С.</b>  |
| 6  | По окончании инкубации удалите содержимое лунок и <b>отмойте лунки 5 раз.</b> 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  | <b>Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидаина.</b> Внесение раствора субстрата тетраметилбензидаина в лунки необходимо произвести в течение 2–3 минут. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °С) в течение 10–20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.   |
| 8  | <b>Внесите во все лунки</b> с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидаина, <b>по 100 мкл стоп-реагента</b> , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.   |
| 9  | <b>Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре</b> вертикального сканирования <b>при длине волны 450 нм.</b> Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра выставляйте по калибровочной пробе С1.   |
| 10 | Постройте в линейных координатах калибровочный график: ось абсцисс (х) – концентрация ТТГ в калибровочных пробах (мМЕ/л), ось ординат (у) – оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма обсчета (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод.   |
| 11 | Определите по калибровочному графику содержание ТТГ 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 ТТГ в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0.04 мМЕ/л), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (20.0 мМЕ/л) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация ТТГ ниже 0.04 мМЕ/л или выше 20.0 мМЕ/л.

| Исследуемая группа | Единицы, мМЕ/л |                |
|--------------------|----------------|----------------|
|                    | Нижний предел  | Верхний предел |
| Здоровые доноры    | 0.3            | 4.0            |

## 11. ЛИТЕРАТУРА

1. Ekins R. Methods for measurement of free thyroid hormones. In: Free thyroid hormones. Amsterdam: Expecta Medica; 1979; p. 72-92.
2. Tietz, N., Fundamentals of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Co., Philadelphia: 791 and 844 (1976).
3. Soos, M., Taylor, S.J., Gard, T., and Siddle, K.A. Rapid Sensitive Two-Site Immunometric Assay for TSH Using Monoclonal Antibodies: Investigation of Factors Affecting Optimisation. J. of Immunological Methods 73, 237-249 (1984).
4. Musto, J.D., Pizzolante, J.M., Chesarone, V.P. A Comment of Thyrotropin Measurement and Evaluation. Clin. Chem. 30, 329-330 (1984). Opinion.
5. Burger, H. G., Patel, Y. C., Thyrotropin releasing hormone -TSH Clinic. Endocrinol. and Metab., 6, 831-00(1977).
6. Ezrin, C., The Thyroid, S. C. Werner and S. H. Ingbar (eds.), Harper and Row, Hagerstown, MD, 9, 174-178 (1978).
7. Engall, E., Methods in Enzymology, Volume 70, Van Vunakis, H. and Langone, J. J. (eds.), Academic Press, New York, 419-492(1980).

*Instruction for use***A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY  
FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF TSH  
IN HUMAN SERUM OR PLASMA****1. INTENDED USE**

A solid-phase enzyme immunoassay for the quantitative determination of TSH in blood serum or plasma.

This kit is designed for measurement of TSH 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**

Thyroid stimulating hormone (TSH) is a glycoprotein with molecular weight ca.30 kDa which is secreted by hypophysis. A molecule of TSH consists of two noncovalently bound subunits:  $\alpha$ - and  $\beta$ -HCG.  $\beta$ -subunit determines biological activity and immunological specificity of TSH.

TSH stimulates thyroid gland to secrete thyroid hormones. TSH secretion in hypophysis is controlled by a negative feedback regulation by thyroid hormones. TSH secretion is subject to circadian rhythms with highest levels seen early in the morning (6 a.m.). Changes of TSH blood level during a day are not significant; nevertheless, if the results do not correspond with clinical status and other laboratory data, it is recommended to take and test another blood sample.

Determination of TSH level in serum is recommended in the following states and conditions:

1. Diagnostics of dysfunction of the thyroid gland;
2. Hypothyroidism (TSH level is increased. The diagnosis is confirmed by low concentrations of total and free T4 and T3. In mild subclinical forms when T4 and T3 levels are within normal ranges, determination of TSH concentration is critical);
3. Hyperthyroidism (synthesis and secretion of TSH are inhibited); monitoring of replacement therapy;
4. Screening for inherited hypothyroidism (on day 5 after birth TSH level in blood is determined). TSH level is elevated just after birth but it comes within the normal range in several days (both in boys and in girls).

Serum TSH level is elevated during pregnancy, after physical stress, in individuals with lowered blood pressure and lowered temperature. Secretion of TSH is inhibited by Cortisol and Growth hormone. Low TSH levels are often seen in elderly people, in patients with chronic renal insufficiency, liver cirrhosis, in retardation of sexual development, in secondary amenorrhea, Cushing syndrome, acromegaly.

In a present test system,  $\beta$ - chain specific monoclonal antibody XTB78 is used as capture reagent; enzyme-labelled (Fab2)-fragment of another  $\beta$ - chain specific monoclonal antibody XTB11 is used as tracer. This combination enables to minimize both cross-reactive reactions with other pituitary hormones and false positivity caused by anti-species antibodies.



### 3. PRINCIPLE OF THE TEST

This test is based on two-site sandwich enzyme immunoassay principle. Tested specimen is placed into the microwells coated by specific murine monoclonal to  $\beta$  chain human TSH-antibodies. Antigen from the specimen is captured by the antibodies coated onto the microwell surface. Second antibodies – murine monoclonal to (Fab2)-fragment of  $\beta$  chain human TSH, labelled with peroxidase enzyme, are then added into the microwells. 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 directly 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.** Material Safety Data Sheet for this product is available upon request directly from XEMA Co., Ltd.

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

### 5. KIT COMPONENTS

#### 5.1. Contents of the Kit

|    | Symbol       | Description   | Qty | Units | Colour code           | Stability of opened/diluted components  |
|----|--------------|---|-----|-------|-----------------------|---|
| 1  | SORB MTP     | TSH EIA strips, 8x12 wells  | 1   | pcs   |                       | until exp.date  |
| 2  | CAL 1-6      | Calibrator set, 0.8 ml each, zero calibrator C1 - 2 ml The set contains 6 calibrators: 0; 0.2; 1; 5; 10; 20 mIU/l | 6   | pcs   | red (C1 - colourless) | 2 months  |
| 3  | CONTROL      | Control serum (0.8 ml)  | 1   | pcs   | colourless            | 2 months  |
| 4  | CONJ HRP     | Conjugate, 14 ml  | 1   | pcs   | blue                  | until exp.date  |
| 5  | SUBS TMB     | Substrate solution, 14 ml   | 1   | pcs   | colourless            | until exp.date  |
| 6  | BUF WASH 26X | Washing solution concentrate 26X, 22 ml   | 1   | pcs   | colourless            | Concentrate - until exp.date<br>Diluted washing solution - 45 days at 2-8 °C or 15 days at RT |
| 7  | STOP         | Stop solution, 14 ml  | 1   | pcs   | colourless            | until exp.date  |
| 8  | N003         | Plate sealing tape  | 2   | pcs   |                       | N/A   |
| 9  | K201ICEIR    | Instruction TSH EIA, English  | 1   | pcs   |                       | N/A   |
| 10 | K201Q        | QC data sheet TSH 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 ±3 °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...+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 26X by 26 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  | Dispense 100 µl of CONJ HRP into the wells.  |
| 4  | Pipet 50 µl of calibrators CAL 1-6, control samples CONTROL and unknown samples 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 26X dilution of washing solution concentrate (BUF WASH 26X) 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 first calibrator.  |
| 12 | Apply point-by-point 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

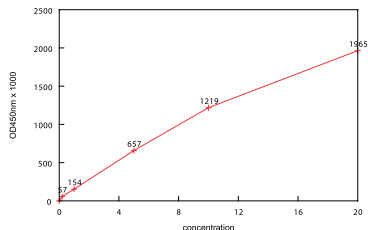
**9.1.** Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

**9.2.** Plot a calibration curve on graph paper: OD versus total TSH concentration.

**9.3.** Determine the corresponding concentration of total TSH 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 mIU/l   | 0.08                      |
| CAL 2       | 0.2 mIU/l | 0.13                      |
| CAL 3       | 1 mIU/l   | 0.23                      |
| CAL 4       | 5 mIU/l   | 0.73                      |
| CAL 5       | 10 mIU/l  | 1.30                      |
| CAL 6       | 20 mIU/l  | 2.04                      |





## 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 TSH. 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, mIU/l |             |
|----------------|--------------|-------------|
|                | Lower limit  | Upper limit |
| Healthy donors | 0.3          | 4.0         |

## 11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

### 11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

| Analyte | Cross-reactivity, % wt/wt |
|---------|---------------------------|
| HCG     | <0.1                      |
| LH      | <0.1                      |
| FSH     | <0.1                      |

**11.2.** Analytical sensitivity. Sensitivity of the assay was assessed as being 0.04 mIU/l.

**11.3.** Linearity. Linearity was checked by assaying dilution series of 5 samples with different TSH concentrations. Linearity percentages obtained ranged within 90 to 110%.

**11.4.** Recovery. Recovery was estimated by assaying 5 mixed samples with known TSH concentrations. The recovery percentages ranged from 90 to 110%.

## 12. LITERATURE

1. Ekins R. Methods for measurement of free thyroid hormones. In: Free thyroid hormones. Amsterdam: Expecta Medica; 1979; p. 72-92.
2. Tietz, N., Fundamentals of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Co., Philadelphia: 791 and 844 (1976).
3. Soos, M., Taylor, S.J., Gard, T., and Siddle, K.A. Rapid Sensitive Two-Site Immunometric Assay for TSH Using Monoclonal Antibodies: Investigation of Factors Affecting Optimisation. J. of Immunological Methods 73, 237-249 (1984).
4. Musto, J.D., Pizzolante, J.M., Chesarone, V.P. A Comment of Thyrotropin Measurement and Evaluation. Clin. Chem. 30, 329-330 (1984). Opinion.
5. Burger, H. G., Patel, Y. C., Thyrotropin releasing hormone -TSH Clinic. Endocrinol. and Metab., 6, 831-00(1977).
6. Ezrin, C., The Thyroid, S. C. Werner and S. H. Ingbar (eds.), Harper and Row, Hagerstown, MD, 9, 174-178 (1978).
7. Engall, E., Methods in Enzymology, Volume 70, Van Vunakis, H. and Langone, J. J. (eds.), Academic Press, New York, 419-492(1980).

«УТВЕРЖДЕНА»  
Приказ Росздравнадзора № 10004-Пр/10 от 25 октября  
2010 г.  
КРД № 61704 от 21.09.2010

## ИНСТРУКЦИЯ

по применению Набора реагентов для иммуноферментного определения тиреотропного гормона в сыворотке (плазме) крови

### «ТТГ-ИФА»

#### 1. НАЗНАЧЕНИЕ.

1.1. Набор реагентов «ТТГ-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации тиреотропного гормона (ТТГ) в сыворотке (плазме) крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Тиреотропный гормон (ТТГ) - гликопротеин с молекулярной массой около 30 кДа, секретируется передней долей гипофиза. Молекула ТТГ состоит из двух нековалентно связанных полипептидных цепей:  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединицы. Специфичность и биологическую активность гормона определяет его  $\beta$ -субъединица.

ТТГ вызывает продукцию и выделение щитовидной железой тироксина (Т4) и трийодтиронина (Т3). При увеличении концентрации этих гормонов в сыворотке крови секреция ТТГ ингибируется; наоборот, когда уровень тиреоидных гормонов уменьшается, в гипофизе увеличивается выброс ТТГ и, следовательно, увеличивается производство и выброс гормонов щитовидной железы. Секреция ТТГ подчиняется циркадным (околосуточным) ритмам с акрофазой в ночное время.

Наибольший уровень ТТГ наблюдается в утренние часы (6 часов). Суточные колебания незначительны, однако, если полученные результаты не соответствуют клинической картине и параметрам других исследований, рекомендуется повторное проведение анализа. Показания к определению ТТГ:

- 1) диагностика нарушений щитовидной железы;
- 2) гипотиреоз (уровень ТТГ повышается. Диагноз подтверждается низкими концентрациями общего и свободного тироксина и трийодтиронина. При субклиническом легком гипотиреозе, когда уровни Т3 и Т4 в пределах нормы, определение ТТГ является решающим);
- 3) гипотиреоз (синтез и секреция ТТГ подавлены); оценка адекватности заместительной терапии тироксिनом;
- 4) скрининг врожденного гипотиреоза (на пятый день жизни определяют уровень ТТГ в пятне крови на фильтровальной

бумаге или сыворотке крови). Уровень ТТГ повышен при рождении (до 35 мМЕ/л), однако через несколько дней снижается до базального (как у мальчиков, так и у девочек).

Концентрация ТТГ увеличивается во время беременности. Повышенное содержание гормона наблюдается после тяжелых физических нагрузок. Повышенное давление и пониженная температура так же стимулируют секрецию ТТГ. Пониженное содержание ТТГ часто наблюдается у пожилых людей, при хронической почечной недостаточности, циррозе печени, замедленном половом развитии, вторичной amenoree, синдроме Кушинга, акромегалии. Для «захвата» ТТГ на поверхности микропланшет используется моноклональное антитело ХТВ1, специфичное для  $\beta$ -субъединицы. Связавшийся гормон проявляется конъюгированным с ферментом (Fab2)-фрагментом моноклонального антитела против другого эпитопа  $\beta$ -субъединицы (ХТВ2). Данное сочетание антител позволяет свести к минимуму перекрестные реакции с другими гипотиреозными гормонами и другие ложноположительные реакции.

#### 1.3. Диагностическая значимость определения.

Определение ТТГ в сыворотке (плазме) крови используется обычно для клинической лабораторной диагностики патологий щитовидной железы различной этиологии.

1.4. Область применения – клиническая лабораторная диагностика.

## 2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

2.1. Принцип работы Набора. Определение основано на использовании «сандвич»-варианта твердофазного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы мышечные моноклональные антитела к  $\beta$ -цепи ТТГ человека. В лунках планшета, при давлении исследуемого образца, происходит связывание ТТГ, содержащегося в образце, с антителами на твердой фазе. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата (Fab2) фрагмента мышечных моноклональных антител к  $\beta$ -цепи ТТГ человека с пероксидазой хрена. В результате образуется связанный с пластиком «сандвич», содержащий пероксидазу. Во время инкубации с раствором субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) происходит окрашивание растворов в лунках. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации ТТГ в исследуемом образце. Концентрацию ТТГ в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания ТТГ в калибровочных пробах.

2.2. Состав Набора: планшет 96-луночный полистироловый стрипированный, с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок моноклональными антителами к  $\beta$ -цепи ТТГ человека, готов к использованию - 1 шт.; калибровочные пробы на основе фосфатного буфера, содержащие известные количества ТТГ - 0; 0.2; 1; 5; 10 и 20 мМЕ/л ТТГ; концентрации ТТГ в калибровочных пробах могут несколько отличаться от указанных величин, точные величины указаны на этикетках пробирок (флаконов), готовы к использованию - 6 пробирок или флаконов (калибровочная проба 0 мМЕ/л - 2.0 мл, остальные - по 0.8 мл каждая); конъюгат, 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 ТТГ, готова к использованию - 1 пробирка или флакон (0.8 мл); концентрат отмывочного раствора - 1 флакон (22 мл); стоп-реагент (5.0 % серная кислота), готов к использованию - 1 флакон (11 мл); липкая лента с бумажной подложкой для заклеивания планшета, готова к использованию - 2 шт. аналитический паспорт;

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Перекрестная реакция мышинных моноклональных антител к  $\beta$ -цепи ТТГ с другими анализитами приведена в таблице:

|        |                         |
|--------|-------------------------|
| Аналит | Перекрестная реакция, % |
| ХГ     | <0.1                    |
| ЛГ     | <0.1                    |
| ФСТ    | <0.1                    |

3.2. Воспроизводимость. Коэффициент вариации результатов определения содержания ТТГ в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «ТТГ-ИФА» не превышает 8.0%.

3.3. Линейность. Зависимость концентрации ТТГ в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей ТТГ, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 0.2-20 мМЕ/л и составляет + 10.0%.

3.4. Точность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» ТТГ - соответствие измеренной концентрации ТТГ предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 1 мМЕ/л. Процент «открытия» составляет 90-110%.

3.5. Чувствительность. Минимальная достоверно определяемая Набором концентрация ТТГ не превышает 0.08 мМЕ/л.

3.6. Клиническая проверка. Нормальные значения.

|                    |               |                |
|--------------------|---------------|----------------|
| Исследуемая группа | Нижний предел | Верхний предел |
| Здоровые доноры    | 0.3           | 4.0            |

В соответствии с требованиями GLP (Good Laboratory Practice, Хорошая Лабораторная Практика) рекомендуется в каждой клинико-диагностической лаборатории при использовании Набора реагентов «ТТГ-ИФА» уточнить значения концентрации ТТГ, соответствующие нормальным у обследуемого контингента.

#### 4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения Набора - класс 1 (ГОСТ Р 51609-2000).

4.2. Меры предосторожности-соблюдение «Правил 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. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность раствора в лунках при длине волны 450 нм;
- термостат, поддерживающий температуру  $+37 \pm 0.1$  °С;
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости в диапазоне 5.0-250 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 выдерживать при комнатной температуре (+18-25 °С) не менее 30 мин.

6.2. Образцы сыворотки (плазмы) крови, используемые для анализа, допускается хранить при температуре +2-8 °С не более 24 ч или при температуре минус 20 °С не более 2 недели.

6.3. Для проведения анализа не следует использовать гемолизированные, мутные образцы сыворотки (плазмы) крови, а также исследуемые образцы, содержащие азид натрия в качестве консерванта.

6.4. При использовании Набора реагентов «ТТТ-ИФА» для проведения нескольких незави-симых серий анализов следует иметь в виду, что для каждого независимого определения необходимо построение нового калибровочного графика; кроме этого, рекомендуется определение ТТТ в контрольной сыворотке.

### 6.5. 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.

### 6.6. Приготовление отмывочного раствора.

Содержимое флакона с концентратом отмывочного раствора 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 объем концентрата + 20 объемов дистиллированной воды).

Приготовленный отмывочный раствор допускается хранить при комнатной температуре (+18-25 °С) не более 2 сут. или при температуре +2-8 °С не более 10 сут.

## 7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Если предполагаемая концентрация ТТТ в исследуемом образце превышает 20 мМЕ/л, его следует дополнительно

развести, используя калибровочную пробу 0 мМЕ/л. Использование других буферов и реагентов для разбавления образцов может искажать результаты определения.

7.2. Внести во все лунки по 100 мкл конъюгата.

7.3. Внести в соответствующие лунки в дубликатах по 50 мкл калибровочной пробы и контрольной сыворотки. В остальные лунки внести в дубликатах по 50 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови.

Внесение образцов в лунки планшета необходимо произвести в течение 5-10 мин.

7.4. Заклеить планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубировать его в течение 60 минут при температуре 37 °С.

7.5. По окончании инкубации удалить содержимое лунок аспирацией (например, с помощью водоструйного насоса) или декантированием и промыть лунки планшета 5 раз путем добавления 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.

7.6. Внести во все лунки планшета по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензида (ТМБ).

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

Инкубировать планшет в темноте при комнатной температуре (+18-25 °С) в течение 10-20 мин в зависимости от степени развития синего окрашивания.

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

Внесение стоп-реагента в лунки планшета необходимо произвести в течение 1-2 мин.

## 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 производить в течение времени не более 15 мин после внесения стоп-реагента.

## 9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

9.1. Построить в линейных координатах калибровочный график: ось абсцисс - концентрация ТТТ в калибровочных

проб (ММЕ/л), ось ординат - оптическая плотность калибровочных проб (ОП450). Для алгоритма обсчета (аппроксимации) калибровочного графика использовать интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод.

9.2. Определить по калибровочному графику содержание ПТГ в исследуемых образцах. Если используемый образец предразводили, умножить полученный результат на фактор разведения.

#### 10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Набор реагентов «ТТГ-ИФА» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2-8 °С в течение всего срока годности (12 мес.).

Допускается хранение (транспортировка) Набора при температуре до +25 °С 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 при использовании всего комплекта стрипов.

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 заклеймить липкой лентой для заклеивания планшета и хранить в упаковке при температуре +2-8 °С в течение всего срока годности Набора;

- конъюгат, раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) и стоп-реагент после вскрытия флакона допускается хранить при температуре +2-8 °С в течение всего срока годности Набора;


















- калибровочные пробы и контрольную сыворотку после вскрытия пробирок (флаконов) допускается хранить при температуре +2-8 °С не более 2 мес.; при необходимости более длительного хранения - при температуре минус 20 °С в течение всего срока годности Набора;

- приготовленный отмывочный раствор допускается хранить при комнатной температуре (+18-25 °С) не более 5 сут. или при температуре +2-8 °С не более 30 сут.;

- оставшийся неиспользованным концентрат отмывочного раствора допускается хранить при температуре +2-8 °С в течение всего срока годности Набора;

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



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

### 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.

#### Главной офис в Российской Федерации, г. Москва ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции: 105264, г. Москва, а/я 58  
☐ 105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1 под., 5 эт.  
☎ +7 495 510-57-07  
☎ **8 800 505-23-45**  
✉ sale@xema.ru  
🌐 www.xema-medica.com

#### Вопросы сотрудничества на рынках РФ:

Кострикин Дмитрий Сергеевич, кбн  
☎ +7 985 888-77-00  
✉ dmitry@xema.ru  
✉ dmitry.kostrikin@gmail.com  
💬 dmitry kostrikin

#### Вопросы международного сотрудничества (страны ближнего и дальнего зарубежья):

Редькин Андрей Павлович, кбн  
☎ +7 903 723-19-81  
✉ redkin@xema.ru

#### Отдел клиентского сервиса:

Горбачев Игорь Александрович  
☎ 8 800 505 23 45  
☎ +7 985 221 08 85  
✉ client@xema.ru  
✉ igogorbache@gmail.com  
💬 xemahelp1  
☎ +7 985 221 08 85



Russian Diagnostic  
Manufacturers Association



Ассоциация российских  
производителей оборудования  
лабораторий диагностики



Russian Association  
of Medical Laboratory  
Technologists



Российская Ассоциация  
Медицинских Лабораторий  
Импортеры



xemahelp



xemahelp@gmail.com





## Instruction for use

# ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СВОБОДНОГО ТИРОКСИНА В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ

## «свТ4-ИФА»

### A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF FREE THYROXIN IN HUMAN SERUM OR PLASMA

## ft4 EIA



НОМЕР ПО КАТАЛОГУ REF **K214**

ТУ №9398-214-18619450-2011

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ  
№ ФСР 2011/11006 от 09 июня 2011 года

Антитела к ВИЧ 1,2, вирусу гепатита С и HBsAg отсутствуют  
Контрольные сыворотки, входящие в состав набора, инактивированы.



For 96 determinations/На 96 определений



Для *in vitro* диагностики

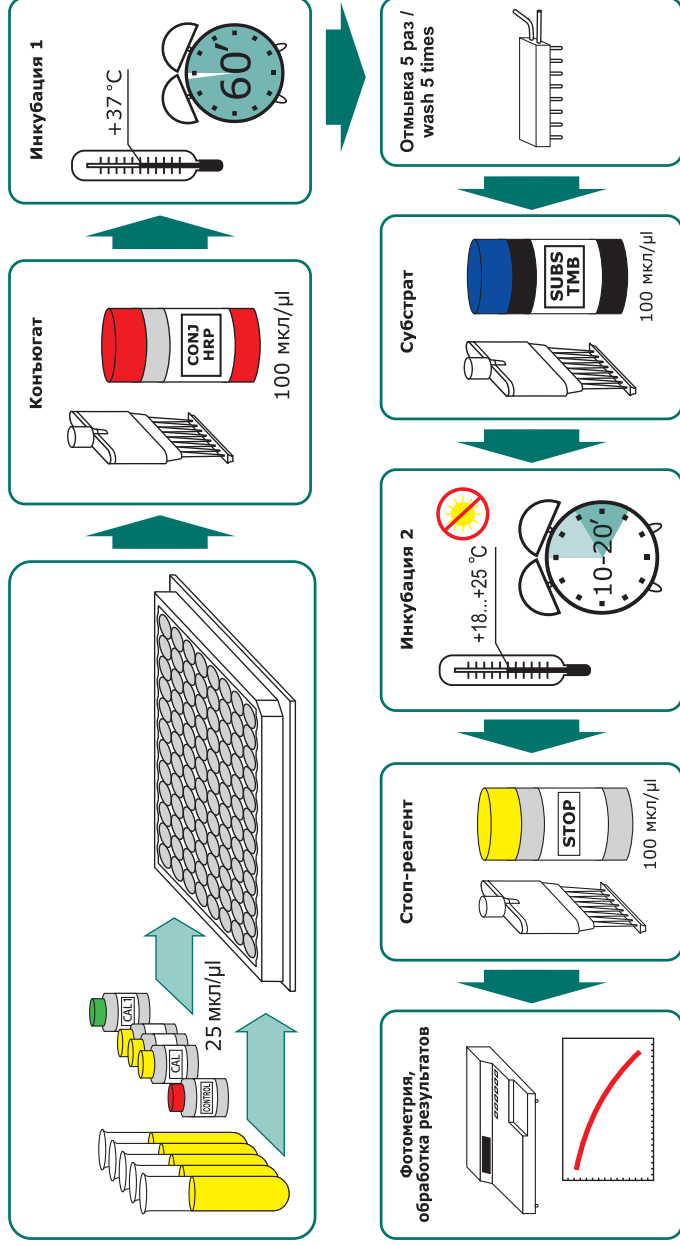


XEMA Co., Ltd.  
The 9th Parkovaya str., 48  
105264 Moscow, Russia  
Tel./fax: +7(495) 510-57-07  
e-mail: redkin@xema-medica.com  
internet: www.xema-medica.com



Authorized Representative in EU:  
Polmed.de  
Steinacker 20, D-73773  
Aichwald, Germany  
e-mail: info@polmed.de

## Схема проведения анализа / Test procedure



210, 214, 215

**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  | 9 |

**CONTENT**

|                                    |    |
|------------------------------------|----|
| 1. INTENDED USE                    | 10 |
| 2. SUMMARY AND EXPLANATION         | 10 |
| 3. PRINCIPLE OF THE TEST           | 11 |
| 4. WARNINGS AND PRECAUTIONS        | 11 |
| 5. KIT COMPONENTS                  | 12 |
| 6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE | 13 |
| 7. TEST PROCEDURE                  | 13 |
| 8. QUALITY CONTROL                 | 15 |
| 9. CALCULATION OF RESULTS          | 15 |
| 10. EXPECTED VALUES                | 15 |
| 11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS    | 16 |
| 12. LITERATURE                     | 16 |

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



## **ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СВОБОДНОГО ТИРОКСИНА В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «свТ4-ИФА»**

Рекомендована к утверждению Научно-экспертным Советом по медицинским изделиям

### **1. НАЗНАЧЕНИЕ**

**1.1.** Набор реагентов «свТ4-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации свободного тироксина в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

**1.2.** Тироксин (Т4) и 3,5,3'-трийодтиронин (Т3) – гормоны, вырабатываемые щитовидной железой и циркулирующие в крови как в свободной, так и в связанной форме – в основном, с тироксинсвязывающим глобулином (ТСГ). Гормональной активностью обладают только свободные Т3 и Т4, однако их доля очень мала: 0.03% от общего содержания для Т4 и 0.3% – для Т3.

**1.3.** Концентрация Т4 в сыворотке крови – наиболее общепринятый показатель функции щитовидной железы, позволяющий довольно четко разграничивать гипер-, гипо- и эутиреоз.

**1.4.** Повышение содержания общего Т4 наблюдается при гипертиреозе, при опухолях гипофиза, при состояниях с повышенным уровнем ТСГ (беременность, острый или хронический активный гепатит, эстрогенсекретирующие опухоли или прием эстрогенов, генетически обусловленное повышение), при приеме оральных контрацептивов, героина, метадона, тиреоидных препаратов, ТТГ, тиреолиберина.

**1.5.** Снижение содержания общего Т4 наблюдается при гипотиреозе, пангипопитуитаризме, состояниях с пониженным уровнем ТСГ (акромегалия, нефротический синдром, гипопропротеинемия, хронические заболевания печени, андрогенсекретирующие опухоли или прием андрогенов, генетически обусловленное снижение), гемолизе, физической нагрузке, при приеме аминосалициловой и ацетилсалициловой кислот, глюкокортикоидов, сульфаниламидов, холестирамина, резерпина, йодида калия, трийодтиронина.

## 2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение свободного тироксина основано на использовании конкурентного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы мышинные моноклональные антитела к Т4. Свободный тироксин из образца конкурирует с конъюгированным Т4 за связывание с антителами на поверхности лунки. 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 свободного тироксина в исследуемом образце. Концентрацию свободного тироксина в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания свободного тироксина в калибровочных пробах.

## 3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

**3.1. Специфичность.** Перекрестная реакция мышинных моноклональных антител к Т4 с другими аналитами приведена в таблице:

| Аналит     | Перекрестная реакция, % |
|------------|-------------------------|
| L-тироксин | 100                     |
| D-тироксин | 30                      |
| Т3         | 0.5                     |

### 3.2. Воспроизводимость.

Коэффициент вариации результатов определения содержания свТ4 в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «свТ4-ИФА» не превышает 8.0%.

### 3.3. Линейность.

Зависимость концентрации свТ4 в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей свТ4, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 5–100 пмоль/л и составляет  $\pm 10.0\%$ .

### 3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации свТ4 предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 10.0 пмоль/л. Процент «открытия» составляет 90–110%.

### 3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «свТ4-ИФА» концентрация свТ4 в сыворотке (плазме) крови не превышает 0.75 пмоль/л.

## 4. СОСТАВ НАБОРА

| Код компонента | Символ | Наименование  | Кол-во | Ед. | Описание  |
|----------------|--------|---|--------|-----|---|
| 1              | P214Z  | Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию   | 1      | шт. | -   |
| 2              | C214Z  | Калибровочные пробы на основе сыворотки крови человека, содержащие известные количества свободного тироксина - 0; 5; 10; 25; 50; 100 пмоль/л, готовы к использованию (по 0.8 мл каждая) | 6      | шт. | прозрачные жидкости красного цвета (калибровочная проба 0 – прозрачная бесцветная жидкость) |
| 3              | Q214Z  | Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием свободного тироксина, готова к использованию (0.8 мл)  | 1      | шт. | прозрачная бесцветная жидкость  |
| 4              | T214Z  | Конъюгат, готов к использованию (14 мл)   | 1      | шт. | прозрачная жидкость красного цвета  |
| 5              | R055Z  | Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), готов к использованию (14 мл)  | 1      | шт. | прозрачная бесцветная жидкость  |
| 6              | S008Z  | Концентрат отмывочного раствора (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26х-кратный (22 мл)   | 1      | шт. | прозрачная бесцветная жидкость  |
| 7              | R050Z  | Стоп-реагент, готов к использованию (14 мл)   | 1      | шт. | прозрачная бесцветная жидкость  |
| 8              | N003   | Бумага для клейевания планшета  | 2      | шт. | -   |
| 9              | K214I  | Инструкция по применению Набора реагентов «свТ4-ИФА»  | 1      | шт. | -   |
| 10             | K214Q  | Паспорт контроля качества Набора реагентов «свТ4-ИФА»   | 1      | шт. | -   |

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

**Комплектация 5:** Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 205 исследуемых образцов, 30 калибровочных проб и 5 пробы контрольной сыворотки (всего 480 определений).

|   | Символ       | Комплектация 5                                     |
|---|--------------|--|
|   |              | Количество   |
| 1 | SORB MTP     | 5 шт   |
| 2 | CAL 1 - 6    | 5 комплектов по 0.8 мл<br>или по 4 мл каждой точки |
| 3 | CONTROL      | 5x0.8 мл или 1x4 мл                                |
| 4 | CONJ HRP     | 5x14 мл или 2x30 мл                                |
| 5 | SUBS TMB     | 2x30 мл  |
| 6 | BUF WASH 26X | 2x50 мл  |
| 7 | STOP         | 2x30 мл  |
| 8 | N003         | 10 шт  |

## 5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

**5.1.** Потенциальный риск применения Набора – класс 26 (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 1000 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 1000 мл, добавить 550 мл дистиллированной воды и тщательно перемешать. В случае дробного использования Набора следует отобрать необходимое количество концентрата отмывочного раствора и развести дистиллированной водой в 26 раз (1 мл концентрата отмывочного раствора + 25 мл дистиллированной воды).

## 8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

**8.1.** Набор реагентов «свТ4-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 15 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 15 суток или при температуре +2...+8 °С не более 45 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 свТ4 в контрольной сыворотке.

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

**8.8.** Не используйте компоненты из других наборов или из аналогичных наборов других серий.

## 9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

|    |  |
|----|--|
| 1  | Поместите в рамку необходимое количество стрипов – исследуемые образцы в 2 повторах и 14 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки.   |
| 2  | <b>Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 25 мкл калибровочной пробы и контрольной сыворотки. В остальные лунки внесите в дубликатах по 25 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови.</b> Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.   |
| 3  | <b>Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.</b>  |
| 4  | Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и <b>инкубируйте</b> его в течение <b>60 минут при температуре +37 °С.</b>   |
| 5  | По окончании инкубации удалите содержимое лунок и <b>отмойте лунки 5 раз.</b> 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. |
| 6  | <b>Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина.</b> Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2–3 мин. <b>Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25°C) в течение 10–20 минут</b> в зависимости от степени развития синего окрашивания.   |
| 7  | <b>Внесите во все лунки</b> с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, <b>по 100 мкл стоп-реагента</b> , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.  |
| 8  | <b>Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре</b> вертикального сканирования <b>при длине волны 450 нм.</b> Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра выставляйте по воздуху.  |
| 9  | Постройте в полулогарифмических координатах калибровочный график: ось абсцисс (х) – десятичный логарифм концентрации свТ4 в калибровочных пробах (пмоль/л), ось ординат (у) – оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма обсчета (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод. Приравняйте концентрацию калибровочной пробы 0 пмоль/л к несущественно малой величине, например, 0.001 пмоль/л                      |
| 10 | Определите по калибровочному графику содержание свТ4 в исследуемых образцах.   |



## 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 свТ4 в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0.75 пмоль/л), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (100 пмоль/л) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация свТ4 ниже 0.75 пмоль/л или выше 100 пмоль/л.

| Исследуемая группа | Единицы, пмоль/л |                |
|--------------------|------------------|----------------|
|                    | Нижний предел    | Верхний предел |
| здоровые доноры    |                  |                |
| до 60 лет          | 10.0             | 25             |
| старше 60 лет      | 10.0             | 21             |
| Беременные:        |                  |                |
| 1-й триместр       | 9.0              | 26             |
| 2-й триместр       | 6.0              | 21             |
| 3-й триместр       | 6.0              | 21             |

## 11. ЛИТЕРАТУРА

1. Tietz, N. W., Fundamentals of Clinical Chemistry, 2nd Ed., pg. 602, Saunders Press, Phila., 1976.
2. Horworth, P. J. N., Ward, RL., J. Clin Pathol. 1972; 25:259-62.
3. Sati, C., Chatter, A. J., Watts, N. Fundamentals of Clinical Chemistry. Ed. Tietz, N. W. 3rd Ed., pg. 586. Saunders press Phila. 1987.
4. Lundberg, P. A., Jagenburg, R., Lindstedt, G., Nystrom, E., Clin. Chem. 1982, 28:1241.
5. Melmed, S., Geola, F. L., Reed, A. W., Pekary, A. E., Park, J., Hershmen, J. M., Clin Endocrin. Metabol. 1982, 54; 300.
6. Ingbar, S. H., et al. J. Clin. Invest., 1965, 44:1679.
7. Selenkow, H. A., and Robin, N. I., J. Maine Med. Assoc. 1970, 61:199.

По вопросам, касающимся качества Набора «**свТ4-ИФА**», следует обращаться в ООО «ХЕМА» по адресу:  
 105043, г. Москва, а/я 58  
 105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1-й под., 5 этаж,  
 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 FREE THYROXIN IN HUMAN SERUM OR PLASMA**

### **1. INTENDED USE**

A solid-phase enzyme immunoassay for the quantitative determination of free thyroxin in blood serum or plasma.

This kit is designed for measurement of free thyroxin 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**

Thyroid hormones thyroxin (T4) and 3,5,3'-triiodothyronine (T3) exert regulatory influences on growth, differentiation, cellular metabolism and development of skeletal and organ systems. T4 and T3 in blood are found both in free and bound form – mostly, they are bound to thyroxin binding globulin (TBG). Only free forms of T3 and T4 exert hormonal activity also their percentage is very low – 0.3% for T3 and 0.03% for T4.

The concentration of T4 is generally accepted as an index of thyroid function which provide enough information to differentiate between hyper-, hypo- and euthyroidism.

Elevation of total T4 is found in hyperthyroidism, in patients with tumours of pituitary gland, in subjects with elevated TBG level (pregnancy, acute or chronic active hepatitis, estrogen-secreting tumours or estrogen intake, hereditary elevation of TBG), in patients taking oral contraceptives, heroin, methadone, thyroid preparations, TSH, thyroliberin.

Low total T4 is found in hypothyroidism, in patients with panhypopituitarism, in subjects with low TBG level (acromegaly, nephritic syndrome, hypoproteinemia, chronic liver diseases, androgen-secreting tumours, hereditary reduction), in patients taking aminosalicilic and acetylsalicilic acids, cholestyramine, reserpine, potassium iodide, triiodothyronine.

### 3. PRINCIPLE OF THE TEST

This test is based on competition enzyme immunoassay principle. Tested specimen is placed into the microwells coated by specific murine monoclonal to T4-antibodies simultaneously with conjugated fT4-peroxidase. fT4 from the specimen competes with the conjugated fT4 for coating 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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. 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.** Material Safety Data Sheet for this product is available upon request directly from XEMA Co., Ltd.

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

## 5. KIT COMPONENTS

### 5.1. Contents of the Kit

| Symbol | Description   | Qty | Units | Colour code           | Stability of opened/diluted components  |
|--------|---|-----|-------|-----------------------|---|
| 1      | T4 EIA strips, 8x12 wells   | 1   | pcs   |                       | until exp.date  |
| 2      | Calibrator set, 0.8 ml each. The set contains 6 calibrators: 0; 5; 10; 25; 50; 100 pmol/l | 6   | pcs   | red (C1 - colourless) | 2 months  |
| 3      | Control serum (0.8 ml)  | 1   | pcs   | colourless            | 2 months  |
| 4      | Conjugate, 14 ml  | 1   | pcs   | red                   | until exp.date  |
| 5      | Substrate solution, 14 ml   | 1   | pcs   | colourless            | until exp.date  |
| 6      | Washing solution concentrate 26X, 22 ml   | 1   | pcs   | colourless            | Concentrate - until exp.date<br>Diluted washing solution - 45 days at 2-8 °C or 15 days at RT |
| 7      | Stop solution, 14 ml  | 1   | pcs   | colourless            | until exp.date  |
| 8      | Plate sealing tape  | 2   | pcs   |                       | N/A   |
| 9      | Instruction fT4 EIA   | 1   | pcs   |                       | N/A   |
| 10     | QC data sheet fT4 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;
- 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...+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 26X by 26 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  | Pipet 25 µl of calibrators CAL 1-6, control samples CONTROL and unknown samples into the wells.  |
| 3  | Dispense 100 µl of CONJ HRP into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape (included into the kit).  |
| 4  | Incubate 60 minutes at 37 °C.  |
| 5  | Prepare washing solution by 26X dilution of washing solution concentrate (BUF WASH 26X) by distilled water. Wash the strips 5 times.   |
| 6  | Dispense 100 µl of SUBS TMB into the wells.  |
| 7  | Incubate 10-20 minutes at +18...+25 °C.  |
| 8  | Dispense 100 µl of STOP into the wells.  |
| 9  | Measure OD (optical density) at 450 nm.  |
| 10 | Set photometer blank on air.   |
| 11 | 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

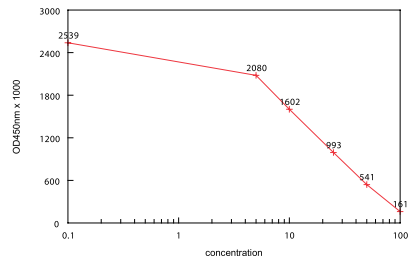
1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

2. Plot a calibration curve on graph paper: OD versus free thyroxin concentration.

3. Determine the corresponding concentration of free thyroxin 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.

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

| Calibrators | Value      | Absorbance Units<br>(450 nm) x 1000 |
|-------------|------------|-------------------------------------|
| CAL 1       | 0 pmol/l   | 2539                                |
| CAL 2       | 5 pmol/l   | 2080                                |
| CAL 3       | 10 pmol/l  | 1602                                |
| CAL 4       | 25 pmol/l  | 993                                 |
| CAL 5       | 50 pmol/l  | 541                                 |
| CAL 6       | 100 pmol/l | 161                                 |



## 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 fT4. 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, pmol/l |             |
|-----------------|---------------|-------------|
|                 | Lower limit   | Upper limit |
| Healthy donors  |               |             |
| <60 yrs         | 10.0          | 25          |
| >60 yrs         | 10.0          | 21          |
| Pregnancy week: |               |             |
| 1st trimester   | 9.0           | 26          |
| 2nd trimester   | 6.0           | 21          |
| 3rd trimester   | 6.0           | 21          |

## 11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

### 11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

| Analyte    | Cross-reactivity, % wt/wt |
|------------|---------------------------|
| L-Thyroxin | 100                       |
| D-Thyroxin | 30                        |
| T3         | 0.5                       |

### 11.2. Analytical sensitivity

Sensitivity of the assay was assessed as being 0.75 pmol/l.

### 11.3. Linearity


















Linearity was checked by assaying dilution series of 5 samples with different free thyroxin concentrations. Linearity percentages obtained ranged within 90 to 110%.

### 11.4. Recovery

Recovery was estimated by assaying 5 mixed samples with known free thyroxin concentrations. The recovery percentages ranged from 90 to 110%.

## 12. LITERATURE

1. Tietz, N. W., Fundamentals of Clinical Chemistry, 2nd Ed., pg. 602, Saunders Press, Phila., 1976.
2. Horworth, P. J. N., Ward, R.L., J. Clin Pathol. 1972; 25:259-62.
3. Sati, C., Chatter, A. J., Watts, N. Fundamentals of Clinical Chemistry. Ed. Tietz, N. W. 3rd Ed., pg. 586. Saunders press Phila. 1987.
4. Lundberg, P. A., Jagenburg, R., Lindstedt, G., Nystrom, E., Clin. Chem. 1982, 28:1241.
5. Melmed, S., Geola, F. L., Reed, A. W., Pekary, A. E., Park, J., Hershmen, J. M., Clin Endocrin. Metabol. 1982, 54; 300.
6. Ingbar, S. H., et al. J. Clin. Invest., 1965, 44:1679.
7. Selenkow, H. A., and Robin, N. I., J. Maine Med. Assoc. 1970, 61:199.

| 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 /<br>In Vitro Diagnostic Medical Device               |
|    | Внимание! / Caution, consult accompanying documents                                   |
|    | Не использовать при нарушении целостности упаковки /<br>Do not use if package damaged |
|    | Планшет / EIA strips  |
|    | Калибровочные пробы / Calibrator set  |
|  | Контрольная сыворотка / Control sera  |
|  | Конъюгат / Conjugate  |
|  | Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) /<br>Substrate solution                   |
|  | Концентрат отмывочного раствора /<br>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»            |



Russian Diagnostic  
Manufacturers Association



Классический российский  
производитель средств лабораторной  
диагностики



Russian Association  
of Medical Laboratory  
Diagnosticians



Российская ассоциация  
медицинских лабораторных  
диагностиков

### 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

105264, г. Москва, 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) 422-62-16;

03179, г. Киев, ул. Академика Ефремова, д. 23;

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com

