

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
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.

| | Nomenclature term Nomenklaturbezeichnung | Catalog No. Katalog-Nr. | Name of device Produktbezeichnung | DIMDI Registration number Registriernummer |
|-----|---|------------------------------------|--|---|
| 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 K161 | Anti-tTG IgG EIA Cat. Nr K160; Anti-tTG IgA EIA Cat. Nr K161 | DE/CA37/IVD/13/41 |
| 5. | GLIADIN ANTIBODIES | K180 K181 K182A K182G | Gliadin IgG EIA Cat. Nr K180; Gliadin IgA EIA Cat. Nr K181 ; Deamidated Gliadin IgA EIA, 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 K201A | TSH EIA Cat. Nr K201; 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 K207S | Progesterone EIA Cat. Nr K207 ; 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 K209S | Testosterone EIA Cat. Nr K209 ; Salivary Testosterone EIA | DE/CA37/IVD/13/30 |
| 16. | CORTISOL | K210 K210S | Cortisol EIA Cat. Nr K210 ; 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 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.

| | Nomenclature term Nomenklaturbezeichnung | Catalog No. Katalog-Nr. | Name of device Produktbezeichnung | DIMDI Registration number Registriernummer |
|-----|---|------------------------------------|---|---|
| 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 K228 | MUC11 M22 EIA Cat. Nr K227; MUC11 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 K274 | IgG2 EIA Cat. Nr K272; 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 KQ14 KQ15 | AutoQon AT immunoassay control set Cat. Nr KQ13; AutoQon ANA/ENA immunoassay control set Cat. Nr KQ14; 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 K279L | Free kappa Igg light chain EIA, 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.

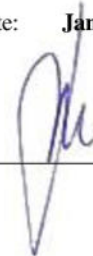
| | Nomenclature term Nomenklaturbezeichnung | Catalog No. Katalog-Nr. | Name of device Produktbezeichnung | DIMDI Registration number Registriernummer |
|-----|---|----------------------------|--|--|
| 50. | NEURON SPECIFIC ENOLASE | K234 | NSE EIA Cat. Nr K234 | DE/CA37/IVD/13/52 |
| 51. | OTHER OTHER 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 K171X | Giardia lamblia Total Ab EIA (Cat. Nr 171) 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
 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

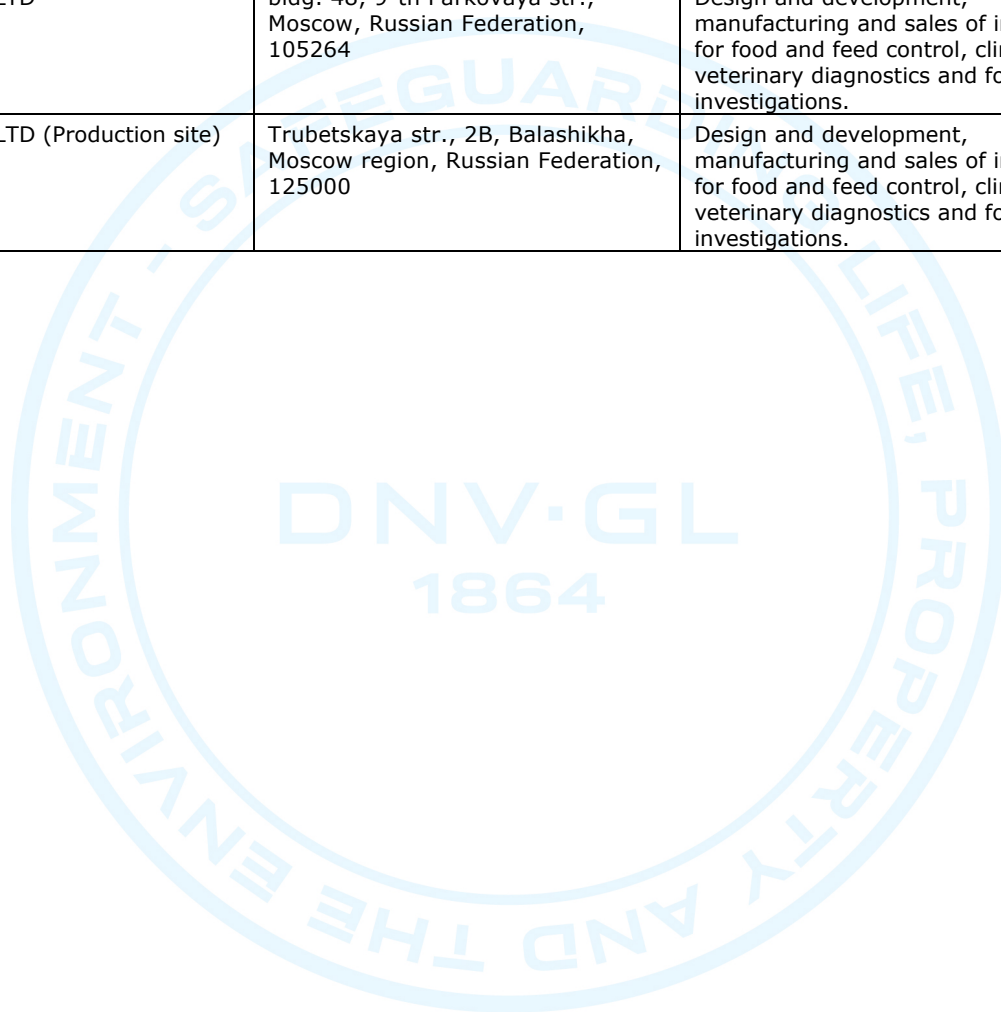
Certificate No: 282710-2019-AQ-MCW-FINAS
 Place and date: Moscow, 14 February 2019

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., Moscow, Russian Federation, 105264 | Design and development, manufacturing and sales of in vitro tests for food and feed control, clinical and veterinary diagnostics and forensic investigations. |
| XEMA Co, LTD (Production site) | Trubetskaya str., 2B, Balashikha, Moscow region, Russian Federation, 125000 | Design and development, manufacturing and sales of in vitro tests for food and feed control, clinical and veterinary diagnostics and forensic 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

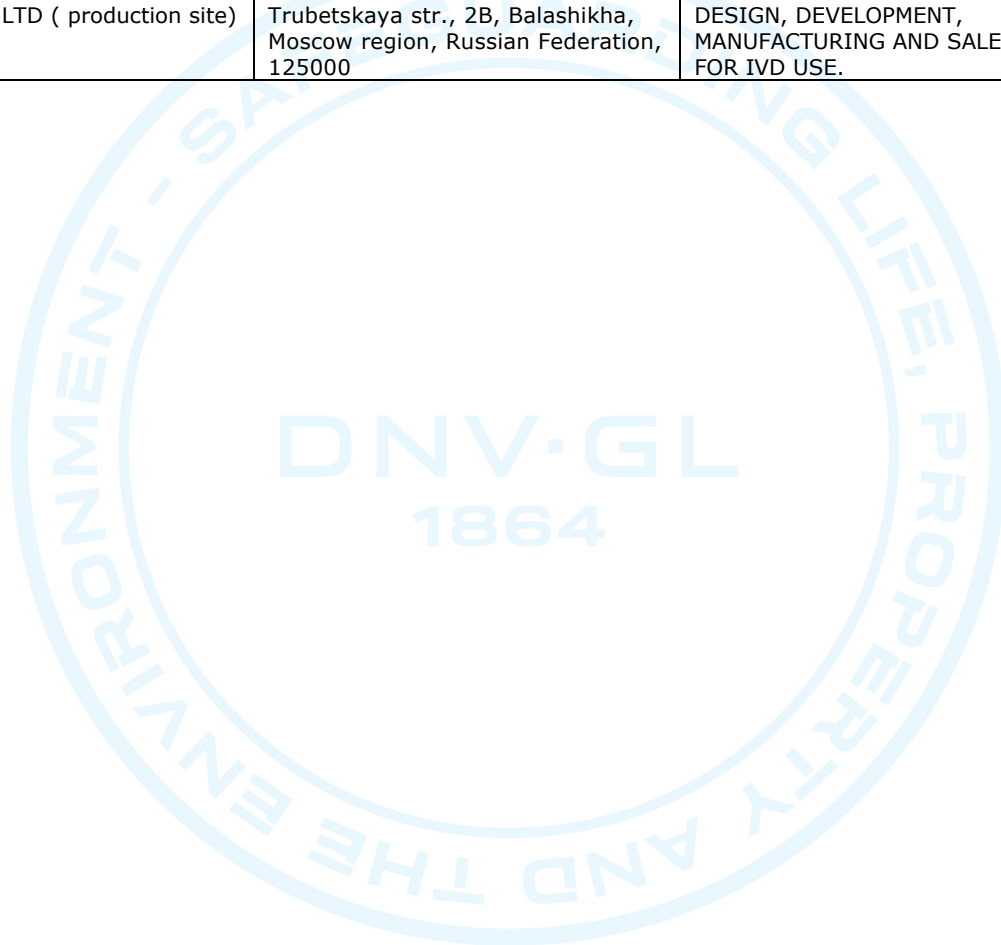
Certificate No: 53899-2009-AQ-MCW-FINAS
Place and date: Moscow, 22 January 2019

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., Moscow, Russian Federation, 105264 | DESIGN, DEVELOPMENT, MANUFACTURING AND SALES OF KITS FOR IVD USE. |
| XEMA Co., LTD (production site) | Trubetskaya str., 2B, Balashikha, Moscow region, Russian Federation, 125000 | DESIGN, DEVELOPMENT, MANUFACTURING AND SALES OF KITS FOR IVD USE. |





Instruction for use



**НАБОР РЕАГЕНТОВ
ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
ХОРИОНИЧЕСКОГО ГОНАДОТРОПИНА
В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ**

«ХГ-ИФА»

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

hCG EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF** **K205**

№ 9398-205-18619450-2012

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
№ ФСР 2007/00740 от 28 октября 2013 г.

Антитела к ВИЧ 1,2, вирусу гепатита С и НВsAg 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

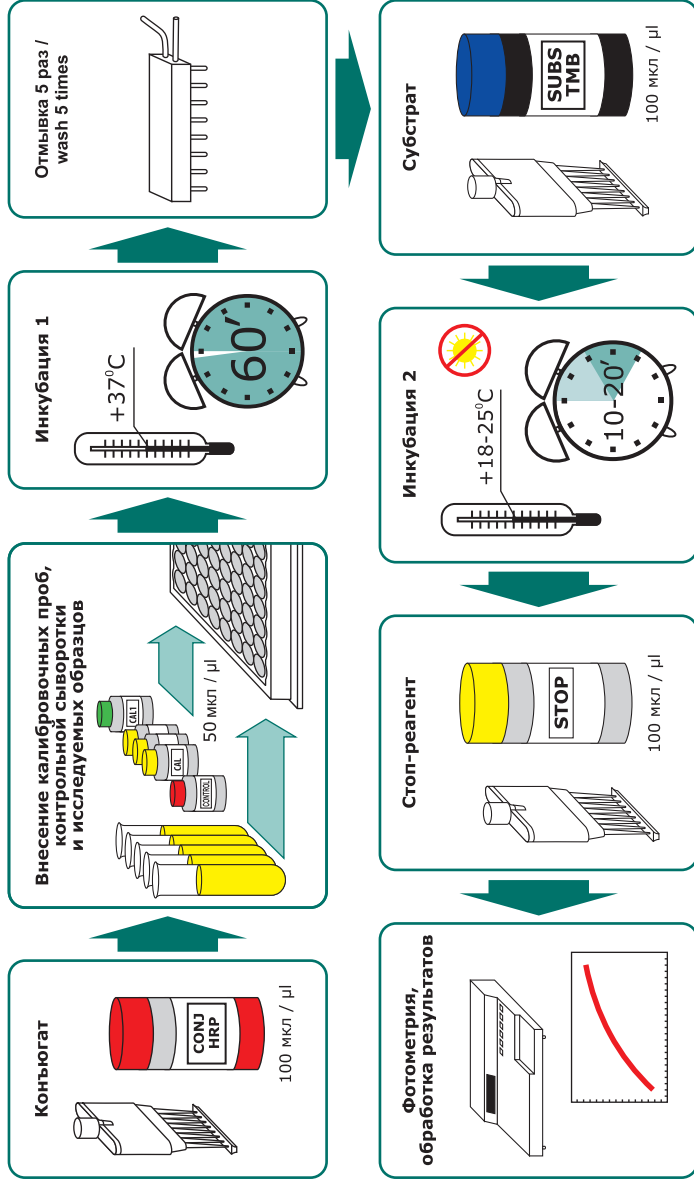
e-mail: redkin@xema-medica.com

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



K201 ; K202; K203; K204; K205; K206; K221; K224; K225

СОДЕРЖАНИЕ

| | |
|---|---|
| 1. НАЗНАЧЕНИЕ | 2 |
| 2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА | 2 |
| 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 | 14 |
| 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 ХОРИОНИЧЕСКОГО ГОНАДОТРОПИНА В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «ХГ-ИФА»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «ХГ-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации хорионического гонадотропина в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Хорионический гонадотропин (ХГ) – гликопротеин, секретируемый трофобластическими клетками плаценты. Молекула ХГ состоит из двух нековалентно связанных полипептидных цепей: α - и β -субъединицы. Специфичность и биологическую активность гормона определяет его β -субъединица. Концентрацию ХГ в моче и сыворотке крови определяют для ранней диагностики беременности. При многоплодной беременности уровень ХГ в сыворотке значительно превышает соответствующие сроку нормы. Напротив, внематочная беременность и плацентарная недостаточность характеризуются снижением этого показателя. Определение ХГ в сыворотке крови во втором триместре беременности (наряду с АФП и эстриолом) входит в программу обследования для выявления синдрома Дауна. Кроме того, ХГ является основным лабораторным диагностическим маркером хорионэпителиомы и других трофобластических опухолей и хорошо отражает эффективность проводимой противоопухолевой терапии. В данной тест-системе в качестве антитела «захвата» используется моноклональное антитело, специфичное для β -субъединицы; проявление связанного антигена проводится с помощью моноклонального антитела, специфичного для α -субъединицы; таким образом определяется только интактная молекула ХГ.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение хорионического гонадотропина основано на использовании «сэндвич»-варианта твердофазного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы мышиные моноклональные антитела к β -субъединице хорионического гонадотропина человека. В лунках планшета, при добавлении исследуемого образца, происходит связывание ХГ, содержащегося в исследуемом образце, с антителами на твердой фазе. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата мышиных моноклональных антител к альфа-цепи ЛГ/ФСГ/ХГ 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 хорионического гонадотропина в исследуемом образце. Концентрацию хорионического гонадотропина в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания хорионического гонадотропина в калибровочных пробах.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Перекрестная реакция мышинных моноклональных антител к β -субъединице хорионического гонадотропина человека с другими анализатами приведена в таблице:

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

3.2. Воспроизводимость.

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

3.3. Линейность.

Зависимость концентрации ХГ в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей ГР, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 15–500 МЕ/л и составляет $\pm 10.0\%$.

3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации ХГ предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 60 МЕ/л. Процент «открытия» составляет 90–110%.

3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «ХГ-ИФА» концентрация ХГ в сыворотке (плазме) крови не превышает 1.25 МЕ/л.

4. СОСТАВ НАБОРА

| Код компонента | Символ | Наименование | Кол-во | Ед. | Описание |
|----------------|--------------|--|--------|-----|---|
| 1 P205Z | SORB MTP | Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию | 1 | шт. | - |
| 2 C205Z | CAL 1-6 | Калибровочные пробы на основе фосфатного буфера (рН 7.2-7.4), содержащие известные количества хорионического гонадотропина - 0; 15; 60; 125; 250; 500 МЕ/л , готовы к использованию (по 0.8 мл каждая) | 6 | шт. | прозрачные жидкости синего цвета (калибровочная проба 0 - прозрачная бесцветная жидкость) |
| 3 Q205Z | CONTROL | Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием хорионического гонадотропина, готова к использованию (0.8 мл) | 1 | шт. | прозрачная бесцветная жидкость |
| 4 T205Z | CONJ HRP | Конъюгат , готов к использованию (14 мл) | 1 | шт. | прозрачная жидкость красного цвета |
| 5 S011Z4 | DIL SPE | ИФА-Буфер , готов к использованию (100 мл) | 1 | шт. | прозрачная жидкость синего цвета |
| 6 R055Z | SUBS TMB | Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) , готов к использованию (14 мл) | 1 | шт. | прозрачная бесцветная жидкость |
| 7 S008Z | BUF WASH 26X | Концентрат отмывочного раствора (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26х-кратный (22 мл) | 1 | шт. | прозрачная бесцветная жидкость |
| 8 R050Z | STOP | Стоп-реагент , готов к использованию (14 мл) | 1 | шт. | прозрачная бесцветная жидкость |
| 9 N003 | - | Бумага для заклеивания планшета | 2 | шт. | - |
| 10 K205I | - | Инструкция по применению Набора реагентов «ХГ-ИФА» | 1 | шт. | - |
| 11 K205Q | - | Паспорт контроля качества Набора реагентов «ХГ-ИФА» | 1 | 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 «ХГ-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;
- оставшийся неиспользованным концентрат отмывочного раствора, ИФА-Буфер, 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;
- 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 хорионического гонадотропина в контрольной сыворотке.

8.7. Для исключения ложно заниженных результатов (т.н. «хук-эффект») не допускается исследование образцов сыворотки (плазмы) крови беременных без предварительного разведения ИФА-Буфером. Перечень требуемых факторов разведения в зависимости от срока беременности приведен в п. 9.3. Если определение концентрации ХГ в сыворотке (плазме) проводится в целях первичной диагностики беременности (ранние сроки беременности), образец необходимо одновременно исследовать без разведения (цельная сыворотка (плазма)) и с фактором разведения 1:20

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

8.9. 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 ХГ в исследуемом образце превышает 250 МЕ/л, его следует дополнительно развести, используя ИФА-Буфер (S011Z4). Использование других буферов и реагентов для разведения образцов может искажать результаты определения! Если полученный результат 250 МЕ/л и выше - необходима повторная постановка с дополнительным разведением образца. |
| 3 | <p>Обязательные разведения исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови в зависимости от недели беременности:</p> <p>1-2 неделя - без разведения; 3-4 неделя - 1:20 4-14 неделя - 1:400 14-21 неделя - 1:400; 1:1000 22 неделя, 3-й триместр - 1:400</p> <p>Пример разведения исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови:</p> <p>1:20 – добавить 25 мкл образца в 475 мкл ИФА-Буфера 1:400 – добавить 25 мкл разведения 1:20 в 475 мкл ИФА-Буфера 1:1000 – добавить 200 мкл разведения 1:400 в 300 мкл ИФА-Буфера</p> |
| 4 | Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата. |
| 5 | Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 50 мкл калибровочной пробы и контрольной сыворотки. В остальные лунки внесите в дубликатах по 50 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови. Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут. |
| 6 | Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте его в течение 60 минут при температуре +37 °С . |
| 7 | По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз . При каждой отмывке добавьте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п. 7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок постукиванием планшета в перевернутом положении по фильтровальной бумаге. |
| 8 | Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина. Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2-3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °С) в течение 10-20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания. |
| 9 | Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет. |
| 10 | Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм . Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра представляйте по калибровочной пробе С1. |
| 11 | Постройте в линейных координатах калибровочный график: ось абсцисс (х) - концентрация ХГ в калибровочных пробах (МЕ/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. |
| 12 | Определите по калибровочному графику содержание ХГ в исследуемых образцах. Если исследуемый образец преобразовали (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 ХГ в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (1.25 МЕ/л), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (500 МЕ/л) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация ХГ ниже 1.25 МЕ/л или выше 500 МЕ/л.

В Наборе «ХГ-ИФА» значения концентраций калибровочных проб выражены в МЕ/л. Для пересчета концентраций в нг/мл, полученное значение концентрации в МЕ/л следует умножить на 0.2.

$$1 \text{ МЕ/л} = 0.2 \text{ нг/мл}$$

| Исследуемая группа | Единицы, МЕ/л | | Единицы доп., нг/мл | |
|--------------------|---------------|----------------|---------------------|----------------|
| | Нижний предел | Верхний предел | Нижний предел | Верхний предел |
| Мужчины | - | 15 | - | 3.0 |
| Женщины | - | 15 | - | 3.0 |
| Беременные: | | | | |
| 1 неделя | - | 50 | - | 10.0 |
| 2 неделя | 20 | 500 | 4.0 | 100 |
| 3 неделя | 500 | 5000 | 100 | 1000 |
| 4 неделя | 3000 | 19000 | 600 | 3800 |
| 5-8 недели | 14000 | 169000 | 2800 | 33800 |
| 9-13 недели | 16000 | 180000 | 3200 | 36000 |
| 22 неделя | 4500 | 70000 | 900 | 14000 |
| 23 неделя | 3000 | 69500 | 600 | 13900 |
| 3-й триместр | 2400 | 50000 | 480 | 10000 |

Медианы и СКО (рекомендуемый диапазон норм 0.5-2.0 МОМ)

| Беременные, неделя | Медиана, кМЕ/л | СКО |
|--------------------|----------------|------|
| 14 неделя | 55 | 0.83 |
| 15 неделя | 42.8 | 0.78 |
| 16 неделя | 38.4 | 0.74 |
| 17 неделя | 32.8 | 0.75 |
| 18 неделя | 25.6 | 0.69 |
| 19 неделя | 23 | 0.56 |
| 20 неделя | 21 | 0.52 |
| 21 неделя | 18 | 0.51 |

1. ЛИТЕРАТУРА

1. Krieg, A.F. Pregnancy Tests and Evaluation of Placental Function. Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, 16th ed. Henry, J.B. editor, W.B. Saunders Co. Philadelphia. app. 680, 1979.
2. Brody, S., and Carlstrom, G., Immunoassay of Human Chorionic Gonadotropin in Normal and Pathologic Pregnancy. J. Clin. Endocrinol. Metab., 22: 564, 1962.
3. Braunstein, G.D., Rasor, J., Adleer, D., et al: Serum Human Chorionic Gonadotropin Levels Throughout Normal Pregnancy. Am. J. Obstet. Gynecol., 126: 678, 1976.
4. Skinner, M.S., Seckinger, D., Evaluation of Beta-Subunit Chorionic Gonadotropin as an Aid in Diagnosis of Trophoblastic Disease. Ann. Clin. Lab. Sci., 9 (4): 347-52, 1979.
5. Braunstein, G.D., Vaitukaitis, J.L., Carbone, P.P., and Ross, G.T., Ectopic Production of Human Chorionic Gonadotropin by Neoplasms. Ann. Intern. Med., 78: 39-45, 1973.

По вопросам, касающимся качества Набора **«ХГ-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: rqc@xema.ru; info@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 HCG IN HUMAN SERUM OR PLASMA

1. INTENDED USE

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

This kit is designed for measurement of hCG 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

Human chorionic gonadotropin (HCG) is a glycoprotein hormone secreted by trophoblastic cells of placenta. A molecule of HCG consists of two noncovalently bound subunits: alpha- and beta-HCG. Beta-subunit is specific for HCG hormone.

Determination of HCG is widely used for early diagnosis of pregnancy. Multiple pregnancy results in correspondent elevation of serum HCG; while ectopic pregnancy and placental insufficiency cause decreased serum HCG levels. Determination of HCG in serum during second trimester is used for pregnancy monitoring, especially in screening for Down syndrome, along with other laboratory tests (AFP and Estriol).

Serum HCG is also a laboratory marker of trophoblastic tumours – chorionepitheliomas, some seminomas and teratomas. Serial determination of serum HCG can be used for therapy monitoring in these cancers.

The present test system uses beta (β)-chain specific monoclonal antibody as the capture, and alpha (α)-chain specific monoclonal antibody as the tracer; therefore only the whole intact HCG molecule is detected.

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 β chain of hCG-antibodies. Antigen from the specimen is captured by the antibodies coated onto the microwell surface. Second antibodies – murine monoclonal to α chain of hCG, 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.

5.1. Contents of the Kit

5. KIT COMPONENTS

| Symbol | Description | Qty | Units | Colour code | Stability of opened/diluted components |
|--------|--|-----|-------|------------------------|---|
| 1 | hCG EIA strips, 8x12 wells | 1 | pcs | | until exp.date |
| 2 | Calibrator set, 0.8 ml each. The set contains 6 calibrators: 0; 15; 60; 125; 250, 500 IU/l | 6 | pcs | blue (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 | EIA buffer 100 ml | 1 | pcs | blue | until exp.date |
| 6 | Substrate solution, 14 ml | 1 | pcs | colourless | until exp.date |
| 7 | Washing solution concentrate 26X, 22 ml | 1 | pcs | colourless | Concentrate - until exp.date Diluted washing solution - 45 days at 2-8 °C or 15 days at RT |
| 8 | Stop solution, 14 ml | 1 | pcs | colourless | until exp.date |
| 9 | Plate sealing tape | 2 | pcs | | N/A |
| 10 | Instruction hCG EIA | 1 | pcs | | N/A |
| 11 | QC data sheet hCG EIA | 1 | pcs | | N/A |

5.2. Equipment and material required but not provided

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

5.3. Storage and stability of the Kit

Store the whole kit at +2...+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. Alternative units: 1 IU/l = 0.2 ng/ml

7.5. Highdose hook effect. A high-dose hook effect is possible in kits of this nature. To avoid falsely low results, samples obtained from pregnant women should be diluted accordingly before assaying:

Week 1-2 of gestation – no dilution

Week 3-4 – 1:20

Week 4-14 – 1:400

Week 14-21 – 1:400 and 1:1000 (both dilutions should be assayed)

Week 22, 3rd trimester – 1:400.

Dilution examples:

1:20 – 25 ul of sample + 475 ul of EIA buffer

1:400 – 25 ul of 1:20 dilution + 475 ul of EIA buffer

1:1000 – 200 ul of 1:400 dilution + 300 ul of EIA buffer.

If pregnancy status is not clear but suspected, the sample should be assayed both undiluted and diluted 1:20.

7.6. 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 DIL SPE (EIA buffer) (see p 7.5). 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. |

7.7. 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

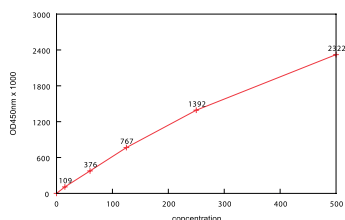
9.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

9.2. Plot a calibration curve on graph paper: OD versus hCG concentration.

9.3. Determine the corresponding concentration of hCG 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 IU/l | 0.04 |
| CAL 2 | 15 IU/l | 0.15 |
| CAL 3 | 60 IU/l | 0.41 |
| CAL 4 | 125 IU/l | 0.81 |
| CAL 5 | 250 IU/l | 1.43 |
| CAL 6 | 500 IU/l | 2.36 |



10. EXPECTED VALUES

Therapeutical consequences should not be based on results of IVD methods alone – all available clinical and laboratory findings should be used by a physician to elaborate therapeutically measures. Each laboratory should establish its own normal range for hCG. 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, IU/l | | Units alternative, ng/ml | |
|-----------------|-------------|-------------|--------------------------|-------------|
| | Lower limit | Upper limit | Lower limit | Upper limit |
| Males | - | 15 | - | 3.0 |
| Females | - | 15 | - | 3.0 |
| Pregnancy week: | | | | |
| 1 | - | 50 | - | 10.0 |
| 2 | 20 | 500 | 4.0 | 100 |
| 3 | 500 | 5000 | 100 | 1000 |
| 4 | 3000 | 19000 | 600 | 3800 |
| 5-8 | 14000 | 169000 | 2800 | 33800 |
| 9-13 | 16000 | 180000 | 3200 | 36000 |
| 22 | 4500 | 70000 | 900 | 14000 |
| 23 | 3000 | 69500 | 600 | 13900 |
| 3rd trimester | 2400 | 50000 | 480 | 10000 |

| Pregnancy, week | Median, kIU/l | SKO |
|-----------------|---------------|------|
| 14 | 55 | 0.83 |
| 15 | 42.8 | 0.78 |
| 16 | 38.4 | 0.74 |
| 17 | 32.8 | 0.75 |
| 18 | 25.6 | 0.69 |
| 19 | 23 | 0.56 |
| 20 | 21 | 0.52 |
| 21 | 18 | 0.51 |

11. PERFORMANCE CHARACTERISTIC

11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

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

11.2. Analytical sensitivity

Sensitivity of the assay was assessed as being 1.25 IU/l.

11.3. Linearity


















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

11.4. Recovery

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

12. LITERATURE

1. Krieg, A.F. Pregnancy Tests and Evaluation of Placental Function. Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, 16th ed. Henry, J.B. editor, W.B. Saunders Co. Philadelphia. app. 680, 1979.
2. Brody, S., and Carlstrom, G., Immunoassay of Human Chorionic Gonadotropin in Normal and Pathologic Pregnancy. J. Clin. Endocrinol. Metab., 22: 564, 1962.
3. Braunstein, G.D., Rasor, J., Adleer, D., et al: Serum Human Chorionic Gonadotropin Levels Throughout Normal Pregnancy. Am. J. Obstet. Gynecol., 126: 678, 1976.
4. Skinner, M.S., Seckinger, D., Evaluation of Beta-Subunit Chorionic Gonadotropin as an Aid in Diagnosis of Trophoblastic Disease. Ann. Clin. Lab. Sci., 9 (4): 347-52, 1979.
5. Braunstein, G.D., Vaitukaitis, J.L., Carbone, P.P., and Ross, G.T., Ectopic Production of Human Chorionic Gonadotropin by Neoplasms. Ann. Intern. Med., 78: 39-45, 1973.

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

Уважаемый Клиент!

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

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

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

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



Russian Diagnostic
Manufacturers Association



Ассоциация российских
производителей средств медицинской
лабораторной диагностики



RUSSIAN ASSOCIATION
OF MEDICAL LABORATORY
DIAGNOSTICS



РОССИЙСКАЯ АССОЦИАЦИЯ
МЕДИЦИНСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ
ДИАГНОСТИКИ

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





Instruction for use



**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
НАБОРА РЕАГЕНТОВ
ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
ЭСТРАДИОЛА В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ**

«ЭСТРАДИОЛ-ИФА»

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

ESTRADIOL EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF** **K208**

ТУ № 9398-032-18619450-2007

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
№ ФСР 2007/00736 от 04 сентября 2013 года



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

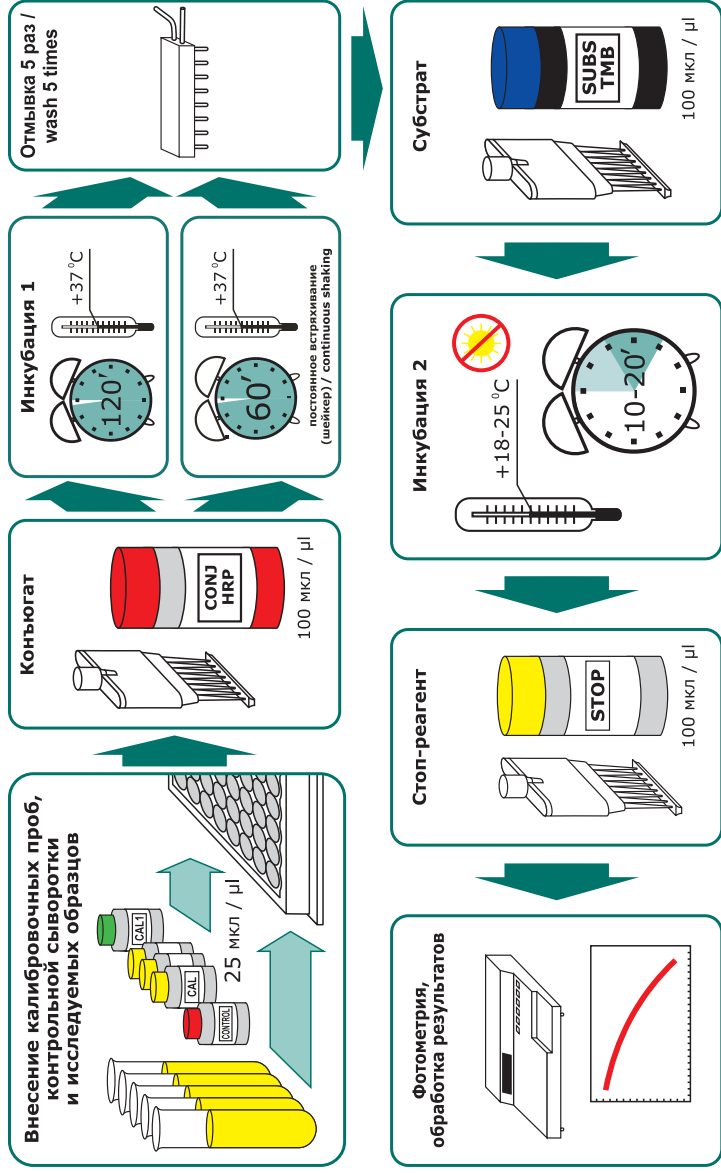
e-mail: redkin@xema-medica.com

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



K208; K209

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 | 14 |
| 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 ЭСТРАДИОЛА В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «ЭСТРАДИОЛ-ИФА»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

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

1.2. Эстрадиол (E2) – стероидный гормон с молекулярным весом 272.4 Да. Это наиболее активный из эстрогенов в организме человека. Считается, что у мужчин незначительное количество эстрадиола вырабатывается в коре надпочечников и в яичках. В женском организме он образуется в яичниках, оболочке и гранулезных клетках фолликулов. Физиологическая роль E2 заключается в формировании специфических функций женского организма. Секреция E2 регулируется взаимодействием гормонов гипоталамуса, гипофиза и яичников при участии либеринов, гонадотропинов, пролактина и половых стероидов. Уровень эстрадиола остается низким в начале и середине фолликулярной фазы нормального менструального цикла. За 3–5 дней до пика ЛГ уровень E2 начинает расти и достигает максимального значения примерно за 12 часов до пика ЛГ. После резкого падения до минимальных значений (спустя 48 часов после пика ЛГ), уровень E2 начинает снова расти. Максимальная концентрация гормона в лютеиновой фазе наблюдается на 9-й день после овуляции, а к концу цикла вновь падает по мере атрезии желтого тела. Во время беременности определение уровня эстрадиола в крови позволяет контролировать состояние фетоплацентарной системы. Содержание E2 в крови матери в начале беременности соответствует его содержанию у небеременных женщин во время овуляции. Резкий подъем его уровня наблюдается к 9-й – 10-й неделе (в 12 раз), затем постепенно увеличивается до конца беременности. Снижение концентрации эстрадиола при динамическом исследовании является показателем нарушения развития плода. Повышенные уровни эстрадиола в сыворотке крови наблюдаются при маточных кровотечениях в период менопаузы; гиперплазии надпочечников; эстрогенпродуцирующих опухолях; циррозе печени; феминизации у детей; приеме гонадотропинов, кломифена, эстрогенов. Снижение уровня эстрадиола наблюдается при синдроме Тернера, первичном и вторичном гипогонадизме, гермафродитизме, климактерическом и постклимактерическом синдромах, нарушении состояния плода во время беременности, приеме оральных контрацептивов.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение эстрадиола основано на использовании конкурентного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы кроличьи поликлональные антитела к эстрадиолу. Эстрадиол из образца конкурирует с конъюгированным эстрадиолом 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 эстрадиола в исследуемом образце. Концентрацию эстрадиола в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания эстрадиола в калибровочных пробах.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Перекрестная реакция кроличьих поликлональных антител к эстрадиолу с другими анализитами приведена в таблице:

| Аналит | Перекрестная реакция, % |
|-------------------|-------------------------|
| Эстрадиол | 100 |
| Эстрон | 0.2 |
| Эстриол | 0.6 |
| Кортизол | 0.06 |
| Преднизолон | 0.09 |
| Кортикостерон | <0.01 |
| Прогестерон | <0.01 |
| 17-ОН Прогестерон | <0.05 |
| Прегненолон | <0.05 |
| Тестостерон | <0.01 |

3.2. Воспроизводимость.

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

3.3. Линейность.

Зависимость концентрации эстрадиола в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей эстрадиол, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 0,1–20 нмоль/л и составляет $\pm 10.0\%$.

3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации эстрадиола предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 0.3 нмоль/л. Процент «открытия» составляет 90–110%.

3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «ЭСТРАДИОЛ-ИФА» концентрация эстрадиола в сыворотке (плазме) крови не превышает 0.025 нмоль/л.

4. СОСТАВ НАБОРА

| Код компонента | Символ | Наименование | Кол-во | Ед. | Описание |
|----------------|--------------|--|--------|-----|--|
| 1 P208Z | SORB MTP | Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию | 1 | шт. | - |
| 2 C208Z | CAL 1-6 | Калибровочные пробы на основе сыворотки крови человека, содержащие известные количества эстрадиола – 0; 0.1; 0.3; 1; 3; 20 нмоль/л , готовы к использованию (по 0.8 мл каждая) | 6 | шт. | прозрачные жидкости ярко-красного цвета (калибровочная проба 0 – прозрачная бесцветная жидкость) |
| 3 Q208Z | CONTROL | Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием эстрадиола, готова к использованию (0.8 мл) | 1 | шт. | прозрачная бесцветная жидкость |
| 4 T208Z | CONJ HRP | Конъюгат , готов к использованию (14 мл) | 1 | шт. | прозрачная жидкость красного цвета |
| 5 R055Z | SUBS TMB | Раствор субстрата тетраметилбензидаина (ТМБ), готов к использованию (14 мл) | 1 | шт. | прозрачная бесцветная жидкость |
| 6 S008Z | BUF WASH 26X | Концентрат отмывочного раствора (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26х-кратный (22 мл) | 1 | шт. | прозрачная бесцветная жидкость |
| 7 R050Z | STOP | Стоп-реагент , готов к использованию (14 мл) | 1 | шт. | прозрачная бесцветная жидкость |
| 8 N003 | - | Бумага для заклеивания планшета | 2 | шт. | - |
| 9 K208I | - | Инструкция по применению Набора реагентов «ЭСТРАДИОЛ-ИФА» | 1 | шт. | - |
| 10 K208Q | - | Паспорт контроля качества Набора реагентов «ЭСТРАДИОЛ-ИФА» | 1 | 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, противозидемического 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 $+37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$ (или термоста-тируемый шейкер);
- 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 «ЭСТРАДИОЛ-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 эстрадиола 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 | 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 сыоротки (плазмы) крови. Внесение калибровочных проб, контрольной сыоротки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут. |
| 3 | Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата. |
| 4 | Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте его в течение 120 минут при температуре +37 °С. Допускается инкубация в течение 60 минут при + 37 °С и постоянном встряхивании (600 об/мин) |
| 5 | По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз. При каждой отмывке добавьтe 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 | Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина. Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2–3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °С) в течение 10–20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания. |
| 7 | Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет. |
| 8 | Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм. Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра представляйте по воздуху. |
| 9 | Постройте в полулогарифмических координатах калибровочный график: ось абсцисс (х) – десятичный логарифм концентрации эстрадиола в калибровочных пробах (нмоль/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 нмоль/л к несущественно малой величине, например, 0.001 нмоль/л |
| 10 | Определите по калибровочному графику содержание эстрадиола 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 эстрадиола в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0.025 нмоль/л), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (20 нмоль/л) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация эстрадиола ниже 0.025 нмоль/л или выше 20 нмоль/л.

10.2. В Наборе «ЭСТРАДИОЛ-ИФА» значения концентраций калибровочных проб выражены в нмоль/л. Для пересчета концентраций в пг/мл, полученное значение концентрации в нмоль/л следует умножить на 272.

1 нмоль/л = 272 пг/мл

| Исследуемая группа | Единицы, нмоль/л | | Единицы доп., пг/мл | |
|--------------------|------------------|----------------|---------------------|----------------|
| | Нижний предел | Верхний предел | Нижний предел | Верхний предел |
| дети до 11 лет | - | 0.2 | - | 54.4 |
| Мужчины | 0.029 | 0.3 | 7.9 | 81.6 |
| Женщины | | | | |
| Беременные: | | | | |
| 1-й триместр | 0.1 | 10.5 | 27 | 2856 |
| 2-й триместр | 3.0 | 21 | 816 | 5712 |
| 3-й триместр | 6.0 | 80 | 1632 | 21760 |
| Фазы цикла: | | | | |
| фолликулярная | 0.05 | 0.7 | 13.6 | 190.4 |
| лютеиновая | 0.1 | 1.1 | 27.2 | 299.2 |
| овуляция | 0.34 | 1.8 | 92.5 | 489.6 |
| менопауза | - | 0.23 | - | 62.6 |

11. ЛИТЕРАТУРА

1. Hall, P. F., Testicular Steroid Synthesis: Organization and Regulation. In: The Physiology of Reproduction, Ed.: Knobil, E., and Neill, J. et al., pp 975-98. Raven Press, New York (1988).
2. Tsang, B. K., Armstrong, D. T. and Whitfield, J. F., Steroid biosyntheses by isolated human ovarian follicular cells in vitro, J. Clin. Endocrinol. Metab. 51:1407 - 11 (1980).
3. Gore-Langton, R. E. and Armstrong, D. T., Follicular steroidogenesis and its control. In: The physiology of Reproduction, Ed.: Knobil, E., and Neill, J. et al., pp. 331-85. Raven Press, New York (1988).
4. Siiteri, P. K. Murai, J. T., Hammond, G. L., Nisker, J. A., Raymoure, W. J. and Kuhn, R. W., The serum transport of steroid hormones, Rec. Prog. Horm. Res. 38:457- 510 (1982).
5. Martin, B., Rotten, D., Jolivet, A. and Gautray, J-P-. Binding of steroids by proteins in follicular fluid of the human ovary, J.Clin. Endocrinol. Metab. 35: 443-47 (1981).
6. Baird, D. T., Ovarian steroid secretion and metabolism in women. In: The Endocrine Function of the Human Ovary. Eds.: James, V.H:T., Serio, M. and Giusti, G. pp. 125-33, Academic Press, New York (1976).
7. McNastty, K. P., Baird, D. T., Bolton, a., Chambers, P., Corker, C.S. and McLean, H., concentration of oestrogens and androgens in human ovarian venous plasma and follicular fluid throughout the menstrual cycle, J. Endocrinol. 71:77-85 (1976).

По вопросам, касающимся качества Набора **«ЭСТРАДИОЛ-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 ESTRADIOL IN HUMAN SERUM OR PLASMA

1. INTENDED USE

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

This kit is designed for measurement of estradiol 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

Estradiol (E2) is a steroid hormone with molecular weight 272.4 Da. In humans, E2 shows the highest physiological activity among the estrogens. In males, minor quantities of E2 are produced by adrenals and testicles. In females, E2 is produced by ovarian follicles. The physiological activity of E2 involves multiple functions in female reproductive system. Regulation of E2 production and secretion is complex and depends on pituitary and ovarian hormones.

Serum E2 level is low in follicular phase of the menstrual cycle; 3–5 days before serum LH peak, serum E2 level begins to rise and reaches a maximum ca. 12 hours before LH peak. After LH peak, E2 level drops dramatically to the minimal level and starts to rise again. The maximal E2 level in serum is observed in luteal phase, at day 9 after ovulation; then the decline of serum E2 reflects the degradation of corpus luteum.

During pregnancy, the determination of serum E2 reflects the status of fetoplacental system. In first trimester, serum E2 level is in the range corresponding to the ovulation levels. Sharp increase of serum E2 in pregnant women is observed between 9th and 10th week; then the increase continues less sharply by the end of pregnancy.

Increased levels of serum estradiol are characteristic for metrorrhagias in post-menopausal age; adrenal hyperplasia; estrogen-secreting tumours; liver cirrhosis; feminization in children and males; intake of gonadotropins and estrogens.

Decreased levels of serum estradiol are observed in Turner syndrome, primary or secondary hypogonadism; germaphroditism; post-climacteric syndrome; fetal dysfunctions; intake of oral contraceptives.

3. PRINCIPLE OF THE TEST

This test is based on competition enzyme immunoassay principle. Tested specimen is placed into the microwells coated by specific rabbit polyclonal to estradiol-antibodies simultaneously with conjugated Estradiol-peroxidase. Estradiol from the specimen competes with the conjugated Estradiol 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% H₂SO₄. 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.

5.1. Contents of the Kit

5. KIT COMPONENTS

| Symbol | Description | Qty | Units | Colour code | Stability of opened/diluted components |
|----------------|---|-----|-------|------------------------------|---|
| 1 SORB MTP | Estradiol EIA strips, 8x12 wells | 1 | pcs | | until exp.date |
| 2 CAL 1-6 | Calibrator set, 0.8 ml each. The set contains 6 calibrators: 0: 0.1; 0.3; 1; 3; 20 nmol/l | 6 | pcs | bright 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 | red | 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 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 K2081 | Instruction Estradiol EIA | 1 | pcs | | N/A |
| 10 K208Q | QC data sheet Estradiol EIA | 1 | pcs | | N/A |

5.2. Equipment and material required but not provided

- Distilled or deionized water;
- Automatic or semiautomatic multichannel micropipettes, 100–250 µl, is useful but not essential;
- Calibrated micropipettes with variable volume, range volume 25–250 µl;
- Dry thermostat for 37 °C ±0.1 °C (optional: with shaking 600 rpm);
- 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.

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

7.3. Assay flowchart

1 nmol/l = 272 pg/ml

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 120 minutes at 37 °C. OR: Incubate at +37 °C with continuous shaking (ca 600 rpm) during 60 min. |
| 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

Incubation at +37 °C may be replaced by incubation at +37 °C with continuous shaking (ca 600 rpm) during 60 min

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

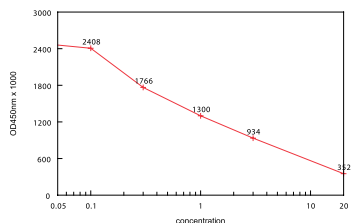
1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

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

3. Determine the corresponding concentration of estradiol 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 (450 nm) x 1000 |
|-------------|------------|----------------------------------|
| CAL 1 | 0 nmol/l | 2579 |
| CAL 2 | 0.1 nmol/l | 2408 |
| CAL 3 | 0.3 nmol/l | 1766 |
| CAL 4 | 1 nmol/l | 1300 |
| CAL 5 | 3 nmol/l | 934 |
| CAL 6 | 20 nmol/l | 352 |



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 Estradiol. 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, nmol/l | | Units alternative, pg/ml | |
|-----------------------|---------------|-------------|--------------------------|-------------|
| | Lower limit | Upper limit | Lower limit | Upper limit |
| Children under 11 yrs | - | 0.2 | - | 54.4 |
| Males | 0.029 | 0.3 | 7.9 | 81.6 |
| Females | | | | |
| Pregnancy week: | | | | |
| 1st trimester | 0.1 | 10.5 | 27 | 2856 |
| 2nd trimester | 3.0 | 21 | 816 | 5712 |
| 3rd trimester | 6.0 | 80 | 1632 | 21760 |
| Menstrual cycle: | | | | |
| follicular phase | 0.05 | 0.70 | 13.6 | 190.4 |
| luteinic phase | 0.1 | 1.10 | 27.2 | 299.2 |
| ovulation | 0.34 | 1.80 | 92.5 | 489.6 |
| post menopausal | - | 0.23 | - | 62.6 |

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

| Analyte | Cross-reactivity, % wt/wt |
|------------------------|---------------------------|
| Estradiol | 100 |
| Estrone | 0.2 |
| Estriol | 0.6 |
| Cortisol | 0.06 |
| Prednisolone | 0.09 |
| Corticosterone | <0.01 |
| Progesterone | <0.01 |
| 17-Hydroxyprogesterone | <0.05 |
| Pregnenolone | <0.05 |
| Testosterone | <0.01 |

11.2. Analytical sensitivity.

Sensitivity of the assay was assessed as being 0.025 nmol/l.

11.3. Linearity.


















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

11.4. Recovery.

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

12. LITERATURE

- Hall, P. F., Testicular Steroid Synthesis: Organization and Regulation. In: The Physiology of Reproduction, Ed.: Knobil, E., and Neill, J. et al., pp 975-98. Raven Press, New York (1988).
- Tsang, B. K., Armstrong, D. T. and Whitfield, J. F., Steroid biosyntheses by isolated human ovarian follicular cells in vitro, J. Clin. Endocrinol. Metab. 51:1407 – 11 (1980).
- Gore-Langton, R. E. and Armstrong, D. T., Follicular steroidogenesis and its control. In: The physiology of Reproduction, Ed.: Knobil, E., and Neill, J. et al., pp. 331-85. Raven Press, New York (1988).
- Siiteri, P. K. Murai, J. T., Hammond, G. L., Nisker, J. A., Raymoure, W. J. and Kuhn, R. W., The serum transport of steroid hormones, Rec. Prog. Horm. Res. 38:457 - 510 (1982).
- Martin, B., Rotten, D., Jolivet, A. and Gautray, J-P-. Binding of steroids by proteins in follicular fluid of the human ovary, J.Clin. Endocrinol. Metab. 35: 443-47 (1981).
- Baird, D. T., Ovarian steroid secretion and metabolism in women. In: The Endocrine Function of the Human Ovary. Eds.: James, V.H:T., Serio, M. and Giusti, G. pp. 125-33, Academic Press, New York (1976).
- McNastty, K. P., Baird, D. T., Bolton, a., Chambers, P., Corker, C. S. and McLean, H., concentration of oestrogens and androgens in human ovarian venous plasma and follicular fluid throughout the menstrual cycle, J. Endocrinol. 71:77-85 (1976).

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

Уважаемый Клиент!

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

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

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

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



Russian Diagnostic
Manufacturers Association



Российская ассоциация
производителей средств лабораторной
диагностики



Russian Association
of Medical Laboratory
Diagnosticians



Российская ассоциация
медицинской лабораторной
диагностики

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;

03176, г. Киев, ул. Академика Ефремова, д. 23;

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com





Instruction for use



**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
НАБОРА РЕАГЕНТОВ
ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
ДЕГИДРОЭПИАНДРОСТЕРОН-СУЛЬФАТА
В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ**

«ДЭАС-ИФА»

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

DHEAS EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF K215**

ТУ № 9398-037-18619450-2007

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
№ ФСР 2008/02860 от 4 сентября 2013 года



For 96 determinations/На 96 определений



Для *in vitro* диагностики

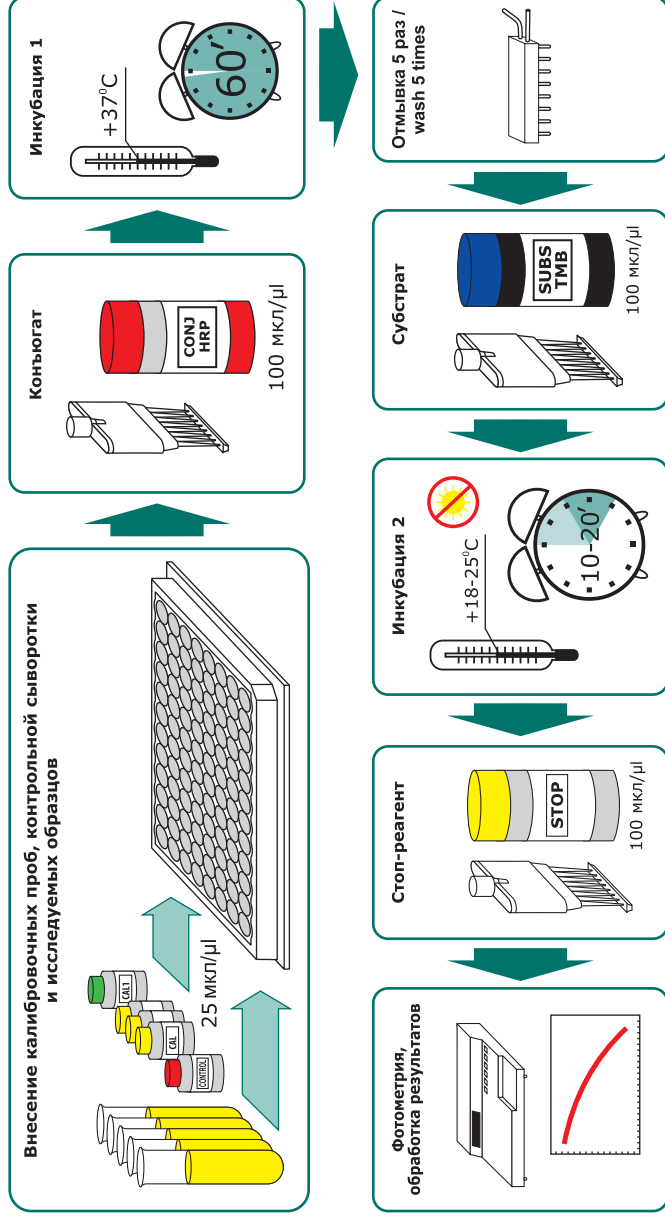


XEMA Co., Ltd.
The 9th Parkovaya str., 48
105264 Moscow, Russia
Tel./fax: +7(495) 510-57-07
e-mail: redkin@xema-medica.com
internet: www.xema-medica.com



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

Схема проведения анализа / Test procedure



K210, K214, K215

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 ДЕГИДРОЭПИАНДРОСТЕРОН-СУЛЬФАТА В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «ДЭАС-ИФА»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «ДЭАС-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации дегидроэпиандростерон-сульфата в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Дегидроэпиандростерон – андроген с молекулярной массой 288,4 дальтон, секретирующийся в пучковой и сетчатой зонах надпочечников. В организме человека он присутствует в основном в виде сульфатного производного – дегидроэпиандростерон-сульфата (ДЭАС). Начиная с рождения, концентрация ДЭАС в плазме постепенно повышается, затем резко возрастает после пубертатного периода, достигая максимума к 20 годам, а после этого снижается. Поскольку ДЭАС является основным компонентом 17-кетостероидов (17-КС) в сыворотке, этот тест может заменить устаревшие методы определения 17-КС в моче. Повышение уровня ДЭАС отмечено при аденогенитальном синдроме, гирсутизме, акне, поликистозе яичников, врожденной гиперплазии и опухолях коры надпочечников, болезни Кушинга, синдроме Штейна-Левентала. Понижение концентрации ДЭАС происходит с возрастом у мужчин и женщин, а также отмечается при гиперлипидемии, психозе, псориазе, недостаточности коры надпочечников.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение дегидроэпиандростерон-сульфата основано на использовании конкурентного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы кроличьи поликлональные антитела к ДЭАС. Дегидроэпиандростерон-сульфат из образца конкурирует с конъюгированным ДЭАС 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 дегидроэпиандростерон-сульфата в исследуемом образце. Концентрацию дегидроэпиандростерон-сульфата в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания дегидроэпиандростерон-сульфата в калибровочных пробах.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Перекрестная реакция кроличьих поликлональных антител к ДЭАС с другими анализитами приведена в таблице:

| Аналит | Перекрестная реакция, % |
|-----------------------------|-------------------------|
| ДЭАС | 100 |
| ДЭА | 50 |
| Другие родственные стероиды | <0.1 |

3.2. Воспроизводимость.

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

3.3. Линейность.

Зависимость концентрации ДЭАС в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей ДЭАС, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 0.1–10 мкг/мл и составляет $\pm 10.0\%$.

3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации ДЭАС предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 0.3 мкг/мл. Процент «открытия» составляет 90–110%.

3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «ДЭАС-ИФА» концентрация ДЭАС в сыворотке (плазме) крови не превышает 0.025 мкг/мл.

4. СОСТАВ НАБОРА

| Код компонента | Символ | Наименование | Кол-во | Ед. | Описание |
|----------------|--------------|---|--------|-----|---|
| 1 P215Z | SORB MTP | Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию | 1 | шт. | - |
| 2 C215Z | CAL 1-6 | Калибровочные пробы на основе сыворотки крови человека, содержащие известные количества дегидроэпиандростерон-сульфата – 0; 0.1; 0.3; 1; 3; 10 мкг/мл , готовы к использованию (по 0.8 мл каждая) | 6 | шт. | прозрачные жидкости синего цвета (калибровочная проба 0 – прозрачная бесцветная жидкость) |
| 3 Q215Z | CONTROL | Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием дегидроэпиандростерон-сульфата, готова к использованию (0.8 мл) | 1 | шт. | прозрачная бесцветная жидкость |
| 4 T215Z | CONJ HRP | Конъюгат , готов к использованию (14 мл) | 1 | шт. | прозрачная жидкость пурпурного цвета |
| 5 R055Z | SUBS TMB | Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) , готов к использованию (14 мл) | 1 | шт. | прозрачная бесцветная жидкость |
| 6 S008Z | BUF WASH 26X | Концентрат отмывочного раствора (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26x-кратный (22 мл) | 1 | шт. | прозрачная бесцветная жидкость |
| 7 R050Z | STOP | Стоп-реагент , готов к использованию (14 мл) | 1 | шт. | прозрачная бесцветная жидкость |
| 8 N003 | - | Бумага для заклеивания планшета | 2 | шт. | - |
| 9 K2151 | - | Инструкция по применению Набора реагентов «ДЭАС-ИФА» | 1 | шт. | - |
| 10 K215Q | - | Паспорт контроля качества Набора реагентов «ДЭАС-ИФА» | 1 | 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 ($+18\text{--}25\text{ }^{\circ}\text{C}$) 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 $+2\text{--}8\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 «ДЭАС-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 дегидроэпандростерон-сульфата 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 | 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 сыоротки (плазмы) крови. Внесение калибровочных проб, контрольной сыоротки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут. |
| 3 | Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата. |
| 4 | Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте его в течение 60 минут при температуре +37 °С. |
| 5 | По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз. При каждой отмывке добавьте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п. 7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок постукиванием планшета в перевернутом положении по фильтровальной бумаге. |
| 6 | Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина. Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2-3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18-25°С) в течение 10-20 минут в зависимости от степени развития развития синего окрашивания. |
| 7 | Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет. |
| 8 | Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм. Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра выставляйте по воздуху. |
| 9 | Постройте в полулогарифмических координатах калибровочный график: ось абсцисс (X) – десятичный логарифм концентрации ДЭАС в калибровочных пробах (мкг/мл), ось ординат (Y) – 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 мкг/мл к несущественно малой величине, например, 0.001 мкг/мл |
| 10 | Определите по калибровочному графику содержание ДЭАС 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 ДЭАС в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0.025 мкг/мл), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (10 мкг/мл) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация ДЭАС ниже 0.025 мкг/мл или выше 10 мкг/мл.

10.2. В Наборе «ДЭАС-ИФА» значения концентраций калибровочных проб выражены в мкг/мл. Для пересчета концентраций в мкмоль/л, полученное значение концентрации в мкг/мл следует умножить на 2.6.

$$1 \text{ мкг/мл} = 2.6 \text{ мкмоль/л}$$

| Исследуемая группа | Единицы, мкг/мл | | Единицы доп., мкмоль/л | |
|--------------------|-----------------|----------------|------------------------|----------------|
| | Нижний предел | Верхний предел | Нижний предел | Верхний предел |
| Мужчины | | | | |
| новорожденные | 1.08 | 4.06 | 2.81 | 10.56 |
| 1 месяц-5 лет | 0.01 | 0.41 | 0.03 | 1.07 |
| 6-9 лет | 0.03 | 1.45 | 0.07 | 3.77 |
| 10-11 лет | 0.12 | 1.15 | 0.31 | 2.99 |
| 12-17 лет | 0.2 | 5.55 | 0.52 | 14.43 |
| 18-30 лет | 1.25 | 6.19 | 3.25 | 16.09 |
| 31-50 лет | 0.59 | 4.52 | 1.53 | 11.75 |
| 51-60 лет | 0.2 | 4.13 | 0.52 | 10.74 |
| >61 года | 0.1 | 2.35 | 0.26 | 6.11 |
| Женщины | | | | |
| новорожденные | 0.1 | 2.48 | 0.26 | 6.45 |
| 1 месяц-5 лет | 0.05 | 0.55 | 0.13 | 1.43 |
| 6-9 лет | 0.03 | 1.4 | 0.07 | 3.64 |
| 10-11 лет | 0.15 | 2.6 | 0.39 | 6.76 |
| 12-17 лет | 0.2 | 5.35 | 0.52 | 13.91 |
| 18-30 лет | 0.29 | 7.81 | 0.75 | 20.31 |
| 31-60 лет | 0.12 | 3.79 | 0.31 | 9.85 |
| менопауза | 0.3 | 2.6 | 0.78 | 6.76 |
| Беременные: | | | | |
| 1-й триместр | 0.38 | 3.6 | 0.99 | 9.36 |
| 2-й триместр | 0.42 | 3.0 | 1.09 | 7.8 |
| 3-й триместр | 0.32 | 2.5 | 0.83 | 6.5 |

11. ЛИТЕРАТУРА

1. P. Tijssen, «Practice & Theory of Enzyme Immunoassays», (1985) Amsterdam: Elsevier.
2. E. Friess, et al., Eur J Clin Invest, (2000) 30 Suppl 3:46-50.
3. C. Longscope, J Endocrinology, (1996) 150 Suppl: S125-S127.
4. J. Herbert, Lancet, (1995) 345:1193-1194.
5. A. Michael, et al., Biol. Psychiatry, (2000) 48(10): 989-95.
6. C.R. Dequet and D.J. Wallace, Current Opin Invest Drugs, (2001) 8: 1045-53.
7. W.M. Jeffries., Med Hypotheses, (1998) 51(2):111-4.
8. National Committee for Clinical Laboratory Standards Evaluation Protocols, SC1, (1989) Villanova, PA: NCCLS.

По вопросам, касающимся качества Набора **«ДЭАС-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@hema.ru; rqc@hema.ru
интернет: www.hema.ru; www.hema-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 DEHYDROEPIANDROSTERONE SULFATE
IN HUMAN SERUM OR PLASMA**

1. INTENDED USE

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

This kit is designed for measurement of dehydroepiandrosterone sulfate 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

Dehydroepiandrosterone (DHEA) is an androgen with a MW of 288.4 Dalton secreted in adrenals. The main derivate of DHEA present in human tissue is DHEA sulfate (DHEAS). Since birth, DHEAS serum concentration is increasing continuously showing a pronounced peak after puberty and maximal levels at the age of 20. After that, serum DHEAS level continuously decreases. As DHEAS is the main component of 17-ketosteroids in serum, this test may substitute for column tests for determination of 17-ketosteroids in urine.

Elevated DHEAS concentrations are found in adrenogenital syndrome, hirsutism, acne, benign hyperplasia of adrenals and adrenal tumors, Stein-Leventhal syndrome, polycystic ovary syndrome.

Decreased levels of DHEAS are found in hyperlipidemia, psychotic states, psoriasis, adrenal insufficiency.

3. PRINCIPLE OF THE TEST

This test is based on competition enzyme immunoassay principle. Tested specimen is placed into the microwells coated by specific rabbit polyclonal to DHEAS-antibodies simultaneously with conjugated DHEAS-peroxidase. DHEAS from the specimen competes with the conjugated DHEAS 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% H₂SO₄. 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.

5.1. Contents of the Kit

5. KIT COMPONENTS

| Symbol | Description | Qty | Units | Colour code | Stability of opened/diluted components |
|--------|--|-----|-------|------------------------|---|
| 1 | DHEAS EIA strips, 8x12 wells | 1 | pcs | | until exp.date |
| 2 | polystyrene microwells coated with rabbit polyclonal to DHEAS | 6 | pcs | blue (CI – colourless) | 2 months |
| 3 | human dehydroepiandrosterone sulfate diluted in a preselected human serum preservative – 0.01 % Bronidox L, 0.01 % 2-Methyl-4-isothiazolin-3-one-hydrochloride; also contains blue dye | 1 | pcs | colourless | 2 months |
| 4 | Control serum (0.8 ml) | 1 | pcs | purple | until exp.date |
| 5 | Conjugate, 14 ml | 1 | pcs | colourless | until exp.date |
| 6 | Substrate solution, 14 ml | 1 | pcs | colourless | Concentrate – until exp.date Diluted washing solution – 45 days at 2-8 °C or 15 days at RT |
| 7 | aqueous solution of DHEAS coupled with horseradish peroxidase diluted on phosphate buffered solution preservative – 0.01 % Bronidox L, 0.01 % 2-Methyl-4-isothiazolin-3-one-hydrochloride and purple dye ready-to-use single-component tetramethylbenzidine (TMB) solution | 1 | pcs | colourless | until exp.date |
| 8 | aqueous solution of sodium chloride and detergent (Tween 20), contains proClin300 as a preservative | 1 | pcs | colourless | until exp.date |
| 9 | 5.0 % vol/vol solution of sulphuric acid | 2 | pcs | | N/A |
| 10 | Plate sealing tape | 1 | pcs | | N/A |
| 11 | Instruction DHEAS EIA | 1 | pcs | | N/A |
| 12 | QC data sheet DHEAS EIA | 1 | pcs | | N/A |

5.2. Equipment and material required but not provided

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

5.3. Storage and stability of the Kit

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

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

6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

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

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

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

- All reagents (including unsealed microstrips) should be allowed to reach room temperature (+18 to +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. Alternative units:

1 µg/ml = 2.6 µMol/l

7.5. 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. |

7.6. 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

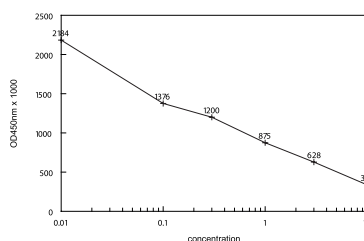
9.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

9.2. Plot a calibration curve on graph paper: OD versus dehydroepiandrosterone sulfate concentration.

9.3. Determine the corresponding concentration of dehydroepiandrosterone sulfate 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) x 1000 |
|-------------|-----------|----------------------------------|
| CAL 1 | 0 µg/ml | 2184 |
| CAL 2 | 0.1 µg/ml | 1376 |
| CAL 3 | 0.3 µg/ml | 1200 |
| CAL 4 | 1 µg/ml | 875 |
| CAL 5 | 3 µg/ml | 628 |
| CAL 6 | 10 µg/ml | 337 |



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 DHEAS. 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, µg/ml | | Units alternative, µMol/l | |
|-----------------|--------------|-------------|---------------------------|-------------|
| | Lower limit | Upper limit | Lower limit | Upper limit |
| Males | | | | |
| newborn | 1.08 | 4.06 | 2.81 | 10.56 |
| 1 month-5 yrs | 0.01 | 0.41 | 0.03 | 1.07 |
| 6-9 yrs | 0.03 | 1.45 | 0.07 | 3.77 |
| 10-11 yrs | 0.12 | 1.15 | 0.31 | 2.99 |
| 12-17 yrs | 0.2 | 5.55 | 0.52 | 14.43 |
| 18-30 yrs | 1.25 | 6.19 | 3.25 | 16.09 |
| 31-50 yrs | 0.59 | 4.52 | 1.53 | 11.75 |
| 51-60 yrs | 0.2 | 4.13 | 0.52 | 10.74 |
| >61 yr | 0.1 | 2.35 | 0.26 | 6.11 |
| Females | | | | |
| newborn | 0.1 | 2.48 | 0.26 | 6.45 |
| 1 month-5 yrs | 0.05 | 0.55 | 0.13 | 1.43 |
| 6-9 yrs | 0.03 | 1.4 | 0.07 | 3.64 |
| 10-11 yrs | 0.15 | 2.6 | 0.39 | 6.76 |
| 12-17 yrs | 0.2 | 5.35 | 0.52 | 13.91 |
| 18-30 yrs | 0.29 | 7.81 | 0.75 | 20.31 |
| 31-60 yrs | 0.12 | 3.79 | 0.31 | 9.85 |
| post menopausal | 0.3 | 2.6 | 0.78 | 6.76 |
| Pregnancy week: | | | | |
| 1st trimester | 0.38 | 3.6 | 0.99 | 9.36 |
| 2nd trimester | 0.42 | 3.0 | 1.09 | 7.8 |
| 3rd trimester | 0.32 | 2.5 | 0.83 | 6.5 |

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

| Analyte | Cross-reactivity, % wt/wt |
|----------------|---------------------------|
| DHEAS | 100 |
| DHEA | 50 |
| other steroids | <0.1 |

11.2. Analytical sensitivity

Sensitivity of the assay was assessed as being 0.025 µg/ml.

11.3. Linearity


















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

11.4. Recovery

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

12. LITERATURE

Look page 9.

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

Уважаемый Клиент!

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

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

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

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



Russian Diagnostic
Manufacturers Association



Ассоциация российских
производителей иммунохимических
реагентов и диагностики



Russian Association
of Medical Laboratory
Diagnosticians



Российская Ассоциация
Медицинских Лаборантов
Диагностики

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;

03176, г. Киев, ул. Академика Ефремова, д. 23;

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com





Instruction for use



**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ
ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
СВОБОДНОГО ТЕСТОСТЕРОНА В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ**

«СВТЕСТОСТЕРОН-ИФА»

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

free Testosterone EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF** **K219**

ТУ № 9398-219-18619450-2016

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
№ ФСР 2017/6050 от 04 августа 2017 г.



For 96 determinations/На 96 определений



ТОЛЬКО 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:

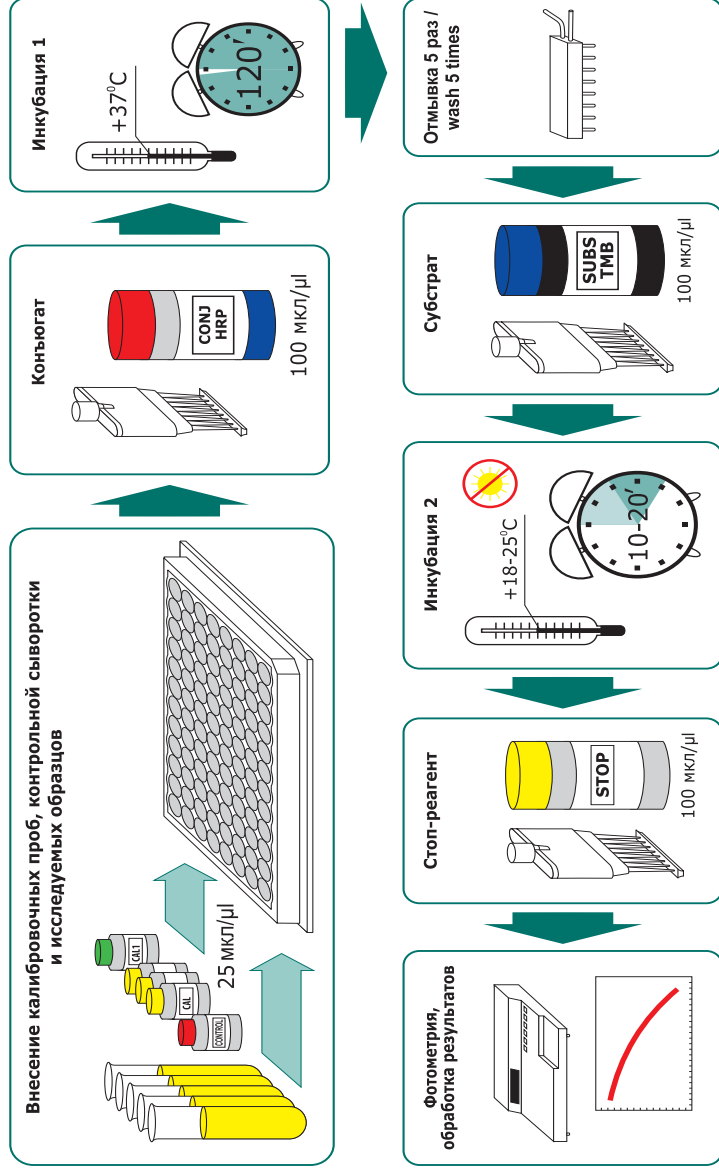
Polmed.de

Steinacker 20, D-73773

Aichwald, Germany

e-mail: info@polmed.de

Схема проведения анализа / Test procedure



K219

СОДЕРЖАНИЕ

| | |
|---|---|
| 1. НАЗНАЧЕНИЕ | 2 |
| 2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА | 2 |
| 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 | 9 |
| 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 | 16 |

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

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СВОБОДНОГО ТЕСТОСТЕРОНА В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «свТЕСТОСТЕРОН-ИФА»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

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

1.2. Тестостерон – стероид с молекулярной массой 288.4 Да. Основным местом образования тестостерона в семенниках являются клетки Лейдига (интерстициальная ткань). У женщин тестостерон синтезируется в надпочечниках, а контроль за его продукцией осуществляет лютеинизирующий гормон. Тестостерон стимулирует развитие мужских половых органов и вторичных половых признаков. Секреция тестостерона имеет определенный циркадный ритм. Наивысший уровень гормона отмечается в 6 часов утра, наименьший – в 20 часов. У женщин продукция тестостерона зависит от фазы менструального цикла: максимальное образование гормона происходит в лютеиновой фазе и в период овуляции.

Тестостерон свободный (Свободный тестостерон, Free testosterone) представляет собой фракцию тестостерона сыворотки крови не связанную ни с глобулином, связывающим половые гормоны (SHBG), ни с альбумином. Свободный тестостерон в количественном отношении составляет 2 – 3% от общего тестостерона. Биологически активным является только тестостерон свободный и связанный с альбумином («биологически доступный тестостерон»). Уровень «биологически доступного тестостерона» отражает количество функционально активного тестостерона в организме.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение тестостерона основано на использовании конкурентного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы антитела к свободному тестостерону. Тестостерон из образца конкурирует с конъюгированным тестостероном 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 обратнопропорциональна концентрации свободного тестостерона в исследуемом образце. Концентрацию свободного тестостерона в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания свободного тестостерона в калибровочных пробах.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Перекрестная реакция антител к тестостерону с другими анализатами приведена в таблице:

| Аналит | Перекрестная реакция, % |
|----------------------------|-------------------------|
| Тестостерон | 100 |
| 5-альфа-дегидротестостерон | 16 |
| Андростендиол | 1.0 |
| Андростендион | 0.4 |
| Андростерон | <0.1 |
| Дегидроэпиандростерон | <0.1 |
| Прогестерон | <0.1 |
| Эстрадиол, эстриол | <0.01 |
| Кортизол, прегненолон | <0.01 |

3.2. Воспроизводимость.

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

3.3. Линейность.

Зависимость концентрации свободного тестостерона в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей тестостерон, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 0.2-100 пг/мл и составляет $\pm 10.0\%$.

3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации тестостерона предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 1 пг/мл. Процент «открытия» составляет 90-110%.

3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «свТЕСТОСТЕРОН-ИФА» концентрация тестостерона в сыворотке (плазме) крови не превышает 0.06 пг/мл.

4. СОСТАВ НАБОРА

| Код компонента | Символ | Наименование | Кол-во | Ед. | Описание |
|----------------|--------|--|--------|-----|---|
| 1 | P219Z | Планшет 96-луночный полистироловый, стриптированный, готов к использованию | 1 | шт | |
| 2 | C219Z | Калибровочные пробы на основе сыворотки крови человека, содержащие известные количества свободного тестостерона - 0; 0.2; 1; 4; 20; 100 пг/мл , готовы к использованию (по 0.8 мл каждая) | 6 | шт | прозрачные жидкости красного цвета (калибровочная проба 0 - прозрачная бесцветная жидкость) |
| 3 | Q219Z | Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием свободного тестостерона, готова к использованию (по 0.8 мл каждая) | 1 | шт | прозрачная бесцветная жидкость |
| 4 | T219Z | Конъюгат, готов к использованию (14 мл) | 1 | шт | прозрачная жидкость синего цвета |
| 5 | R055Z | Раствор субстрата тетраметилбензидаина (ТМБ) готов к использованию (14 мл) | 1 | шт | прозрачная бесцветная жидкость |
| 6 | S008Z | Концентрат отмывочного раствора (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой) 26x-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 заклеивания планшета | 2 | шт | — |
| 9 | K219I | Инструкция по применению Набора реагентов «свТЕСТОСТЕРОН-ИФА» | 1 | шт | — |
| 10 | K219Q | Паспорт контроля качества Набора реагентов «свТЕСТОСТЕРОН-ИФА» | 1 | 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 $+37 \pm 0.1$ °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 «свТЕСТОСТЕРОН-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 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 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 тестостерона 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 | 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. Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут. |
| 3 | Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата. |
| 4 | Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте его в течение 120 минут при температуре +37 °С. |
| 5 | По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз. При каждой отмывке добавьте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п.7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок постукиванием планшета в перевернутом положении по фильтровальной бумаге. |
| 6 | Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина. Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2-3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °С) в течение 10-20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания. |
| 7 | Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента , при этом содержимое лунок окрашивается в яркий желтый цвет. |
| 8 | Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм. Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра выставьте по воздуху. |
| 9 | Постройте в полулогарифмических координатах калибровочный график: ось абсцисс (х) - десятичный логарифм концентрации тестостерона в калибровочных пробах (пг/мл), ось ординат (у) - оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма обчета (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод. Приравняйте концентрацию калибровочной пробы 0 пг/мл к несущественно малой величине, например, 0.001 пг/мл |
| 10 | Определите по калибровочному графику содержание свободного тестостерона 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 тестостерона в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0.06 пг/мл), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (100 пг/мл) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация тестостерона ниже 0.06 пг/мл или выше 100 пг/мл.

| Исследуемая группа | Единицы, пг/мл | |
|--------------------------|----------------|----------------|
| | Нижний предел | Верхний предел |
| Мужчины | 4.5 | 42 |
| Женщины | - | 4.1 |
| Женщины постменопауза | 0.1 | 4.7 |

11. ЛИТЕРАТУРА

1. Tietz, N.W. Textbook of Clinical Chemistry. Saunders, 1986.
2. Joshi, U. M., et al. Steroids 34 (1) 35 (1979)
3. Turkes, A., et al. J Endocrinol. 81 (2) P165 (1979)
4. Ismail, A. A., Niswender, G. D. Midgley, A. R. J. Clin. Endocr. Metab. 34, 177 - 184 (1972)
5. Rajkowski, K. M., Cittanova N., Desfosses, B. and Jayle, M.F. Steroids 29 no 5 1977
6. Widsdom G. B. Clin. Chem. 22/8, 1243 - 1255 (1976)

По вопросам, касающимся качества Набора «**свТЕСТОСТЕРОН-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;
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 testosterone in human blood serum or plasma

1. INTENDED USE

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

This kit is designed for measurement of free testosterone 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

Testosterone is a steroid with a MW of 288.4 Dalton. The main sites of testosterone secretion are Leydig cells in interstitial tissue of testicles in men. In women testosterone is secreted in the adrenals and is controlled by luteinizing hormone. Testosterone stimulates development of male genital organs and formation of secondary sexual features.

In males, testosterone secretion undergoes circadian rhythms with maximal concentrations seen in the morning (6 am) and minimal – in the evening (8 pm). In females, testosterone secretion is regulated by menstrual cycle with maximal levels found in luteinic phase and during ovulation.

Testosterone circulates in the blood bound to three proteins: sex hormone binding globulin (60-80%), albumin and cortisol binding globulin. Only about 1-2% of the total circulating testosterone remains unbound or free. Even though it is still under investigation, most researchers accept the free testosterone determination as a measure of the biologically recommended to overcome the influences caused by variations in transport proteins on the total testosterone concentration.

3. PRINCIPLE OF THE TEST

This test is based on competition enzyme immunoassay principle. Tested specimen is placed into the microwells coated by specific to free testosterone-antibodies simultaneously with conjugated Testosterone-peroxidase. Free testosterone from the specimen competes with the conjugated testosterone 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% H₂SO₄. 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.

5.1. Contents of the Kit

5. KIT COMPONENTS

| Symbol | Description | Qty | Units | Colour code | Stability of opened/diluted components* |
|----------------|---|-----|-------|----------------------|---|
| 1 SORB MTP | Free testosterone EIA strips, 8x12 wells | 1 | pcs | | until exp.date |
| 2 CAL 1 - 6 | Calibrator set, 0.8 ml each. The set contains 6 calibrators: 0;0.2; 1; 4; 20; 100 pg/ml | 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 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 K209I | Instruction Free testosterone EIA | 1 | pcs | | N/A |
| 10 K209Q | QC data sheet Free testosterone EIA | 1 | pcs | | N/A |

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 $^{\circ}\text{C} \pm 0.1$ $^{\circ}\text{C}$;
- Calibrated microplate photometer with 450 nm wavelength and OD measuring range 0-3.0.

5.2. Storage and stability of the Kit

Store the whole kit at 2 to 8 $^{\circ}\text{C}$ 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 $^{\circ}\text{C}$ before testing. For a longer storage, the specimens should be frozen at -20 $^{\circ}\text{C}$ 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 to +25 $^{\circ}\text{C}$) 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.

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

7.3. 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 120 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. |

7.4. 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

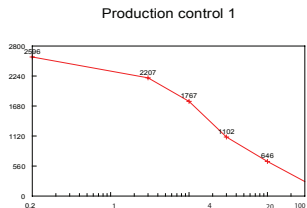
9.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

9.2. Plot a calibration curve on graph paper: OD versus free testosterone concentration.

9.3. Determine the corresponding concentration of free testosterone 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 | AbsorbanceUnits (450 nm) x 1000 |
|-------------|-----------|------------------------------------|
| CAL 1 | 0 pg/ml | 2.596 |
| CAL 2 | 0.2 pg/ml | 2.207 |
| CAL 3 | 1 pg/ml | 1.767 |
| CAL 4 | 4 pg/ml | 1.102 |
| CAL 5 | 20 pg/ml | 0.646 |
| CAL 6 | 100 pg/ml | 0.271 |



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 Testosterone. Based on data obtained by XEMA, the following normal range is recommended (see below).

| Sex, age | Units, pg/ml | |
|-------------------------|--------------|-------------|
| | Lower limit | Upper limit |
| Males | 4.5 | 42 |
| Females | - | 4.1 |
| Females post menopausal | 0.1 | 4.7 |

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

| Analyte | Cross-reactivity, % wt/wt |
|-----------------------------|---------------------------|
| Testosterone | 100 |
| 5-alpha-dehydrotestosterone | 16 |
| Androstendiol | 1.0 |
| Androstendione | 0.4 |
| Androsterone | <0.1 |
| Dehydroepiandrosterone | <0.1 |
| Progesterone | <0.1 |
| Estradiol, Estriol | <0.01 |
| Cortisol, Pregnenolone | <0.01 |

11.2. Analytical sensitivity

Sensitivity of the assay was assessed as being 0.06 pg/ml.

11.3. Linearity


















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

11.4. Recovery

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

12. LITERATURE

1. Tietz, N.W. Textbook of Clinical Chemistry. Saunders, 1986.
2. Joshi, U. M., et al. Steroids 34 (1) 35 (1979)
3. Turkes, A., et al. J Endocrinol. 81 (2) P165 (1979)
4. Ismail, A. A., Niswender, G. D. Midgley, A. R. J. Clin. Endocr. Metab. 34, 177 - 184 (1972)
5. Rajkowski, K. M., Cittanova N., Desfosses, B. and Jayle, M.F. Steroids 29 no 5 1977
6. Widsdom G. B. Clin. Chem. 22/8, 1243 - 1255 (1976)

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

Уважаемый Клиент!

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

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

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

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



Russian Diagnostic
Manufacturers Association



Российская ассоциация
производителей средств медицинской
лабораторной диагностики



Russian Association
of Medical Laboratory
Diagnosticians



Российская ассоциация
медицинской лабораторной
диагностики

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;

03176, г. Киев, ул. Академика Ефремова, д. 23;

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com





Instruction for use



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

«общий ПСА-ИФА»

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

tPSA EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF** **K221**

ТУ 9398-221-18619450-2011

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
№ ФСР 2011/11007 от 20 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

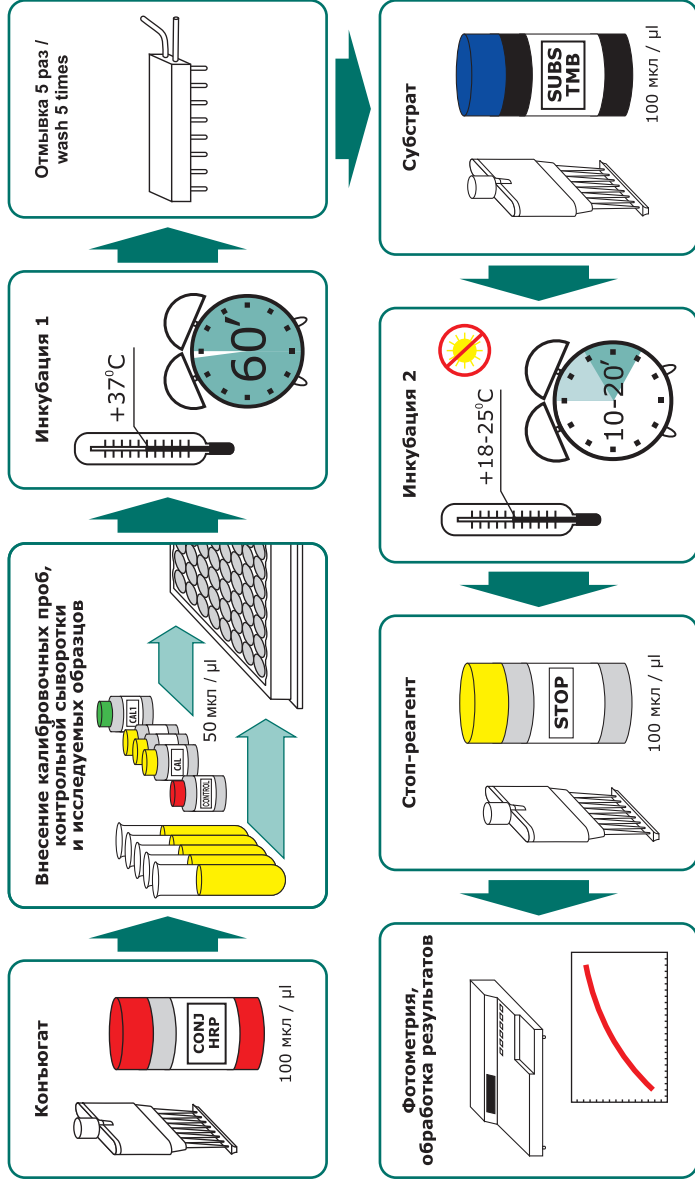


Для *in vitro* диагностики



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

Схема проведения анализа / Test procedure



K201 ; K202; K203; K204; K205; K206; 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 | 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 | 16 |
| 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 ОБЩЕГО ПРОСТАТАСПЕЦИФИЧЕСКОГО АНТИГЕНА В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «общий ПСА-ИФА»

Рекомендована к утверждению Научно-экспертным Советом по медицинским изделиям.

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «общий ПСА-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации общего ПСА в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Простатаспецифический антиген (ПСА) – гликопротеин с молекулярной массой 34 кДа, состоящий из одной полипептидной цепи, был обнаружен в эпителиальных клетках нормальной простаты. Его концентрация в крови повышается при доброкачественной гиперплазии и злокачественном перерождении ткани простаты, а также при метастатическом раке простаты. ПСА является сериновой протеазой из семейства калликреинов, его точное название по энзимологической классификации – прекалликреин 3. Высокие концентрации ПСА наблюдаются в молочной железе при лактации и грудном молоке, поэтому данный белок нельзя считать строго специфичным для простаты. В сыворотке крови ПСА находится преимущественно в комплексе с антипротеазами – анти-химотрипсином, альфа-2-макроглобулином и антитрипсином. Часть ПСА (свободный ПСА) находится вне этих комплексов. Пара антител, используемых в данной тест-системе (PS2-PS6), равномерно (эквивалентно) распознает обе формы ПСА – свободную и связанную, что подтверждено результатами независимых исследований в Университете Турку, Финляндия. У больных аденокарциномой простаты определяется повышение концентрации ПСА даже на ранних стадиях болезни. У больных с выраженным заболеванием отмечена концентрация ПСА 1000 нг/мл и выше. Клиническая значимость данного определения заключается в возможности контроля и прогноза прогрессирования заболевания. Нарастающее или устойчивое повышение концентрации ПСА, свидетельствуют об опухолевой прогрессии и неэффективности терапии. Интерпретацию данных необходимо проводить с учетом других клинических данных. Важную дополнительную информацию для дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных заболеваний простаты позволяет получить определение соотношения свПСА/обПСА. При этом необходимо учитывать возраст пациента и анамнез: так, у мужчин до 60 лет соотношение рекомендуется определять при уровне обПСА выше 4 нг/мл; при этом следует иметь в виду, что существенное – выше 15 нг/мл – повышение уровня обПСА может наблюдаться не только при злокачественном перерождении ткани простаты, но и при простатите и массаже

предстательной железы (по данным ООО «ХЕМА» – до 20 нг/мл и до 80 нг/мл соответственно), а также при эякуляции накануне исследования. У мужчин старше 60 лет, когда доброкачественная гиперплазия наблюдается практически у всех, уровень ПСА до 7 нг/мл целесообразно рассматривать как нормальный, и соотношение свПСА/ПСА определять, начиная с 7 нг/мл. Внимание: при определении соотношения необходимо пользоваться наборами одной фирмы! Данный набор предназначен для использования с набором «свПСА-ИФА» ООО «ХЕМА», кат. № К231.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение общего ПСА основано на использовании «сэндвич»-варианта твердофазного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы мышинные моноклональные антитела к общему ПСА человека. В лунках планшета, при добавлении исследуемого образца, происходит связывание общего ПСА, содержащегося в исследуемом образце, с антителами на твердой фазе. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата мышинных моноклональных антител к общему ПСА 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 общего ПСА в исследуемом образце. Концентрацию общего ПСА в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания общего ПСА в калибровочных пробах.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Оба мышинных моноклональных антитела, использованные в данном Наборе, демонстрируют эквимоллярное взаимодействие, как со свободным ПСА так и с ПСА-АХТ комплексом.

3.2. Воспроизводимость.

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

3.3. Линейность.

Зависимость концентрации общего ПСА в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей общий ПСА, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 1.5–30 нг/мл и составляет ± 10.0 %.

3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации общего ПСА предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 5.0 нг/мл. Процент «открытия» составляет 90–110 %.

3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «общий ПСА-ИФА» концентрация общего ПСА в сыворотке (плазме) крови не превышает 0.005 нг/мл.

4. СОСТАВ НАБОРА

| Код компонента | Символ | Наименование | Кол-во | Ед. | Описание |
|----------------|--------------|--|--------|-----|---|
| 1 P221Z | SORB MTP | Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию | 1 | шт. | - |
| 2 C221Z | CAL 1-5 | Калибровочные пробы на основе трис-буфера (pH 7,2-7,4), содержащие известные количества общего ПСА – 0; 1,5; 5; 10; 30 нг/мл , готовы к использованию (калибровочная проба 0 нг/мл – 6 мл, остальные – по 0,8 мл каждая) | 5 | шт. | прозрачные жидкости красного цвета (калибровочная проба 0 – прозрачная бесцветная жидкость) |
| 3 Q221Z | CONTROL | Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием общего ПСА, готова к использованию (0,8 мл) | 1 | шт. | прозрачная бесцветная жидкость |
| 4 T221Z | CONJ HRP | Конъюгат , готов к использованию (14 мл) | 1 | шт. | прозрачная красная жидкость |
| 5 R055Z | SUBS TMB | Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), готов к использованию (14 мл) | 1 | шт. | прозрачная бесцветная жидкость |
| 6 S008Z | BUF WASH 26X | Концентрат отмывочного раствора (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26x-кратный (22 мл) | 1 | шт. | прозрачная бесцветная жидкость |
| 7 R050Z | STOP | Стоп-реагент , готов к использованию (14 мл) | 1 | шт. | прозрачная бесцветная жидкость |
| 8 N003 | - | Бумага для заклеивания планшета | 2 | шт. | - |
| 9 K221I | - | Инструкция по применению Набора реагентов «общий ПСА-ИФА» | 1 | шт. | - |
| 10 K221Q | - | Паспорт контроля качества Набора реагентов «общий ПСА-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 - 5 | 5 комплектов (С1 – 6 мл, С2-С5, по 0.8 мл); или 30 мл С1 и по 4 мл С2-С5 |
| 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 °С ±0.1 °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 «общий ПСА-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 42 исследуемых образцов, 5 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 общего ПСА 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 12 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки. |
| 2 | Если предполагается концентрация общего ПСА в исследуемом образце превышает 30 нг/мл, его следует дополнительно развести, используя калибровочную пробу 0. Использование других буферов и реагентов для разбавления образцов может исказить результаты определения! Примечание. Для получения надежных результатов рекомендуется использовать несколько последовательных разведений исследуемого образца сыворотки (плазмы) крови. |
| 3 | Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата. |
| 4 | Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 50 мкл калибровочной пробы и контрольной сыворотки. В остальные лунки внесите в дубликатах по 50 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови. Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут. |
| 5 | Заклейте планшет бумагой для закрепления планшета и инкубируйте его в течение 60 минут при температуре +37 °С. |
| 6 | По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз. При каждой отмывке добавьте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п. 7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок постукиванием планшета в перевернутом положении по фильтровальной бумаге. |
| 7 | Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина. Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2–3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °С) в течение 10–20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания. |
| 8 | Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет. |
| 9 | Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм. Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра представляйте по калибровочной пробе С1. |
| 10 | Постройте в линейных координатах калибровочный график: ось абсцисс (x) – концентрация общего ПСА в калибровочных пробах (нг/мл), ось ординат (y) – оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма обседа (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод. |
| 11 | Определите по калибровочному графику содержание общего ПСА в исследуемых образцах. Если исследуемый образец преобразовали (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 общего ПСА в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0.005 нг/мл), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (30 нг/мл) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация общего ПСА ниже 0.005 нг/мл или выше 30 нг/мл.

| Исследуемая группа | Единицы, нг/мл | |
|--------------------|----------------|----------------|
| | Нижний предел | Верхний предел |
| Мужчины | | |
| <40 лет | - | 4.0 |
| 41-60 лет | - | 5.5 |
| >61 года | - | 7.0 |
| Женщины | - | 0.45 |

11. ЛИТЕРАТУРА

1. Oesterling JE Prostate-specific antigen: a critical assessment of the most useful tumor marker fro adenocarcinoma of the prostate. J Urol 1991; 145: 907-23.
2. Oesterling JE et al.. Serum prostate-specific antigen in a community-based population of healthy men: establishment of age-specific reference ranges. JAMA 1993; 270:860.
3. Catalona WJ et al. Measurement of prostate-specific antigen in serum as a screening test for prostate cancer. N Eng J Med 1991, 324: 1156-61.
4. Christensson A et al. Serum prostate-specific antigen complexed to a1-antichymotrypsin as an indicator of prostate cancer. J Urology 1993; 150: 100-5.
5. Milfor Ward A et al. Free/total PSA ratio as an aid to the diagnosis of prostatic carcinoma. Clin Chem 1995; 41:S230.
6. Wu JT. Assay for prostate specific antigen (PSA): problems and possible solutions. J Clin Lab Analysis 1994; 8:51-62.

По вопросам, касающимся качества Набора **«общий ПСА-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 TOTAL PSA IN HUMAN SERUM OR PLASMA

1. INTENDED USE

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

This kit is designed for measurement of total PSA 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 42 unknown samples in duplicates.

2. SUMMARY AND EXPLANATION

Prostate specific antigen (PSA) is a serin-like protease with molecular weight ca. 34 kDa and was initially found exclusively in normal prostatic gland as well as in prostatic fluid and seminal plasma. Later it was localized also in breast milk and, according to its enzymological properties, was classified as human prekallikrein 3. In human serum, most of PSA forms complexes with serine protease inhibitor proteins (mostly alpha-1-antichymotrypsin, alpha-2-macroglobulin and antithrypsin). A minor proportion of PSA (free PSA) is circulating outside these complexes.

Elevated serum PSA levels are found in patients with prostatic adenocarcinoma even at early stages of the disease. Values of 1000 ng/ml and even more may be found in patients with profound disease. Clinical value of this parameter is due to possibility of clinical monitoring and prognosis of the disease. Continuous elevation of PSA level is indicative of tumour progression and ineffective therapy. Nevertheless, interpretation of the results obtained should be made in the context of other clinical data. According to data obtained in University of Turku, Finland, the pair of monoclonal antibodies used in present test system (PS2-PS6), recognizes both free and complex-bound forms of PSA with equal affinity (equimolar binding).

Elevations of serum PSA levels are characteristic to prostatic hyperplasia, inflammation and tumours. Serum PSA level can be used for monitoring and treatment control of all diseases involving prostatic tissue, especially prostatic tumours.

Additional information valuable for differential diagnosis between benign and malignant prostate hyperplasia may be obtained by estimation of free PSA/total PSA ratio. In this case, age and case history of patients should be considered: that is, free PSA/total PSA ratio in patients under 60 years is to be estimated if total PSA level is above 4 ng/ml while in males over 60 years when benign prostatic hyperplasia is common this ratio is rational to be estimated when total PSA level is above 7 ng/ml. Besides, it should be kept in mind that significant elevation of total PSA level may be found in patients with prostatitis as well as after massage of prostatic gland and the next day after ejaculation (according to XEMA data, up to 20 ng/ml and 80 ng/ml, respectively).

Please, note, that free PSA/total PSA ratio should be estimated using EIA kits of the same manufacturer. This kit is intended for use with XEMA fPSA EIA, Cat.# K231.

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 human total PSA-antibodies. Antigen from the specimen is captured by the antibodies coated onto the microwell surface. Second antibodies – murine monoclonal to human total PSA, 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 % H₂SO₄. 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.

5.1. Contents of the Kit

5. KIT COMPONENTS

| Symbol | Description | Qty | Units | Colour code | Stability of opened/diluted components |
|----------------|---|-----|-------|-----------------------|--|
| 1 SORB MTP | tpsA EIA strips, 8x12 wells | 1 | pcs | | until exp. date |
| 2 CAL 1-5 | polystyrene microwells coated with murine monoclonal to human total PSA human total PSA diluted in tris buffered BSA solution, preservative – 0.01 % Bronidox L, 0.01 % 2-Methyl-4-isothiazolin-3-one-hydrochloride; also contains red dye | 5 | pcs | red (C1 – colourless) | 2 months |
| 3 CONTROL | dilution of preselected human serum, with high content of total PSA with BSA solution; preservative – 0.01 % Bronidox L, 0.01 % 2-Methyl-4-isothiazolin-3-one-hydrochloride, colourless | 1 | pcs | colourless | 2 months |
| 4 CONJ HRP | aqueous solution of murine monoclonal to human total PSA coupled with horseradish peroxidase diluted on phosphate buffered solution with casein from bovine milk and detergent (Tween-20), contains 0.1 % phenol as preservative and red dye | 1 | pcs | red | until exp. date |
| 5 SUBS TMB | ready-to-use single-component tetramethylbenzidine (TMB) solution. | 1 | pcs | colourless | until exp. date |
| 6 BUF WASH 26X | aqueous solution of sodium chloride and detergent (Tween 20), contains proClim300 as a preservative | 1 | pcs | colourless | Concentrate – until exp. date Diluted washing solution – 45 days at 2-8 °C or 15 days at RT |
| 7 STOP | 5.0 % vol/vol solution of sulphuric acid | 1 | pcs | colourless | until exp. date |
| 8 N003 | Plate sealing tape | 2 | pcs | | N/A |
| 9 K221I | Instruction tpsA EIA | 1 | pcs | | N/A |
| 10 K221Q | QC data sheet tpsA EIA | 1 | pcs | | N/A |

5.2. Equipment and material required but not provided

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

5.3. Storage and stability of the Kit

Store the whole kit at +2...+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 to +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 12 wells for the calibrators CAL 1-5 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 1-5, 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

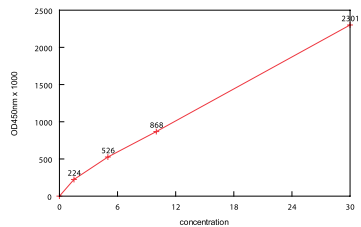
9.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

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

9.3. Determine the corresponding concentration of total PSA 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 ng/ml | 0.04 |
| CAL 2 | 1.5 ng/ml | 0.27 |
| CAL 3 | 5 ng/ml | 0.57 |
| CAL 4 | 10 ng/ml | 0.91 |
| CAL 5 | 30 ng/ml | 2.34 |



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 tPSA. 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, ng/ml | |
|-----------|--------------|-------------|
| | Lower limit | Upper limit |
| Males | | |
| <40 yrs | - | 4.0 |
| 41-60 yrs | - | 5.5 |
| >61 yr | - | 7.0 |
| Females | - | 0.45 |

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

The pair of monoclonal antibodies used in present test system (PS2-PS6), recognizes both free and complex-bound forms of PSA with equal affinity (equimolar binding).


















11.2. Analytical sensitivity. Sensitivity of the assay was assessed as being 0.005 ng/ml.

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

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

12. LITERATURE

- Oesterling JE Prostate-specific antigen: a critical assessment of the most useful tumor marker for adenocarcinoma of the prostate. J Urol 1991; 145: 907-23.
- Oesterling JE et al.. Serum prostate-specific antigen in a community-based population of healthy men: establishment of age-specific reference ranges. JAMA 1993; 270:860.
- Catalona WJ et al. Measurement of prostate-specific antigen in serum as a screening test for prostate cancer. N Eng J Med 1991, 324: 1156-61.
- Christensson A et al. Serum prostate-specific antigen complexed to a1-antichymotrypsin as an indicator of prostate cancer. J Urology 1993; 150: 100-5.
- Milfor Ward A et al. Free/total PSA ratio as an aid to the diagnosis of prostatic carcinoma. Clin Chem 1995; 41:S230.
- Wu JT. Assay for prostate specific antigen (PSA): problems and possible solutions. J Clin Lab Analysis 1994; 8:51-62.

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

Уважаемый Клиент!

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

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

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

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



Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

8 800 505 23 45

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

Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

105043, г. Москва, а/я 58

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





Instruction for use



**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ
ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
СВОБОДНОГО ПСА В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ**

«сВПСА-ИФА»

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

fPSA EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ REF **K231**

ТУ № 9398-231-18619450-2011

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
№ ФСР 2011/11008 от 09 июня 2011 г.



For 96 determinations/На 96 определений

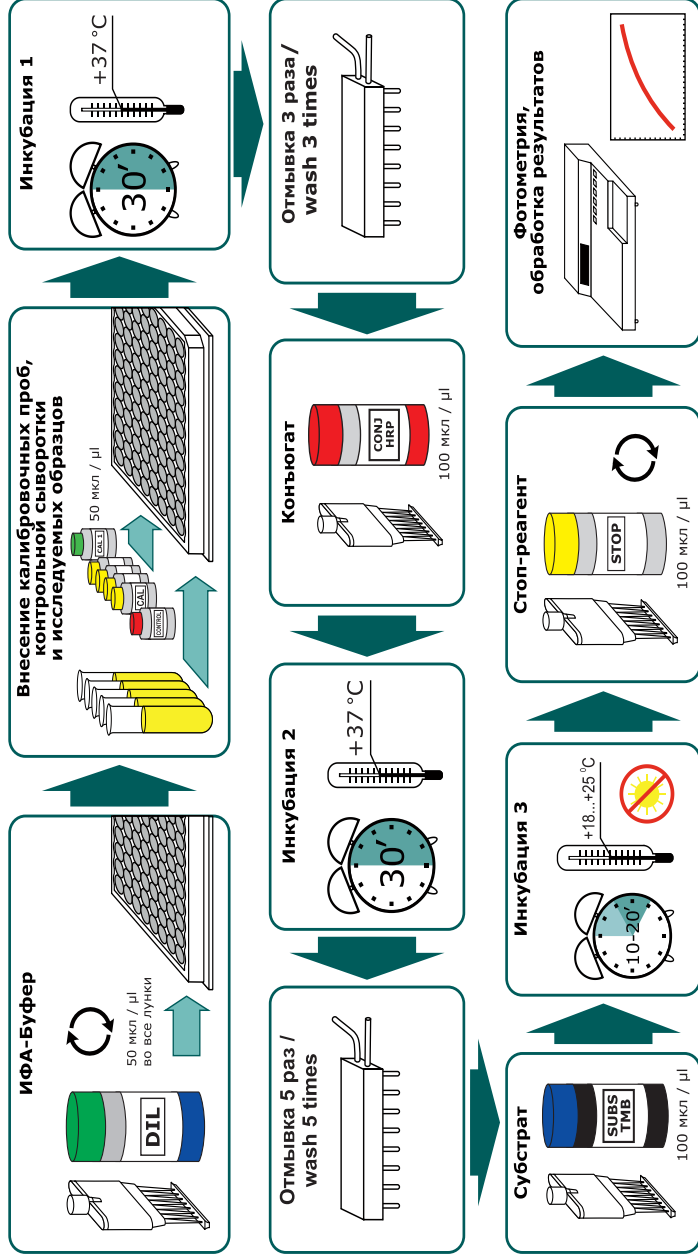


Для *ин витро* диагностики



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

Схема проведения анализа / Test procedure



K200, K223, K231

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 | 14 |
| 11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS | 15 |
| 12. LITERATURE | 15 |

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

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СВОБОДНОГО ПСА В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «свПСА-ИФА»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

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

1.2. Простата-специфический антиген (ПСА) – гликопротеин с молекулярной массой 34000 Да, состоящий из одной полипептидной цепи, был обнаружен в эпителиальных клетках нормальной простаты, при доброкачественной гиперплазии и злокачественном перерождении ткани простаты, а также при метастатическом раке простаты. ПСА является сериновой протеазой из семейства калликреинов, его точное название по энзимологической классификации – прекалликреин 3. Высокие концентрации ПСА наблюдаются в молочной железе при лактации и грудном молоке, поэтому данный белок нельзя считать строго специфичным для простаты. В сыворотке крови ПСА находится преимущественно в комплексе с антипротеазами – анти-химотрипсином, альфа-2-макроглобулином и антитрипсином. Часть ПСА (свободный ПСА, свПСА) находится вне этих комплексов, сумму свПСА и связанной формы ПСА можно назвать «общий ПСА» (обПСА). В данной тест-системе для «захвата» используются моноклональные антитела PS2, равномерно (эквивалентно) распознающие обе формы ПСА – свободную и связанную. Для «проявления» свПСА используются специфичные для этой формы моноклональные антитела PS1. Свойства обоих антител подтверждены результатами независимых исследований в Университете Турку, Финляндия. Исследования последних лет показали, что величина соотношения свПСА/обПСА дает дополнительную диагностическую информацию по сравнению с определением уровня обПСА. Это соотношение выше в случаях доброкачественной гиперплазии и ниже – при злокачественных заболеваниях простаты. У мужчин с уровнем обПСА в диапазоне 4-10 нг/мл определение соотношения позволяет получить важную дополнительную информацию для дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных заболеваний простаты.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение свободного ПСА основано на использовании «сэндвич»-варианта твердофазного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы мышинные моноклональные антитела к общему ПСА человека. В лунках планшета, при добавлении исследуемого образца, происходит связывание свПСА, содержащегося в исследуемом образце, с антителами на твердой фазе. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата мышинных моноклональных антител к свПСА 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 свободного ПСА в исследуемом образце. Концентрацию свободного ПСА в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания свободного ПСА в калибровочных пробах.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Не обнаружено перекрестной реакции мышинных моноклональных антител к ПСА (PS1) с ПСА-АХТ комплексом.

3.2. Воспроизводимость.

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

3.3. Линейность.

Зависимость концентрации свПСА в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей свПСА, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 0.25–5 нг/мл и составляет $\pm 10.0\%$.

3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации свПСА предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 0.75 нг/мл. Процент «открытия» составляет 90–110%.

3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «свПСА-ИФА» концентрация свПСА в сыворотке (плазме) крови не превышает 0.0035 нг/мл.

4. СОСТАВ НАБОРА

| Код компонента | Символ | Наименование | Кол-во | Ед. | Описание |
|----------------|--------------|--|--------|-----|---|
| 1 P221Z | SORB MTP | Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию | 1 | шт. | - |
| 2 C231Z | CAL 1-5 | Калибровочные пробы на основе трис-буфера (pH 7.2-7.4), содержащие известные количества свободного ПСА – 0; 0.25; 0.75; 2.5; 5 нг/мл , готовы к использованию (по 0.8 мл каждая) | 5 | шт. | прозрачные жидкости синего цвета (калибровочная проба 0 – прозрачная бесцветная жидкость) |
| 3 Q231Z | CONTROL | Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием свободного ПСА, готова к использованию (0.8 мл) | 1 | шт. | прозрачная бесцветная жидкость |
| 4 T231Z | CONJ HRP | Конъюгат , готов к использованию (14 мл) | 1 | шт. | прозрачная жидкость пурпурного цвета |
| 5 S011Z | DIL | ИФА-Буфер , готов к использованию (14 мл) | 1 | шт | прозрачная жидкость синего цвета |
| 6 R055Z | SUBS TMB | Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) , готов к использованию (14 мл) | 1 | шт. | прозрачная бесцветная жидкость |
| 7 S008Z | BUF WASH 26X | Концентрат отмывочного раствора (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26x-кратный (22 мл) | 1 | шт. | прозрачная бесцветная жидкость |
| 8 R050Z | STOP | Стоп-реагент , готов к использованию (14 мл) | 1 | шт. | прозрачная бесцветная жидкость |
| 9 N003 | - | Бумага для заклеивания планшета | 2 | шт. | - |
| 10 K231I | - | Инструкция по применению Набора реагентов «свПСА-ИФА» | 1 | шт. | - |
| 11 K231Q | | Паспорт контроля качества Набора реагентов «свПСА-ИФА» | 1 | 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 «свПСА-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 42 исследуемых образцов, 5 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;
- ИФА-Буфер, 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 свободного ПСА 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 12 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки. |
| 2 | Внесите во все лунки планшета по 50 мкл ИФА-Буфера. |
| 3 | Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 50 мкл калибровочной пробы и контрольной сыворотки. В остальные лунки внесите в дубликатах по 50 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови. Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут. |
| 4 | Аккуратно перемешайте содержимое планшета круговыми движениями по горизонтальной поверхности, закройте планшет бумагой для заклеивания планшета. Инкубируйте планшет в течение 30 минут при температуре +37 °С. |
| 5 | По окончании инкубации удалите содержимое лунки аспирацией (например, с помощью водоструйного насоса) или декантированием и отмойте лунки 3 раза. 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. |
| 6 | Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата. |
| 7 | Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте его в течение 30 минут при температуре +37 °С. |
| 8 | По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз. |
| 9 | Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина. Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2–3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25°C) в течение 10–20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания. |
| 10 | Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реакента , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет. |
| 11 | Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм. Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реакента. Бланк фотометра выставляйте по калибровочной пробе С1. |
| 12 | Постройте в линейных координатах калибровочных график: ось абсцисс (х) – концентрация свПСА в калибровочных пробах (нг/мл), ось ординат (у) – оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма обчета (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод. |
| 13 | Определите по калибровочному графику содержание свПСА 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. Определение соотношения свПСА/обПСА следует проводить на Наборах одной фирмы-производителя.

**Соотношение свПСА/общий ПСА, % (Набор «обПСА-ИФА» ООО «ХЕМА» кат№ K221)
Применять только при значениях обПСА более 4.0 нг/мл!**

| | |
|-----------------------------|-------|
| Доброкачественные состояния | >10.0 |
| Аденокарцинома простаты | <10.0 |

11. ЛИТЕРАТУРА

1. Christensson A, Bjork T, Nilsson O, et al. Serum Prostate Specific Antigen Complexed to α 1-Antichymotrypsin As An Indicator of Prostate Cancer. J. of Urol. 150:100-105; 1993.
2. Lilja H, Christensson A, Dahlen U, et al. Prostate-specific antigen in serum occurs predominantly in complex with α -1-antichymotrypsin. Clin Chem 37:1618-1625, 1991.
3. Stenman U-H, Leinonen J, Alfthan H, Rannikko S, Tuhkanen K, Alfthan O. A complex between prostate-specific antigen and α -1-antichymotrypsin is the major form of prostate-specific antigen in serum of patients with prostate cancer: assay of the complex improves clinical sensitivity for cancer. Cancer Res. 51:222-226, 1991.
4. Catalona WJ, Smith DS, Ratliff TL, Basler JW. Detection of organ-confined prostate cancer is increased through prostate-specific antigen-based screening. JAMA. 270:948-954, 1993.
5. Stamey TA, Yang N Hay AR, McNeal JE, Freiha, FS, Redwine E. Prostate-specific antigen as a serum marker for adenocarcinoma of the prostate. N Engl J Med. 317-: 909-916, 1987.
6. Junker R, Brandt B, Zechel C, and Assmann, G. Comparison of Prostate-specific antigen (PSA) measured by four combinations of free-PSA and total PSA assays. Clinical Chemistry 43:1588-1594, 1997.
7. Luderer AA, Chen Y-T, Soriano TF, et al. Measurements of the proportion of free to total prostate-specific antigen improves diagnostic performance of prostate-specific antigen in the diagnostic gray zone of total prostate-specific antigen. Urology 46:187-194, 1995.

По вопросам, касающимся качества Набора «свПСА-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 PSA IN HUMAN SERUM OR PLASMA

1. INTENDED USE

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

This kit is designed for measurement of free PSA 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 42 unknown samples in duplicates.

2. SUMMARY AND EXPLANATION

Prostate specific antigen (PSA) is a serin-like protease with molecular weight ca. 34 kDa and was initially found exclusively in normal prostatic gland as well as in prostatic fluid and seminal plasma. Later it was localized also in breast milk and, according to its enzymological properties, was classified as human prekallikrein 3.

In human serum, most of PSA forms complexes with serine protease inhibitor proteins (mostly alpha-1-antichymotrypsin, and alpha-2-macroglobulin). A minor proportion of PSA (free PSA) is circulating outside these complexes.

In a present test system, monoclonal antibodies PS2 capture both free and bound forms of PSA with an equal affinity ("equimolar" binding"). To detect captured free form of PSA, we use labelled monoclonal antibody PS1 which is highly specific for free PSA. The specificities and epitope mapping of these two antibodies were confirmed by independent laboratory (University of Turku, Finland).

It is generally accepted now that the ratio free PSA/ total PSA may help in differential diagnosis between benign diseases of prostatic gland (adenomas, inflammatory diseases) and carcinomas. This ratio should be measured when the total PSA level exceeds the used populational threshold level (usually, 4 ng/ml). In sera with lower concentrations of total PSA, especially in women, the correct measurement of free to total PSA ratio is not recommended by present test system.

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 human PSA-antibodies. Antigen from the specimen is captured by the antibodies coated onto the microwell surface. Unbound material is removed by washing procedure. Second antibodies – murine monoclonal to human free PSA, labelled with peroxidase enzyme, are then added into the microwells. After subsequent 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% H₂SO₄. 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.

5.1. Contents of the Kit

5. KIT COMPONENTS

| Symbol | Description | Qty | Units | Colour code | Stability of opened/diluted components |
|--------|---|-----|-------|---------------------------|---|
| 1 | SORB MTP fPSA EIA strips, 8x12 wells | 1 | pcs | | until exp.date |
| 2 | CAL 1-5 Calibrator set, 0.8 ml each. The set contains 5 calibrators: 0; 0.25; 0.75; 2.5; 5 ng/ml | 5 | pcs | blue (CI – colourless) | 2 months |
| 3 | CONTROL Control serum (0.8 ml) | 1 | pcs | colourless | 2 months |
| 4 | CONJ HRP Conjugate, 14 ml | 1 | pcs | purple | until exp.date |
| 5 | DIL EIA buffer 14 ml | 1 | pcs | blue | until exp.date |
| 6 | SUBS TMB Substrate solution, 14 ml | 1 | pcs | colourless | until exp.date |
| 7 | BUF WASH 26X Washing solution concentrate 26X, 22 ml | 1 | pcs | colourless | Concentrate – until exp.date Diluted washing solution – 45 days at 2-8 °C or 15 days at RT |
| 8 | STOP Stop solution, 14 ml | 1 | pcs | colourless | until exp.date |
| 9 | N003 Plate sealing tape | 2 | pcs | | N/A |
| 10 | K2311 Instruction fPSA EIA | 1 | pcs | | N/A |
| 11 | K231Q QC data sheet fPSA EIA | 1 | pcs | | N/A |

5.2. Equipment and material required but not provided

- Distilled or deionized water;
- Automatic or semiautomatic multichannel micropipettes, 50–250 µl, is useful but not essential;
- Calibrated micropipettes with variable volume, range volume 25–250 µl;
- Dry thermostat for +37 °C ±0.1 °C
- Calibrated microplate photometer with 450 nm wavelength and OD measuring range 0–3.0.

5.3. Storage and stability of the Kit

Store the whole kit at +2...+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 12 wells for the calibrators CAL 1-5 and control samples CONTROL and two wells for each unknown sample. DO NOT REMOVE ADHESIVE SEALING TAPE FROM UNUSED STRIPS. |
| 2 | Pipet 50 µl of EIA buffer into each well. |
| 3 | Pipet 50 µl of calibrators CAL 1-5, control samples CONTROL and unknown samples into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape (included into the kit). |
| 4 | Incubate 30 minutes at 37 °C. |
| 5 | Prepare washing solution by 26X dilution of washing solution concentrate BUF WASH 26X by distilled water. Minimal quantity of washing solution should be 250 µl per well. Wash strips 3 times. |
| 6 | Dispense 100 µl of CONJ HRP into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape. |
| 7 | Incubate 30 minutes at 37 °C. |
| 8 | Wash the strips 5 times. |
| 9 | Dispense 100 µl of SUBS TMB into the wells. |
| 10 | Incubate 10-20 minutes at +18...+25 °C. |
| 11 | Dispense 100 µl of STOP into the wells. |
| 12 | Measure OD (optical density) at 450 nm. |
| 13 | Set photometer blank on first calibrator. |
| 14 | 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

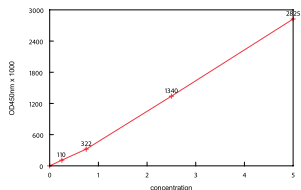
9.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

9.2. Plot a calibration curve on graph paper: OD versus free PSA concentration.

9.3. Determine the corresponding concentration of free PSA 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 ng/ml | 0.08 |
| CAL 2 | 0.25 ng/ml | 0.19 |
| CAL 3 | 0.75 ng/ml | 0.40 |
| CAL 4 | 2.5 ng/ml | 1.42 |
| CAL 5 | 5 ng/ml | 2.90 |



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 fPSA. 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.

Valid only for tPSA concentrations greater than 4.0 ng/ml

Ratio fPSA/tPSA (cat#K221, XEMA), %

| | |
|---------------------------|-------|
| Benign prostatic diseases | >10.0 |
| Prostatic carcinoma | <10.0 |

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical sensitivity

Sensitivity of the assay was assessed as being 0.0035 ng/ml.

11.2. Linearity


















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

11.3. Recovery

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

12. LITERATURE

1. Christensson A, Bjork T, Nilsson O, et al. Serum Prostate Specific Antigen Complexed to α 1-Antichymotrypsin As An Indicator of Prostate Cancer. *J. of Urol.* 150:100-105; 1993.
2. Lilja H, Christensson A, Dahlen U, et al. Prostate-specific antigen in serum occurs predominantly in complex with α -1-antichymotrypsin. *Clin Chem* 37:1618-1625, 1991.
3. Stenman U-H, Leinonen J, Alfthan H, Rannikko S, Tuhkanen K, Alfthan O. A complex between prostate-specific antigen and α -1-antichymotrypsin is the major form of prostate-specific antigen in serum of patients with prostate cancer: assay of the complex improves clinical sensitivity for cancer. *Cancer Res.* 51:222-226, 1991.
4. Catalona WJ, Smith DS, Ratliff TL, Basler JW. Detection of organ-confined prostate cancer is increased through prostate-specific antigen-based screening. *JAMA.* 270:948-954, 1993.
5. Stamey TA, Yang N Hay AR, McNeal JE, Freiha, FS, Redwine E. Prostate-specific antigen as a serum marker for adenocarcinoma of the prostate. *N Engl J Med.* 317-: 909-916, 1987.
6. Junker R, Brandt B, Zechel C, and Assmann, G. Comparison of Prostate-specific antigen (PSA) measured by four combinations of free-PSA and total PSA assays. *Clinical Chemistry* 43:1588-1594, 1997.
7. Luderer AA, Chen Y-T, Soriano TF, et al. Measurements of the proportion of free to total prostate-specific antigen improves diagnostic performance of prostate-specific antigen in the diagnostic gray zone of total prostate-specific antigen. *Urology* 46:187-194, 1995

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

Уважаемый Клиент!

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

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

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

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



Russian Diagnostic
Manufacturers Association



Классический российский
профессиональный союз клинических
лабораторных диагностов



Russian Association
of Medical Laboratory
Diagnosticians



РОССИЙСКАЯ АССОЦИАЦИЯ
МЕДИЦИНСКИХ ЛАБОРАТОРНЫХ
ДИАГНОСТОВ

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;

03176, г. Киев, ул. Академика Ефремова, д. 23;

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com





Instruction for use



**НАБОР РЕАГЕНТОВ
ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
СВОБОДНОЙ β СУБЪЕДИНИЦЫ ХГ
В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ**

«св β ХГ-ИФА»

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

free β -HCG EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ REF **K235**

ТУ № 9398-030-18619450-2007

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
№ ФСР 2007/00737 от 30 сентября 2013 г.



For 96 determinations/На 96 определений



Для *in vitro* диагностики

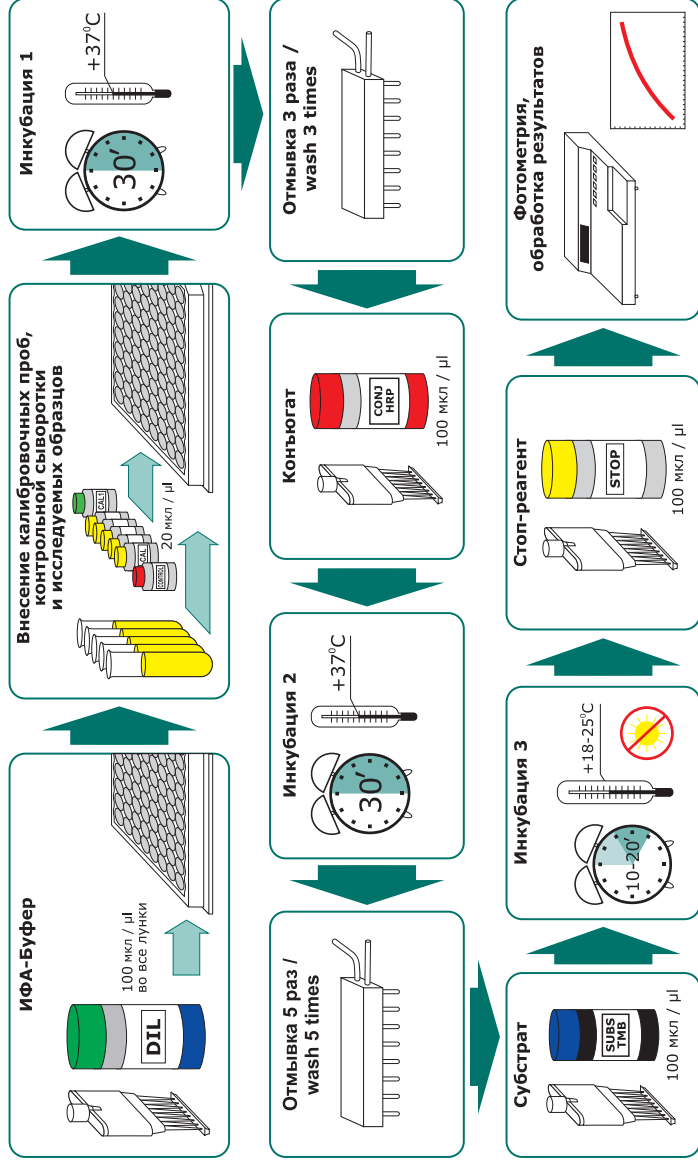


XEMA Co., Ltd.
The 9th Parkovaya str., 48
105264 Moscow, Russia
Tel./fax: +7(495) 510-57-07
e-mail: redkin@xema.ru
internet: www.xema-medica.com



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

Схема проведения анализа / Test procedure



K235

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 | 14 |
| 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 СВОБОДНОЙ β СУБЪЕДИНИЦЫ ХГ В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «св β ХГ-ИФА»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «св β ХГ-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации свободной β субъединицы ХГ в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Хорионический гормон (ХГ) – гликопротеин, вырабатываемый плацентой во время беременности. ХГ появляется в сыворотке крови и моче начиная с 7-13 дня после оплодотворения яйцеклетки. Интактная молекула ХГ состоит из двух нековалентно связанных полипептидных цепей – α - и β -субъединиц. Измерение интактного ХГ и его α -цепи ХГ дает сходные результаты в крови и моче; в то же время данные измерения концентрации β -цепи значительно отличаются. Во время беременности уровни интактного ХГ и его свободной β -цепи (св β -ХГ) достигают своего максимума на 8–9 неделе, а потом постепенно снижаются. Во втором триместре беременности в сыворотке крови уровень интактного ХГ варьирует в пределах от 20 до 50 МЕд/мл (примерное соотношение 1 нг = 15 МЕд); концентрации СВОБОДНЫХ α - и β - цепей составляют не более 0.5-1% от содержания интактного ХГЧ в течение всей беременности. Во время беременности уровни интактного ХГ и св β -ХГ достигают своего максимума на 8–9 неделе, а потом постепенно снижаются. Недавно показано, что при трисомии 21 хромосомы наблюдается значительное увеличение концентрации св β -ХГ по сравнению с контролем. В сочетании с определением других маркеров (АФП, ПАББ-А) определение св β -ХГ может использоваться для оценки риска развития врожденных аномалий плода. В онкологии определение интактного ХГ и свободных субъединиц не является полезным маркером нефрофобластических опухолей, однако абсолютное увеличение концентрации св β -ХГ может указывать на рост хориокарциномы в отличие от нормальной беременности.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение свободной β субъединицы ХГ основано на использовании «сэндвич»-варианта твердофазного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы мышиные моноклональные антитела к свободной β субъединице ХГ человека. В лунках планшета, при добавлении исследуемого образца, происходит связывание св β ХГ, содержащегося в исследуемом образце, с антителами на твердой фазе. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата мышиных моноклональных антител к β субъединице ХГ 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 свободной β субъединицы ХГ в исследуемом образце. Концентрацию свободной β субъединицы ХГ в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания свободной β субъединицы ХГ в калибровочных пробах.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность.

Использование мышиных моноклональных антител к свободной β субъединице ХГ позволяет достичь высокой специфичности анализа

3.2. Воспроизводимость.

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

3.3. Линейность.

Зависимость концентрации св β ХГ в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей св β ХГ, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 10–250 нг/мл и составляет $\pm 10.0\%$.

3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации св β ХГ предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 50 нг/мл. Процент «открытия» составляет 90–110%.

3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «св β ХГ-ИФА» концентрация св β ХГ в сыворотке (плазме) крови не превышает 1.0 нг/мл.

4. СОСТАВ НАБОРА

| Код компонента | Символ | Наименование | Кол-во | Ед. | Описание |
|----------------|--------------|--|--------|-----|---|
| 1 P235Z | SORB MTP | Планишет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию | 1 | шт. | - |
| 2 C235Z | CAL 1-5 | Калибровочные пробы на основе трис-буфера (рН 7.2-7.4), содержащие известные количества свободной β субъединицы ХГ – 0; 10; 50; 120; 250 нг/мл , готовы к использованию (по 0.8 мл каждая) | 5 | шт. | прозрачные жидкости зеленого цвета (калибровочная проба 0 – прозрачная бесцветная жидкость) |
| 3 Q235Z | CONTROL | Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием свободной β субъединицы ХГ, готова к использованию (0.8 мл) | 1 | шт. | прозрачная бесцветная жидкость |
| 4 T235Z | CONJ HRP | Конъюгат , готов к использованию (14 мл) | 1 | шт. | прозрачная жидкость пурпурного цвета |
| 5 S011Z2 | DIL | ИФА-Буфер , готов к использованию (22 мл) | 1 | шт. | прозрачная жидкость синего цвета |
| 6 R055Z | SUBS TMB | Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) , готов к использованию (14 мл) | 1 | шт. | прозрачная бесцветная жидкость |
| 7 S008Z | BUF WASH 26X | Концентрат отмывочного раствора (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26x-кратный (22 мл) (22 мл) | 1 | шт. | прозрачная бесцветная жидкость |
| 8 R050Z | STOP | Стоп-реагент , готов к использованию (14 мл) | 1 | шт. | прозрачная бесцветная жидкость |
| 9 N003 | - | Бумага для заклеивания планшета | 2 | шт. | - |
| 10 K235I | - | Инструкция по применению Набора реагентов «св β ХГ-ИФА» | 1 | шт. | - |
| 11 K235Q | - | Паспорт контроля качества Набора реагентов «св β ХГ-ИФА» | 1 | 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 20–250 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 «свβХГ-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.

8.2. Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 42 исследуемых образцов, 5 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;
- ИФА-Буфер, 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 свободной β субъединицы ХГ 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 12 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки. |
| 2 | Если предполагаемая концентрация сврХГ в исследуемом образце превышает 250 нг/мл, его следует дополнительно развести, используя ИФА-Буфер (S01122). Использование других буферов и реагентов для разбавления образцов может исказить результаты определения! Примечание. Для получения надежных результатов рекомендуется использовать несколько последовательных разведений исследуемого образца сыворотки (плазмы) крови. |
| 3 | Внесите во все лунки планшета по 100 мкл ИФА-Буфера. |
| 4 | Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 20 мкл калибровочной пробы и контрольной сыворотки. В остальные лунки внесите в дубликатах по 20 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови. Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут. |
| 5 | Аккуратно перемешайте содержимое планшета круговыми движениями по горизонтальной поверхности, заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета. Инкубируйте планшет в течение 30 минут при температуре +37 °С. |
| 6 | По окончании инкубации удалите содержимое лунок аспирацией (например, с помощью водоструйного насоса) или декантированием и отмойте лунки 3 раза . 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. |
| 7 | Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата. |
| 8 | Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте его в течение 30 минут при температуре +37 °С. |
| 9 | По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз . |
| 10 | Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина. Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2–3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °С) в течение 10–20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания. |
| 11 | Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет. |
| 12 | Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм . Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра выставляйте по калибровочной пробе С1. |

Продолжение таблицы на стр. 8

| | |
|----|--|
| 13 | Постройте в линейных координатах калибровочный график: ось абсцисс (x) – концентрация сврХГ в калибровочных пробах (нг/мл), ось ординат (y) – оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма обчета (апроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод. |
| 14 | Определите по калибровочному графику содержание сврХГ 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 сврХГ в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (1.0 нг/мл), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (250 нг/мл) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация сврХГ ниже 1.0 нг/мл или выше 250 нг/мл.

10.2. Ожидаемые значения и нормы для первого триместра беременности при расчете риска синдрома Дауна. Приведенные ниже медианы получены на основе анализа 2108 сывороток крови беременных женщин – жительниц Санкт-Петербурга и Ленинградской области – в НИИ акушерства и гинекологии им. Отта с помощью данного набора.

Приведенные в таблице значения имеют рекомендательный характер и могут использоваться для расчета риска синдрома Дауна только на этапе накопления собственных медиан в каждой лаборатории. Значения медиан могут отличаться в различных географических зонах ввиду расовых и популяционных особенностей.

| Беременные, неделя | Медиана, нг / мл | СКО |
|--------------------|------------------|------|
| 9 неделя | 64.3 | 0.67 |
| 10 неделя | 62 | 0.62 |
| 11 неделя | 49.2 | 0.64 |
| 12 неделя | 39.5 | 0.60 |
| 13 неделя | 39 | 0.64 |

10.3. Ожидаемые значения и нормы для второго триместра беременности при расчете риска синдрома Дауна

Приведенные ниже данные получены на основе анализа 644 сывороток крови беременных женщин – жительниц Санкт-Петербурга и Ленинградской области – в лабораториях ООО «ХЕМА». Сроки беременности были определены по дате последней менструации и округлены до целого.

Приведенные в таблице данные имеют рекомендательный характер и не предназначены для расчета риска синдрома Дауна.

| Исследуемая группа | Единицы, нг/мл | |
|--------------------|----------------|----------------|
| | Нижний предел | Верхний предел |
| Беременные: | | |
| неделя 14 | 21.8 | 31 |
| неделя 15 | 20.3 | 28 |
| неделя 16 | 13.3 | 23 |
| неделя 17 | 11.1 | 19.9 |
| неделя 18 | 9.9 | 19.4 |

Медианы и СКО (рекомендуемый диапазон норм 0.5–2.0 МОМ)

По мере накопления новых данных о медианах данные будут уточняться – высылайте запросы на адрес rqs@xema.ru. Для расчета риска синдрома Дауна с учетом данных других параметров первого триместра рекомендуется использовать программу КРСД-ХЕМА.

11. ЛИТЕРАТУРА

- Schaelike M, Kossakiewicz M, Kossakiewicz A, Schild RL Examination of a first-trimester Down syndrome screening concept on a mix of 11,107 high- and low-risk patients at a private center for prenatal medicine in Germany. // *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2009 May;33(5):518-23
- Wortelboer EJ, Koster MP, Stoutenbeek P, Elvers LH, Loeber JG, Visser GH, Schielen PC. First-trimester Down syndrome screening performance in the Dutch population; how to achieve further improvement? // *Prenat Diagn.* 2009 Mar 17. [Epub ahead of print]
- Linskens IH, Levitus M, Frans A, Schielen PC, van Vugt JM, Blankenstein MA, Dijkstra Bloem HM. Performance of free β -human chorionic gonadotrophin (free β -hCG) and pregnancy associated plasma protein-A (PAPP-A) analysis between Delfia Xpress and AutoDelfia systems in The Netherlands. // *Clin Chem Lab Med.* 2009;47(2):222-6
- Schmidt P, Staboulidou I, Soergel P, Wßstemann M, Hillemanns P, Scharf A. Comparison of Nicolaides' risk evaluation for Down's syndrome with a novel software: an analysis of 1,463 cases. // *Arch Gynecol Obstet.* 2007 Jun;275(6):469-74. Epub 2007 Mar 1
- Spencer K. Accuracy of Down's syndrome risks produced in a prenatal screening program. // *Ann Clin Biochem.* 1999 Jan;36 (Pt 1):101-3.

По вопросам, касающимся качества Набора «свХГ-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; rqs@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 β -HCG IN HUMAN SERUM OR PLASMA

1. INTENDED USE

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

This kit is designed for measurement of free β -HCG 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 42 unknown samples in duplicates.

2. SUMMARY AND EXPLANATION

Human chorionic gonadotropin (HCG) is a glycoprotein hormone secreted by trophoblastic cells of placenta during pregnancy. HCG appears in blood and urine in about 7-13 day after fertilization, reaching its maximum by the end of the first trimester. An intact molecule of HCG consists of two non-covalently bound polypeptide chains: α - and β -subunits. β -subunit is specific for HCG hormone while α -chain is identical in TSH, LH, FSH and HCG..

Normally, blood levels of free α - and β -chains reach not more than 0.5-1.0% of intact HCG level and during pregnancy vary in parallel with intact HCG. Recently, it was shown that, compared to control, a significant elevation of free β -chain is found in trisomy 21 (Down syndrome), the most pronounced difference being found during weeks 8-9 of pregnancy. That is why determination of free β -chain of HCG in conjunction with other markers (PABB-A, AFP) may be used to estimate risk of congenital pathology of the fetus.

In oncology, a marked rise of free β -chain in blood is found in trophoblastic and germinal tumours (choriocarcinoma, carcinoma of ovaries, etc.).

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 human free β HCG-antibodies. Antigen from the specimen is captured by the antibodies coated onto the microwell surface. Unbound material is removed by washing procedure. Second antibodies - murine monoclonal to human β HCG, labelled with peroxidase enzyme, are then added into the microwells. After subsequent 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 | free β -HCG EIA strips, 8x12 wells | 1 | pcs | | until exp.date |
| 2 | Calibrator set, 0.8 ml each. The set contains 5 calibrators: 0; 10; 50; 120; 250 ng/ml | 5 | pcs | green (C1 – colourless) | 2 months |
| 3 | Control serum (0.8 ml) | 1 | pcs | colourless | 2 months |
| 4 | Conjugate, 14 ml | 1 | pcs | purple | until exp.date |
| 5 | EIA buffer 22 ml | 1 | pcs | blue | until exp.date |
| 6 | Substrate solution, 14 ml | 1 | pcs | colourless | until exp.date |
| 7 | Washing solution concentrate 26X, 22 ml | 1 | pcs | colourless | Concentrate – until exp.date Diluted washing solution – 45 days at 2-8 °C or 15 days at RT |
| 8 | Stop solution, 14 ml | 1 | pcs | colourless | until exp.date |
| 9 | Plate sealing tape | 2 | pcs | | N/A |
| 10 | Instruction free β -HCG EIA | 1 | pcs | | N/A |
| 11 | QC data sheet free β -HCG 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 20–250 µl;
- Dry thermostat for +37 °C ±0.1 °C;
- Calibrated microplate photometer with 450 nm wavelength and OD measuring range 0–3.0.

5.3. Storage and stability of the Kit

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

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

6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

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

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

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

- All reagents (including unsealed microstrips) should be allowed to reach room temperature (+18...+25 °C) before use.
- All reagents should be mixed by gentle inversion or vortexing prior to use. Avoid foam formation.
- It is recommended to spin down shortly the tubes with calibrators on low speed centrifuge.
- Prepare washing solution from the concentrate BUF WASH 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 12 wells for the calibrators CAL 1–5 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 EIA buffer. Use of other buffers or reagents for sample dilution may lead to incorrect measurement. |
| 3 | Pipet 100 µl of EIA buffer into each well. |
| 4 | Pipet 20 µl of calibrators CAL 1–5, control samples CONTROL and unknown samples into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape (included into the kit). |
| 5 | Incubate 30 minutes at 37 °C. |
| 6 | Prepare washing solution by 26X dilution of washing solution concentrate BUF WASH 26X by distilled water. Minimal quantity of washing solution should be 250 µl per well. Wash strips 3 times. |
| 7 | Dispense 100 µl of CONJ HRP into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape. |
| 8 | Incubate 30 minutes at 37 °C. |
| 9 | Wash the strips 5 times. |
| 10 | Dispense 100 µl of SUBS TMB into the wells. |
| 11 | Incubate 10–20 minutes at +18...+25 °C. |
| 12 | Dispense 100 µl of STOP into the wells. |
| 13 | Measure OD (optical density) at 450 nm. |
| 14 | Set photometer blank on first calibrator. |
| 15 | Apply point-by-point method for data reduction. |

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

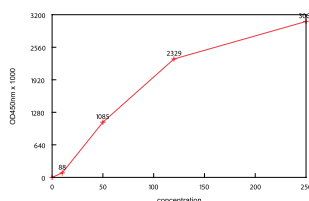
9.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

9.2. Plot a calibration curve on graph paper: OD versus free β -HCG concentration.

9.3. Determine the corresponding concentration of free β -HCG 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 ng/ml | 0.05 |
| CAL 2 | 10 ng/ml | 0.14 |
| CAL 3 | 50 ng/ml | 1.13 |
| CAL 4 | 120 ng/ml | 2.38 |
| CAL 5 | 250 ng/ml | 3.12 |



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 free β -HCG. 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.

| Pregnancy, week | Median, ng/ml | SD |
|-----------------|---------------|------|
| 9 | 64.3 | 0.67 |
| 10 | 62 | 0.62 |
| 11 | 49.2 | 0.64 |
| 12 | 39.5 | 0.60 |
| 13 | 39.0 | 0.64 |

| Sex, age | Units, ng/ml | |
|-----------------|--------------|-------------|
| | Lower limit | Upper limit |
| Pregnancy week: | | |
| 14 | 21.8 | 31 |
| 15 | 20.3 | 28 |
| 16 | 13.3 | 23 |
| 17 | 11.1 | 19.9 |
| 18 | 9.9 | 19.4 |

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

The monoclonal antibody is specific for human free β -HCG. There is no cross-reactivity to other species.

11.2. Analytical sensitivity

Sensitivity of the assay was assessed as being 1.0 ng/ml.

11.3. Linearity


















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

11.4. Recovery

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

12. LITERATURE

- Schaelike M, Kossakiewicz M, Kossakiewicz A, Schild RL Examination of a first-trimester Down syndrome screening concept on a mix of 11,107 high- and low-risk patients at a private center for prenatal medicine in Germany. // *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2009 May;33(5):518-23
- Wortelboer EJ, Koster MP, Stoutenbeek P, Elvers LH, Loeber JG, Visser GH, Schielen PC. First-trimester Down syndrome screening performance in the Dutch population; how to achieve further improvement β // *Prenat Diagn.* 2009 Mar 17. [Epub ahead of print]
- Linskens IH, Levitus M, Frans A, Schielen PC, van Vugt JM, Blankenstein MA, Dijstelbloem HM. Performance of free β -human chorionic gonadotrophin (free β -hCG) and pregnancy associated plasma protein-A (PAPP-A) analysis between Delfia Xpress and AutoDelfia systems in The Netherlands. // *Clin Chem Lab Med.* 2009;47(2):222-6
- Schmidt P, Staboulidou I, Soergel P, Wßstemann M, Hillemanns P, Scharf A. Comparison of Nicolaides' risk evaluation for Down's syndrome with a novel software: an analysis of 1,463 cases. // *Arch Gynecol Obstet.* 2007 Jun;275(6):469-74. Epub 2007 Mar 1
- Spencer K. Accuracy of Down's syndrome risks produced in a prenatal screening program. // *Ann Clin Biochem.* 1999 Jan;36 (Pt 1):101-3.

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

Уважаемый Клиент!

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

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

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

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



Russian Diagnostic
Manufacturers Association



Классический отдел
препаратный отдел клинической
лабораторной диагностики



Russian Association
of Medical Laboratory
Diagnosticians



Российская ассоциация
медицинской лабораторной
диагностики

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;

03176, г. Киев, ул. Академика Ефремова, д. 23;

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com

