



Instruction for use



**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ  
НАБОРА РЕАГЕНТОВ  
ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ  
IgG АНТИТЕЛ К АНТИГЕНАМ HERPES SIMPLEX VIRUS  
1 И 2 ТИПА (HSV 1, 2) В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ**

**«HSV 1,2 IgG-ИФА»**

**A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY  
FOR THE QUALITATIVE DETERMINATION  
OF IgG ANTIBODIES TO HSV 1, 2  
IN HUMAN SERUM OR PLASMA**

**HSV 1/2 IgG EIA**

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF** **K104**

ТУ № 9398-104-18619450-2009

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ  
№ ФСР 2010/07032 от 1 марта 2010 г.

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



For 96 determinations / На 96 определений



Для *in vitro* диагностики

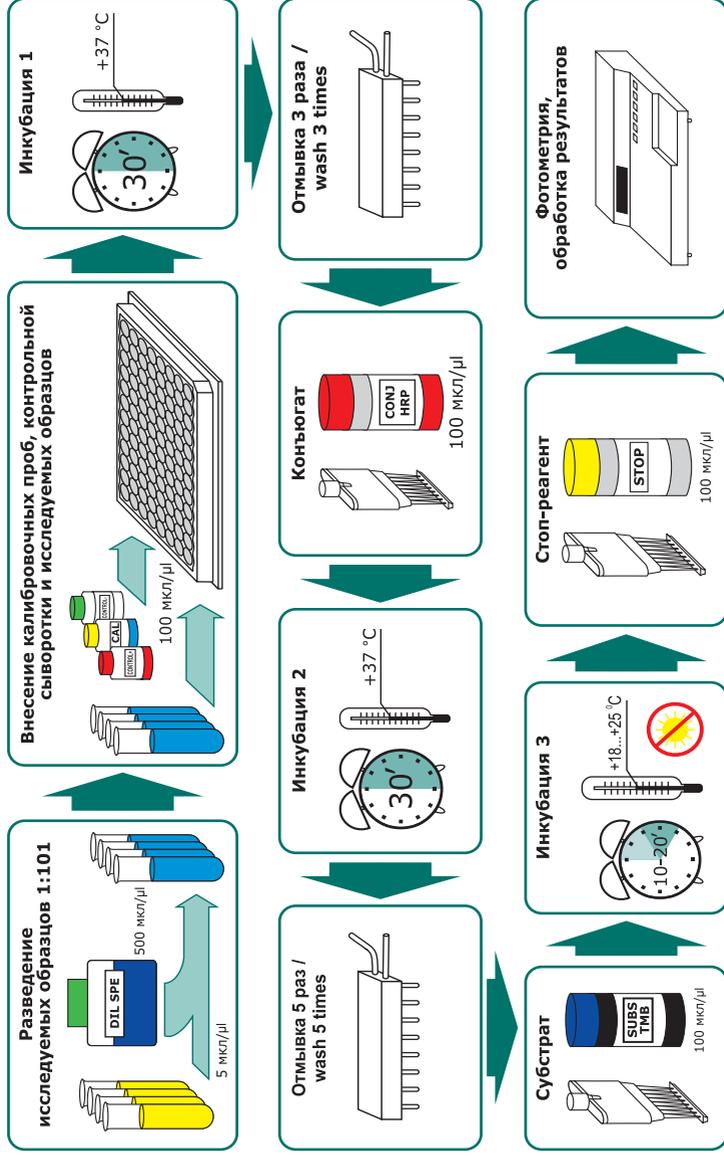


XEMA Co., Ltd.  
The 9th Parkovaya str., 48  
105264 Moscow, Russia  
Tel./fax: +7(495) 510-57-07  
e-mail: redkin@xema-medica.com  
internet: www.xema-medica.com



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

## Схема проведения анализа / Test procedure



**K104**

**СОДЕРЖАНИЕ**

1. НАЗНАЧЕНИЕ	2
2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА	2
3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	2
4. СОСТАВ НАБОРА	3
5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	4
6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ	4
7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА	4
8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА	5
9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА	6
10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ	7
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. LITERATURE	15

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

## **ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ IgG АНТИТЕЛ К АНТИГЕНАМ HERPES SIMPLEX VIRUS 1 И 2 ТИПА (HSV 1,2) В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «HSV 1,2 IgG-ИФА»**

### **1. НАЗНАЧЕНИЕ**

**1.1.** Набор реагентов «HSV 1,2 IgG-ИФА» предназначен для качественного определения концентрации IgG антител к антигенам Herpes simplex virus 1 и 2 типа (HSV 1,2) в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

**1.2.** Инфекции, вызываемые вирусом простого герпеса (ВПГ) относятся к числу наиболее частых заболеваний человека. Проведенные сероэпидемиологические исследования показали, что около 90% всего населения к 4-й декаде жизни имеют антитела к ВПГ. Передача через инфицированные секреты является основным путем передачи инфекции. Латенция и реактивация очень часто встречаются при ВПГ-инфекции. Антитела к ВПГ играют защитную роль в предотвращении развития заболевания и ограничении латенции, хотя и не обеспечивают полной защиты. Исследование специфических IgG-антител к ВПГ выполняется на ранних сроках беременности для оценки предыдущей экспозиции к вирусу. В случае серонегативности беременной показано ограничение контактов.

### **2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА**

Определение IgG антител к антигенам Herpes simplex virus 1 и 2 типа (HSV 1,2) основано на использовании непрямого варианта твердофазного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизован антиген – HSV 1,2. Антитела из образца связываются с антигеном на поверхности лунок. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата мышинных моноклональных антител к IgG 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 специфических IgG антител к антигенам Herpes simplex virus 1 и 2 типа (HSV 1,2). Концентрация IgG антител к антигенам Herpes simplex virus 1 и 2 типа (HSV 1,2) в исследуемых образцах рассчитывается по формуле, приведенной в инструкции.

### **3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ**

**3.1. Специфичность.** Использование высокоочищенного препарата позволяет достичь высокой специфичности анализа.

**3.2. Воспроизводимость.**

Коэффициент вариации результатов определения содержания IgG антител к антигенам Herpes simplex virus 1 и 2 типа (HSV 1,2) в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «HSV 1,2 IgG-ИФА» не превышает 8.0%.

## 4. СОСТАВ НАБОРА

Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1 P104Z	SORB MTP	<b>Планшет</b> 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2 CQ104Z	CAL	<b>Калибровочная проба</b> на основе трис-буфера (pH 7.2-7.4), содержащая известное количество IgG антител к антигенам Herpes simplex virus 1 и 2 типа (HSV 1,2), готова к использованию, 1.5 мл	1	шт.	прозрачная жидкость синего цвета
3 CN104Z CP104Z	CONTROL - CONTROL +	<b>Контрольные сыворотки</b> (отрицательный и положительный контроли) на основе сыворотки крови человека с известным содержанием IgG антител к антигенам Herpes simplex virus 1 и 2 типа (HSV 1,2), готовы к использованию (1.5 мл и 1.5 мл соответственно)	2	шт.	прозрачная бесцветная жидкость и прозрачная жидкость красного цвета
4 T104Z	CONJ HRP	<b>Конъюгат</b> , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость красного цвета
5 S011Z3	DIL SPE	<b>ИФА-Буфер</b> , готов к использованию (50 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость синего цвета
6 R055Z	SUBS TMB	<b>Раствор субстрата тетраметилбензидина</b> (ТМБ), готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
7 S008Z	BUF WASH 26X	<b>Концентрат отмывочного раствора</b> (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26x-кратный (22 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
8 R050Z	STOP	<b>Стоп-реагент</b> , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
9 N003	-	Бумага для заклеивания планшета	2	шт.	-
10 K104I	-	Инструкция по применению Набора реагентов «HSV 1,2 IgG-ИФА»	1	шт.	-
11 K104Q	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «HSV 1,2 IgG-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 измерить 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 5–250 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 выдерживать 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 «HSV 1,2 IgG-ИФА» должен храниться в упаковке производителя-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 45 исследуемых образцов, 1 калибровочных проб и 2 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;
- калибровочную пробу и контрольные сыворотки после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °С не более 2 месяцев;
- оставшийся неиспользованным концентрат отмывочного раствора следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора. Приготовленный отмывочный раствор следует хранить при комнатной температуре (+18...+25 °С) не более 15 суток или при температуре +2...+8 °С не более 45 суток.

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

**8.4.** Для проведения анализа не следует использовать гемолизованную, мутную сыворотку (плазму) крови, а также сыворотку (плазму) крови, содержащую азид натрия. Если анализ производится не в день взятия крови, сыворотку (плазму) следует хранить при температуре -20 °С. Повторное замораживание-оттаивание образцов сыворотки (плазмы) крови не допускается. Допускается исследование сывороток, хранение которых с момента забора крови осуществлялось при температуре от +2 °С до +8 °С не более 7 суток.

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

**8.6.** При использовании Набора для проведения нескольких независимых серий анализов следует иметь в виду, что для каждого независимого определения необходимо построение нового калибровочного графика; кроме этого, рекомендуется определение концентрации IgG антител к антигенам Herpes simplex virus 1 и 2 типа (HSV 1,2) 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 6 лунок для калибровочной пробы и контрольных сывороток.
2	<b>Разбавьте образцы сыворотки (плазмы) крови в 101 раз, используя ИФА-Буфер (S011Z3).</b> Пример: 5 мкл образца + 500 мкл ИФА-Буфера. <b>Не разбавляйте калибровочную пробу и контрольные сыворотки.</b>
3	<b>Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 100 мкл калибровочной пробы и контрольных сывороток. В остальные лунки внесите в дубликатах по 100 мкл разбавленных исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови.</b> Внесите калибровочной пробы, контрольных сывороток и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
4	Аккуратно перемешайте содержимое планшета круговыми движениями по горизонтальной поверхности, заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета. <b>Инкубируйте планшет в течение 30 минут при температуре +37 °С.</b>
5	По окончании инкубации удалите содержимое лунки аспирацией (например, с помощью водоструйного насоса) или декантированием и <b>отмойте лунки 3 раза.</b> При каждой отмывке добавьте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п.7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок.
6	<b>Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.</b>
7	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и <b>инкубируйте</b> его в течение <b>30 минут при температуре +37 °С.</b>
8	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и <b>отмойте лунки 5 раз.</b>
9	<b>Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина.</b> Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2–3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °С) в течение 10–20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.
10	<b>Внесите во все лунки</b> с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, <b>по 100 мкл стоп-реакента</b> , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
11	<b>Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм.</b> Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реакента. Бланк фотометра выставляйте по воздуху.

12	<p><b>Расчитайте содержание IgG антител к антигенам <i>Herpes simplex virus 1 и 2</i> типа (HSV 1,2)</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Рассчитайте среднее ОП калибратора;</li> <li>2. Умножьте это среднее на коэффициент (Q), значение которого указано в Паспорте серии – получите граничное значение оптической плотности (ОПГ);</li> <li>3. Для каждого образца вычислите коэффициент К, получаемый делением ОП образца на ОПГ.</li> </ol> <p>При <math>K &gt; 1.1</math> образец положительный,  при <math>K &lt; 0.9</math> – отрицательный.  при значении К, лежащем в промежутке от 0.91 до 1.09 – результат в пограничной зоне (+/-).</p>
----	---

**Таблица М**

Вид материала	Сбор, хранение и обработка материала	Пример разведения	Образец в лунку, мкл	Фактор пересчета
сыворотка (плазма) крови	исследуемые образцы должны быть тщательно отцентрифугированы. Анализ мутных, хилезных и гемолитических образцов может привести к искажению результатов	5 мкл образца + 500 мкл ИФА-Буфера	100	1

## 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.

**10.2.** Некоторые лаборатории на основании результатов собственных популяционных исследований вводят «второй cut-off», расположенный между аниместическим («нормальным») и «высоким» уровнем IgG-антител, характерным для реактивации или позднего периода первичной инфекции. Значения «второго cut-off» для возрастных групп 8 месяцев - 3 года и старше 3 лет приведены в таблице ожидаемых значений.

Если значение К лежит в интервале от 1.1 до «второго cut-off», это может свидетельствовать либо о начальном периоде первичной инфекции, либо об инфекции, перенесенной ранее. Чтобы прояснить ситуацию, необходимо исследовать повторные образцы крови того же пациента, взятые через несколько недель. Нарастание титра в повторном образце свидетельствует о наличии инфекции. Если же титр не нарастает, это свидетельствует об отсутствии активной инфекции и об анамнестическом характере антител.

Исследуемая группа	Единицы, К	
	Нижний предел	Верхний предел
Серонегативные	<0.1	0.9
Серопозитивные старше 3 лет	1.1	4.9
новорожденные*	<0.1	1.5
до 8 месяцев*	<0.1	3.5
8 месяцев – 3 года	<0.1	4.8

\*материнские антитела

## 11. ЛИТЕРАТУРА

- Исаков В. А., Борисова В. В., Исаков Д. В. Герпес: патогенез и лабораторная диагностика. Руководство для врачей – СПб: Лань – 1999 – с.192
- Cowan F. M., Johnson A. M., Ashley R. et al. Relation ship between antibodies to herpes simplex virus (HSV) and symptoms of HSV infection // J. Infect. Dis. – 1996 – v.174 – p.470-475
- Munday P. E., Vuddamalay J., Slomka M. J. et al. Role of type specific herpes simplex virus serology in the diagnosis and management of genital herpes // Sex Transm. Inf – 1998 – v.74 – p.175-178
- Roest R. W., van der Meijden W. I., van Dijk G. et al. Prevalence and association between herpes simplex viruses types 1- and 2-specific antibodies in attendees at a sexually transmitted disease clinic. // Int Epidemiol. – 2001 – v.30 – p.580-588
- Whitley R/I/ Herpes simplex virusinfections. In: Infection Diseases of the Fetus and Newborn Infants (Remington JS, Klein JO eds.) – Philadelphia: WB Saunders, 1990 – p.282-305

По вопросам, касающимся качества Набора «**HSV 1,2 IgG-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 QUALITATIVE DETERMINATION OF IgG ANTIBODIES TO HSV 1,2 IN HUMAN SERUM OR PLASMA**

### **1. INTENDED USE**

A solid-phase enzyme immunoassay for the qualitative determination of IgG antibodies to HSV 1,2 in blood serum or plasma.

This kit is designed for measurement of IgG antibodies to HSV 1,2 – 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 45 unknown samples in duplicates.

### **2. SUMMARY AND EXPLANATION**

Herpes simplex virus (HSV) is one of the most common pathogens in humans. HSV is transmitted by all secretions of infected body, especially via saliva, semen and cervical fluid. Acute HSV infections appear as a vesicular rash of labial or genital area. In immunocompromised hosts, HSV may cause life-threatening sequela in central nervous system. HSV is rarely fully eradicated after acute infections and persists in human organism lifelong, showing the periodic reactivation. In case of acute infection or reactivation during pregnancy, HSV may cross the placental barrier and cause severe fetal malformations.

Specific IgG-antibodies to HSV are not protective; their titer usually raise in response to the reactivation of virus and therefore may be used to monitor the actual status of HSV activity. In pregnant women, the absence of specific IgG-antibodies (seronegativity) requires tight restrictions of the lifestyle during the pregnancy minimizing contacts to seropositive humans. The seronegative individuals should not receive the blood transfusions and organ transplants from seropositive donors.

There are two very similar serotypes of HSV – HSV I and HSV II, showing different distribution in affected human tissues and organs. The present test system does not detect the differences between these two serotypes.

### **3. PRINCIPLE OF THE TEST**

This test is based on indirect enzyme immunoassay principle. Tested specimen is placed into the microwells coated by the antigen. Antibodies from the specimen bind coated antigen on the microwell surface. Unbound material is removed by washing procedure. Second antibodies directed towards species specific Ig, 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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. It may cause skin irritation and burns.

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

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

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

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

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

**4.10.** Do not mix reagents from different lots.

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

**4.12.** Do not pipette reagents by mouth.

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

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

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

## 5.1. Contents of the Kit

## 5. KIT COMPONENTS

Symbol	Description	Qty	Units	Colour code	Stability of opened/diluted components
1	HSV 1,2 IgG EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp.date
2	Calibrator set, 1.5 ml	1	pcs	blue	2 months
3	Control sera (1.5 ml)	2	pcs	colourless and red	2 months
4	Conjugate, 14 ml	1	pcs	red	until exp.date
5	EIA buffer 50ml	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 HSV 1,2 IgG EIA	1	pcs		N/A
11	QC data sheet HSV 1,2IgG 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 5–250 µl;
- Calibrated microplate photometer with 450 nm wavelength and OD measuring range 0–3.0;
- Dry thermostat for +37 °C ±0.1 °C.

**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 6 wells for the calibrators CAL and control samples CONTROL - , CONTROL + and two wells for each unknown sample. DO NOT REMOVE ADHESIVE SEALING TAPE FROM UNUSED STRIPS.
2	Dilute all samples using buffer DIL SPE (EIA buffer) 101 fold. (5 µl of sample + 500 µl of diluent). Do not dilute control sample and calibrators.
3	Pipet 100 µl of calibrators, control samples CONTROL - , 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 air.
14	Apply coefficient method for data reduction. 1. Calculate a cutoff value by multiplying mean OD of Calibrator by the Q value (see Lot QC insert). Cutoff = OD(Calibrator) * Q value 2. Divide mean OD of each sample by Cutoff. $K = \text{OD}(\text{sample}) / \text{Cutoff}$ 3. If the K value is greater than 1.1, the result is POSITIVE. If the K value is less than 0.9, the result is NEGATIVE. If the K value is between 0.9 and 1.1, the result is EQUIVOCAL.

### 7.5. Sample processing

Material type	Notes on material collection, storage and handling	Sample dilution example	Sample into the well, $\mu$ l	Calculation factor
blood serum or plasma	grossly hemolytic, lipemic, or turbid samples should be avoided and should be treated by centrifugation before testing	5 $\mu$ l of sample + 500 $\mu$ l of diluent	100	1

## 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

Some laboratories, based on their population studies, set up a second cutoff, which stands between anamnestic ('normal') IgG antibody level and 'high' IgG antibody level characteristic of reactivation or late period of primary infection. Recommended values for this second cut-off for two age groups (8 months – 3 year, > 3 years) are presented in the table below.

## 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 HSV 1,2 IgG. Based on data obtained by XEMA, the following normal range is recommended (see below).

Sex, age	Units, K	
	Lower limit	Upper limit
Seronegative	<0.1	0.9
Seropositive > 3 years	1.1	4.9
newborn*	<0.1	1.5
under 8 months*	<0.1	3.5
8 months – 3 years	<0.1	4.8

\*antibodies of maternal origin

## 11. LITERATURE

1. Isakov V. A., Borisova V. V., Isakov D. V. Herpetic infection: pathogenesis and laboratory diagnostics. Manual for physicians. St.-Petersburg, Lanj publishing, 1999, p. 192.
2. Cowan F. M., Johnson A. M., Ashley R. et al. Relation ship between antibodies to herpes simplex virus (HSV) and symptoms of HSV infection // J. Infect. Dis. 1996- v.174 p.470-475
3. Munday P. E., Vuddamalay J., Slomka M. J. et al. Role of type specific herpes simplex virus serology in the diagnosis and management of genital herpes // Sex Transm. Inf 1998 v.74 p.175-178
4. Roest R. W., van der Meijden W. I., van Dijk G. et al. Prevalence and association between herpes simplex viruses types 1- and 2-specific antibodies in attendees at a sexually transmitted disease clinic. // Int Epidemiol. 2001 v.30 p.580-588
5. Whitley R/I/ Herpes simplex virusinfections. In: Infection Diseases of the Fetus and Newborn Infants (Remington JS, Klein JO eds.) Philadelphia: WB Saunders, 1990 - p.282-305



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



Классический российский  
производственный центр 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;

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 IgM АНТИТЕЛ К АНТИГЕНАМ  
HERPES SIMPLEX VIRUS 1 И 2 ТИПА (HSV 1, 2)  
В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ**

## **«HSV 1,2 IgM-ИФА»**

**A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY  
FOR THE QUALITATIVE DETERMINATION  
OF IgM ANTIBODIES TO HSV 1/2  
IN HUMAN SERUM OR PLASMA**

## **HSV 1/2 IgM EIA**

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF K104M**

ТУ № 9398-1041-18619450-2009

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ  
№ ФСР 2010/07072 от 16 марта 2010 г.

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



For 96 determinations / На 96 определений



Для *in vitro* диагностики

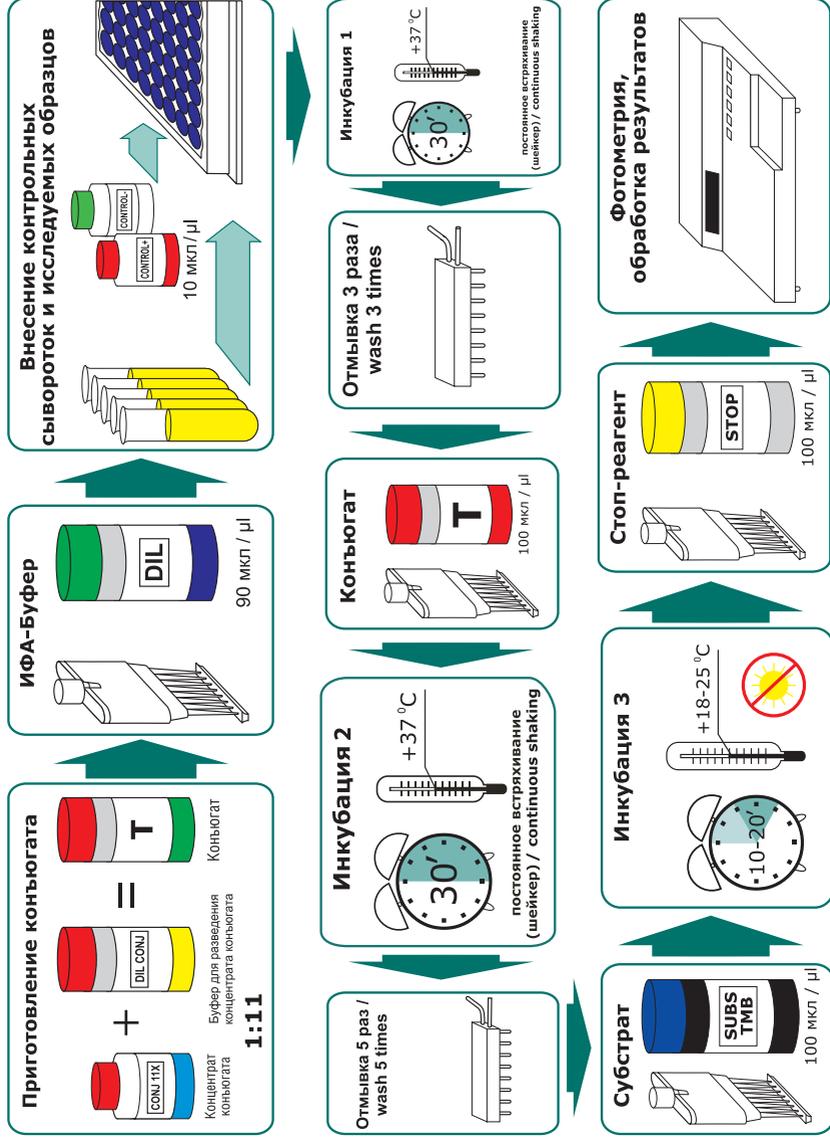


XEMA Co., Ltd.  
The 9th Parkovaya str., 48  
105264 Moscow, Russia  
Tel./fax: +7(495) 510-57-07  
e-mail: [redkin@xema-medica.com](mailto:redkin@xema-medica.com)  
internet: [www.xema-medica.com](http://www.xema-medica.com)



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

# Схема проведения анализа / Test procedure



**K104M**

**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	6
10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ	9
11. ЛИТЕРАТУРА	10

**CONTENT**

1. INTENDED USE	11
2. SUMMARY AND EXPLANATION	11
3. PRINCIPLE OF THE TEST	11
4. WARNINGS AND PRECAUTIONS	12
5. KIT COMPONENTS	13
6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE	14
7. TEST PROCEDURE	14
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 IgM АНТИТЕЛ К АНТИГЕНАМ HERPES SIMPLEX VIRUS 1 И 2 ТИПА (HSV 1, 2) В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ**

### **1. НАЗНАЧЕНИЕ**

**1.1.** Набор реагентов «HSV 1,2 IgM-ИФА» предназначен для качественного определения IgM антител к антигенам Herpes Simplex Virus 1 и 2 типа (HSV 1,2) в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

**1.2.** Простой герпес (герпетическая инфекция) - это хроническое рецидивирующее инфекционное заболевание, вызванное вирусами простого герпеса типов 1 и 2. Болезнь протекает в локализованных формах с пузырьчатыми высыпаниями на коже и слизистых оболочках, а также в генерализованных формах с поражением многих органов.

**1.3.** При заражении вирусом простого герпеса (ВПГ, HSV) 1 и 2 типов происходит последовательный синтез антител классов IgM, IgG, IgA. Иммуноглобулины класса IgM появляются после десятого дня с момента инфицирования, их уровень нарастает в течение двух недель. Через 7–10 дней после появления IgM синтезируются специфические к ВПГ иммуноглобулины класса IgG, которые присутствуют в организме человека на протяжении всей жизни.

**1.4.** Доказательством первичной герпетической инфекции является определение специфических IgM и\или четырехкратное увеличение уровня специфических антител класса IgG в парных сыворотках, взятых у больного с интервалом в 14–20 дней. Появление антител класса IgM у лица, инфицированного ВПГ, свидетельствует об обострении болезни.

### **2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА**

Определение IgM антител к антигенам Herpes Simplex Virus 1 и 2 типа (HSV 1,2) основано на использовании принципа «IgM-захват» твердофазного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы моноклональные антитела к IgM. Антитела из образца связываются с антителами к IgM на твердой фазе. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата антигена HSV 1,2 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 IgM антител к антигенам HSV 1,2 в исследуемом образце. Индекс позитивности (ИП, %) IgM антител к антигенам HSV 1,2 в исследуемых образцах рассчитывается по формуле, приведенной в инструкции.

### 3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

#### 3.1. Специфичность и чувствительность.

Набор реагентов «HSV 1,2 IgM-ИФА» определяет коммерческую панель сывороток Anti-HSV1/2 Mixed Titer Performance Panel PTH201 производства Boston Biomedica Company (США) в соответствии с паспортными данными и коррелирует со значениями, полученными на наборе реагентов Gull EIA HSV1/2-IgM (lot 5FKAVG, 5BKARA). Панель содержит 9 положительных и 16 отрицательных образцов. При исследовании специфичности с использованием 47 сывороток, отрицательных на IgM антитела к HSV 1,2 на наборах реагентов DiaSorin (Италия) и NovaTec (Германия), все образцы были определены как отрицательные.

#### 3.2. Воспроизводимость.

Коэффициент вариации результатов определения содержания IgM антител к антигенам Herpes Simplex Virus 1 и 2 типа (HSV 1,2) в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «HSV 1,2 IgM-ИФА» не превышает 8.0%.

Коэффициент вариации (CV) для образцов, измеренных на двух сериях набора реагентов «HSV 1,2 IgM-ИФА» (Intra-assay)

Образец, №	Кол-во повторов	Значение, ОП средняя	CV1, %	CV2, %
1	32	0.547	7.4	6.2
2	32	1.548	5.1	4.8

Коэффициент вариации (CV) для образцов, измеренных на одной серии набора реагентов «HSV 1,2 IgM-ИФА» в течение трех дней (Inter-assay)

Образец, №	Кол-во повторов	Значение, ОП средняя	CV1, %
1	8	0.785	8.2
2	8	1.95	6.4

## 4. СОСТАВ НАБОРА

	Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1	<b>P10MZ</b>	SORB MTP	<b>Планшет</b> 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2	<b>CN104MZ CP104MZ</b>	CONTROL – CONTROL+	<b>Контрольные сыворотки</b> (отрицательный и положительный контроли) на основе сыворотки крови человека с известным содержанием IgM антител HSV 1,2, готовы к использованию (0.5 мл и 0.2 мл соответственно)	2	шт.	прозрачная бесцветная жидкость и прозрачная жидкость красного цвета
3	<b>T104MXZ</b>	CONJ 11X	<b>Концентрат конъюгата</b> , (1.25 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость синего цвета
4	<b>ST104MZ</b>	DIL CONJ	<b>Буфер для разведения</b> концентрата конъюгата, готов к использованию (12 мл)	1	шт	прозрачная жидкость ярко-желтого цвета
5	<b>S011Z</b>	DIL	<b>ИФА-Буфер</b> , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость синего цвета
6	<b>R055Z</b>	SUBS TMB	<b>Раствор субстрата тетраметилбензидина</b> (ТМБ), готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
7	<b>S008Z</b>	BUF WASH 26X	<b>Концентрат отмывочного раствора</b> (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26x-кратный (22 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
8	<b>R050Z</b>	STOP	<b>Стоп-реагент</b> , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
9	<b>N003</b>		Бумага для заклеивания планшета	2	шт.	-
10	<b>K104MI</b>		Инструкция по применению Набора реагентов «HSV 1,2 IgM-ИФА»	1	шт.	-
11	<b>K104MQ</b>		Паспорт контроля качества Набора реагентов «HSV 1,2 IgM-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 или термостатируемый шейкер, поддерживающий температуру  $+37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы в диапазоне 10–250 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).

### **7.4. Приготовление конъюгата.**

Приготовьте конъюгат: для этого разбавьте концентрат конъюгата в 11 раз буфером для разведения концентрата конъюгата. ВНИМАНИЕ! Разбавленный раствор конъюгата не хранится! Разбавляйте только ту часть концентрата конъюгата, которая необходима для данной постановки.

Пример: 100 мкл концентрата конъюгата + 1000 мкл буфера для разведения концентрата конъюгата.

## 8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

**8.1.** Набор реагентов «HSV 1,2 IgM-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.

**8.2.** Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 46 исследуемых образцов и 2 проб 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;
- контрольные сыворотки после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °С не более 2 месяцев;
- оставшийся неиспользованным концентрат отмывочного раствора следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора. Приготовленный отмывочный раствор следует хранить при комнатной температуре (+18...+25 °С) не более 15 суток или при температуре +2...+8 °С не более 45 суток.

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

**8.4.** Для проведения анализа не следует использовать гемолизованную, мутную сыворотку (плазму) крови, а также сыворотку (плазму) крови, содержащую азид натрия. Если анализ производится не в день взятия крови, сыворотку (плазму) следует хранить при температуре -20 °С. Повторное замораживание-оттаивание образцов сыворотки (плазмы) крови не допускается. Допускается исследование сывороток, хранение которых с момента забора крови осуществлялось при температуре от +2 °С до +8 °С не более 7 суток.

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

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

**8.7.** 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 повторях и 4 лунки для контрольных сывороток (Отрицательный контроль 3 лунки, Положительный контроль 1 лунка).
2	<b>Внесите во все лунки планшета по 90 мкл ИФА-Буфера.</b>
3	<b>Внесите в соответствующие лунки</b> в дубликатах <b>по 10 мкл контрольных сывороток</b> . В остальные лунки внесите в дубликатах <b>по 10 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови</b> . Внесение контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
4	Аккуратно перемешайте содержимое планшета круговыми движениями по горизонтальной поверхности, заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета. <b>Инкубируйте планшет в течение 30 минут при температуре +37°С и постоянном встряхивании 500-600 об/мин.</b>

5	По окончании инкубации удалите содержимое лунок аспирацией (например, с помощью водоструйного насоса) или декантированием и <b>отмойте лунки 3 раза</b> . При каждой отмывке добавьте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п. 7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок.
6	<b>Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.</b>
7	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и <b>инкубируйте его в течение 30 минут при температуре +37 °С и постоянном встряхивании 500-600 об/мин.</b>
8	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и <b>отмойте лунки 5 раз.</b>
9	<b>Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина.</b> Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2–3 мин. <b>Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °С) в течение 10–20 минут</b> в зависимости от степени развития синего окрашивания.
10	<b>Внесите во все лунки</b> с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, <b>по 100 мкл стоп-реагента</b> , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
11	<b>Измерьте величину оптической плотности (ОП)</b> содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования <b>при длине волны 450 нм</b> . Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра выставляйте по воздуху.
12	<p><b>Рассчитайте содержание IgM антител к антигенам Herpes Simplex Virus 1 и 2 типа (HSV 1,2) в исследуемых образцах.</b> Для этого:</p> <p>1. Рассчитайте среднее значение ОП Отрицательного контроля:</p> $(CN104MZ)_{Cp} = (OP1 (CN104MZ) + OP2 (CN104MZ) + OP3 (CN104MZ)) / 3;$ <p>Результаты анализа считать достоверными, если:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- ОП Положительного контроля не ниже 1 оптических единиц (ОЕ);</li> <li>- ОП Отрицательного контроля не выше 0.15 ОЕ во всех лунках;</li> <li>- ОП каждого значения Отрицательного контроля выходит не более чем в два раза от среднего значения отрицательного контроля, т. е. <math>OP (CN104MZ)_{Cp} \times 0.5 &lt; OPn (CN104MZ) &lt; OP (CN104MZ)_{Cp} \times 2.0</math>;</li> </ul> <p>если одно из значений Отрицательного контроля выходит за пределы этого интервала, то его значение не участвует в расчете ОП (CN104MZ)<sub>Cp</sub>.</p> <p>2. Рассчитайте уровень граничного значения Cut off, для этого к среднему значению ОП Отрицательного контроля прибавьте 0.2</p> <p><b>Cut off = ОП (CN104MZ)<sub>Cp</sub> + 0.2</b></p> <p>3. Рассчитайте Индекс Позитивности (ИП, %) для каждого исследуемого образца, для этого ОП образца разделите на значение Cut off</p> <p><b>ИП = ОПобразца / Cut off</b></p>

### Альтернативный формат.

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов – исследуемые образцы в 2 повторах и 4 лунки для контрольных сывороток (Отрицательный контроль 3 лунки, Положительный контроль 1 лунка).
2	<b>Внесите во все лунки планшета по 90 мкл ИФА-Буфера.</b>

продолжение таблицы на стр 8

3	<b>Внесите в соответствующие лунки</b> в дубликатах <b>по 10 мкл контрольных сывороток</b> . В остальные лунки внесите в дубликатах <b>по 10 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови</b> . Внесение контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
4	Аккуратно перемешайте содержимое планшета круговыми движениями по горизонтальной поверхности, заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета. <b>Инкубируйте планшет в течение 60 минут при температуре +37 °С.</b>
5	По окончании инкубации удалите содержимое лунок аспирацией (например, с помощью водоструйного насоса) или декантированием и <b>отмойте лунки 3 раза</b> . При каждой отмывке добавьте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п. 7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок.
6	<b>Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.</b>
7	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и <b>инкубируйте планшет в течение 30 минут при температуре +37 °С.</b>
8	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и <b>отмойте лунки 5 раз.</b>
9	<b>Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензи-дина</b> . Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2–3 мин. <b>Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °С) в течение 10–20 минут</b> в зависимости от степени развития синего окрашивания.
10	<b>Внесите во все лунки</b> с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, <b>по 100 мкл стоп-реагента</b> , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
11	<b>Измерьте величину оптической плотности (ОП)</b> содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования <b>при длине волны 450 нм</b> . Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра выставляйте по воздуху.
12	<p><b>Рассчитайте содержание IgM антител к антигенам Herpes Simplex Virus 1 и 2 типа (HSV 1,2) в исследуемых образцах.</b> Для этого:</p> <p>1. Рассчитайте среднее значение ОП Отрицательного контроля:</p> $(CN104MZ)Cp = (OP1 (CN104MZ) + OP2 (CN104MZ) + OP3 (CN104MZ)) / 3;$ <p>Результаты анализа считать достоверными, если:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- ОП Положительного контроля не ниже 1 оптических единиц (ОЕ);</li> <li>- ОП Отрицательного контроля не выше 0.15 ОЕ во всех лунках;</li> <li>- ОП каждого значения Отрицательного контроля отличается не более чем в два раза от среднего значения отрицательного контроля, т. е. <math>OP (CN104MZ)Cp \times 0.5 &lt; OPn (CN104MZ) &lt; OP (CN104MZ)Cp \times 2.0</math>;</li> </ul> <p>если одно из значений Отрицательного контроля выходит за пределы этого интервала, то его значение не участвует в расчете ОП (CN104MZ)Cp.</p> <p>2. Рассчитайте уровень граничного значения Cut off, для этого к среднему значению ОП Отрицательного контроля прибавьте 0.2</p> <p><b>Cut off = ОП (CN104MZ)Cp + 0.2</b></p> <p>3. Рассчитайте Индекс Позитивности (ИП, %) для каждого исследуемого образца, для этого ОП образца разделите на значение Cut off</p> <p><b>ИП = ОП образца / Cut off</b></p>

## 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.

### Интерпретация результатов:

**При ИП > 1.1 образец положительный,**

**при ИП < 0.9 – отрицательный.**

При значении ИП, лежащем в промежутке от 0.91 до 1.09 – результат в пограничной зоне (+/-).

Такие сыворотки рекомендуется исследовать повторно. Если повторный полученный результат будет неопределенным, то следует провести тестирование сыворотки, полученной через 2–4 недели. В случае получения неопределенных результатов такие образцы считать отрицательными.

## 11. ЛИТЕРАТУРА

1. Исаков В.А., Борисова В.В., Исаков Д.В. Герпес: патогенез и лабораторная диагностика. Руководство для врачей – СПб: Лань – 1999 – с.192
2. Cowan F.M., Johnson A.M., Ashley R. et al. Relation ship between antibodies to herpes simplex virus (HSV) and symptoms of HSV infection // J. Infect. Dis. – 1996 – v.174 – p.470-475
3. Munday P.E., Vuddamalay J., Slomka M.J. et al. Role of type specific herpes simplex virus serology in the diagnosis and management of genital herpes // Sex Transm. Inf – 1998 – v.74 – p.175-178
4. Roest R.W., van der Meijden W.I., van Dijk G. et al. Prevalence and association between herpes simplex viruses types 1- and 2-specific antibodies in attendees at a sexually transmitted disease clinic. // Int Epidemiol. – 2001 – v.30 – p.580-588
5. Whitley R/I/ Herpes simplex virusinfections. In: Infection Diseases of the Fetus and Newborn Infants (Remington JS, Klein JO eds.) – Philadelphia: WB Saunders, 1990 – p.282-305

По вопросам, касающимся качества Набора «**HSV 1,2 IgM-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](mailto:rqc@xema.ru)  
интернет: [www.xema-medica.com](http://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 QUALITATIVE DETERMINATION OF IGM ANTIBODIES TO HSV 1/2 IN HUMAN SERUM OR PLASMA**

### **1. INTENDED USE**

A solid-phase enzyme immunoassay for the qualitative determination of IgM antibodies to HSV 1/2 in serum or plasma.

This kit is designed for measurement of IgM antibodies to HSV 1/2 in 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 46 unknown samples in duplicates.

### **2. SUMMARY AND EXPLANATION**

Herpes simplex virus (HSV)infection is a chronic recurrent infectious disease caused by Herpes simplex viruses, types 1 and 2. The disease may be manifested as a local skin and/or mucosal vesicular rash or as a generalized form with multi-organ damage.

During HSV infection, a sequential synthesis of HSV-specific IgM, IgG and IgA occurs. IgM antibodies appear 10 or more days following infection, their level continuously rising during two weeks. HSV-specific IgG appear 7–10 days following appearance of IgM and persist lifelong.

A primary HSV infection is diagnosed by appearance of HSV-specific IgM and/or a 4-fold increase of HSV-specific IgG in sequential samples taken with 14-20 days interval. Appearance of HSV-specific IgM in an HSV-infected person indicates exacerbation of the disease.

### **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 murine monoclonal antibodies to IgM. Antibodies from the specimen bind coated murine monoclonal antibodies to IgM on the microwell surface. Unbound material is removed by washing procedure. HSV 1,2, labelled with peroxidase enzyme, is 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. Positivity index (PI, %) is calculated by the formula (see Calculations).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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. It may cause skin irritation and burns.

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

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

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

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

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

**4.10.** Do not mix reagents from different lots.

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

**4.12.** Do not pipette reagents by mouth.

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

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

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

## 5.1. Contents of the Kit

## 5. KIT COMPONENTS

Symbol	Description	Qty	Units	Colour code	Stability of opened/ diluted components
1	HSV 1, 2 IgM EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp.date
2	Control sera (0.5 ml and 0.2 ml, resp.)	2	pcs	colourless; red	2 months
3	Conjugate concentrate, 1.25 ml	1	pcs	blue	Concentrate - until exp.date Diluted - 1 day at 2-8°C
4	Conjugate dilution buffer, 12 ml	1	pcs	bright yellow	until exp.date
5	EIA buffer 14 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 HSV 1, 2 IgM EIA	1	pcs		N/A
11	QC data sheet HSV 1, 2 IgM EIA	1	pcs		N/A

**5.2.** Equipment and material required but not provided

- Distilled or deionized water;
- Automatic or semiautomatic multichannel micropipettes, 90–250 µl, is useful but not essential;
- Calibrated micropipettes with variable volume, range volume 10–250 µl;
- Dry thermostat or thermostat shaker for 37 °C ±2 °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 4 wells for control samples CONTROL - CONTROL + (3 and 1 wells resp.) and two wells for each unknown sample. DO NOT REMOVE ADHESIVE SEALING TAPE FROM UNUSED STRIPS.
2	Pipet 90 µl of EIA buffer into each well.
3	Pipet 10 µl of control samples CONTROL - 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 and continuous shaking at 500-600 rpm.
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 working conjugate solution into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape.
7	Incubate 30 minutes at +37 °C and continuous shaking at 500-600 rpm.
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 air.

Alternative incubation:

1	Put the desired number of microstrips into the frame; allocate 4 wells for control samples CONTROL - CONTROL + (3 and 1 wells resp.) and two wells for each unknown sample. DO NOT REMOVE ADHESIVE SEALING TAPE FROM UNUSED STRIPS.
2	Pipet 90 µl of EIA buffer into each well.
3	Pipet 10 µl of control samples CONTROL - CONTROL + and unknown samples 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. Minimal quantity of washing solution should be 250 µl per well. Wash strips 3 times.
6	Dispense 100 µl of working conjugate solution into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape.
7	Incubate 30 minutes at +37 °C.

(Continuation see page 15)

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 air.

## 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.

For the assay to be valid, the following requirements should be met:

1. OD450 for CONTROL+ should be nlt 1 AU.
2. OD450 for CONTROL- should not be more than 0.15 AU for all replicates.
3. OD450 for any CONTROL- replicate should be within 50%-150% of the mean OD450 value for CONTROL-. If any value lies outside this range (although meets requirement #2), it should be discarded and not used for calculation of the mean OD450 value for CONTROL-.

## 9. CALCULATION OF RESULTS

**9.1.** Calculate the mean absorbance values (OD450) for CONTROL- in triplicates and each pair of samples.

**9.2.** Calculate the cut-off value: (mean OD450 for CONTROL-) +0.2.

**9.3.** Calculate Positivity Index (PI) for each sample:

PI = mean OD450(sample) / Cut-off

## 10. EXPECTED VALUES AND ASSAY LIMITATIONS

If PI value is greater than 1.1, the result is POSITIVE.

If PI value is less than 0.9, the result is NEGATIVE.

If PI value is between 0.9 and 1.1, the result is EQUIVOCAL. Such samples should be retested. If the result is equivocal again, a new sample should be obtained 2-4 weeks later and tested again. If the result remains equivocal, the sample should be considered negative.

Therapeutic 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 therapeutic measures.

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.

## 11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

### 11.1. Analytical specificity

Specificity of the test was evaluated on 47 serum specimens found negative in DiaSorin (Italy) and NovaTec (Germany). All tested specimens were found negative. Based on these data, specificity of the test is 100%.

### 11.2. Analytical sensitivity

The kit HSV1,2 IgM EIA was evaluated using panel of naturally occurring serum and plasma specimens from Boston Biomedica, Inc ( Anti-HSV1/2 Mixed Titer Performance Panel PTH201).

### 11.3. Precision

Intra-assay precision is shown below:

Serum, no	duplicated	value, K	CV1, %	CV2, %
1	32	0.547	7.4	6.2
2	32	1.548	5.1	4.8

Inter-assay precision is shown below:

Serum, no	duplicated	value, K	CV, %
1	8	0.785	8.2
2	8	1.95	6.4

## 12. LITERATURE

1. Isakov V.A., Borisova V.V., Isakov D.V. Herpes infection: pathogenesis and laboratory diagnostics. A guideline for physicians – St.-Petersburg, Lanj - 1999 - p.192
2. Cowan F.M., Johnson A.M., Ashley R. et al. Relation ship between antibodies to herpes simplex virus (HSV) and symptoms of HSV infection // J. Infect. Dis. - 1996 - v.174-p.470-475
3. Munday P.E., Vuddamalay J., Slomka M.J. et al. Role of type specific herpes simplex virus serology in the diagnosis and management of genital herpes // Sex Transm. Inf - 1998-v.74 - p.175-178
4. Roest R.W., van der Meijden W.I., van Dijk G. et al. Prevalence and association between herpes simplex viruses types 1- and 2-specific antibodies in attendees at a sexually transmitted disease clinic. // Int Epidemiol. - 2001 - v.30 - p.580-588
5. Whitley R/I/ Herpes simplex virusinfections. In: Infection Diseases of the Fetus and Newborn Infants (Remington JS, Klein JO eds.) - Philadelphia: WB Saunders, 1990-p.282-305

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 иммунохимической  
диагностики



RUSSIAN ASSOCIATION  
OF MEDICAL LABORATORY  
DIAGNOSTICS



РОССИЙСКАЯ АССОЦИАЦИЯ  
МЕДИЦИНСКИХ ЛАБОРАТОРНЫХ  
ДИАГНОСТИКОВ

### Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

**8 800 505 23 45**

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

### Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

#### Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

105043, г. Москва, а/я 58

105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1-й под., 5 этаж

тел.: +7 (495) 510-57 07, 737-39-36;

факс: +7 (495) 737-00-40

e-mail: info@xema.ru

www.xema-medica.com

ФООО «Хема», тел.: +7 (812) 271-24-41

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

e-mail: spb@xema.ru

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

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

литер А, корп. 8/К, офис 416

e-mail: hemma-test@yandex.ru

ТОВ «Хема», тел.: (044) 422-62-16;

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

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com





Instruction for use



**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ  
НАБОРА РЕАГЕНТОВ  
ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ  
IgG АНТИТЕЛ К АНТИГЕНАМ  
HELICOBACTER PYLORI  
В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ**

**«Helicobacter pylori IgG-ИФА»**

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF** **K119**

ТУ № 9398-119-18619450-2012

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ  
№ ФСР 2012/14171 от 21 декабря 2012 г.

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



На 96, 192 или 480 определений



Для *in vitro* диагностики



ООО "ХЕМА"

105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48

+7(495) 510-57-07

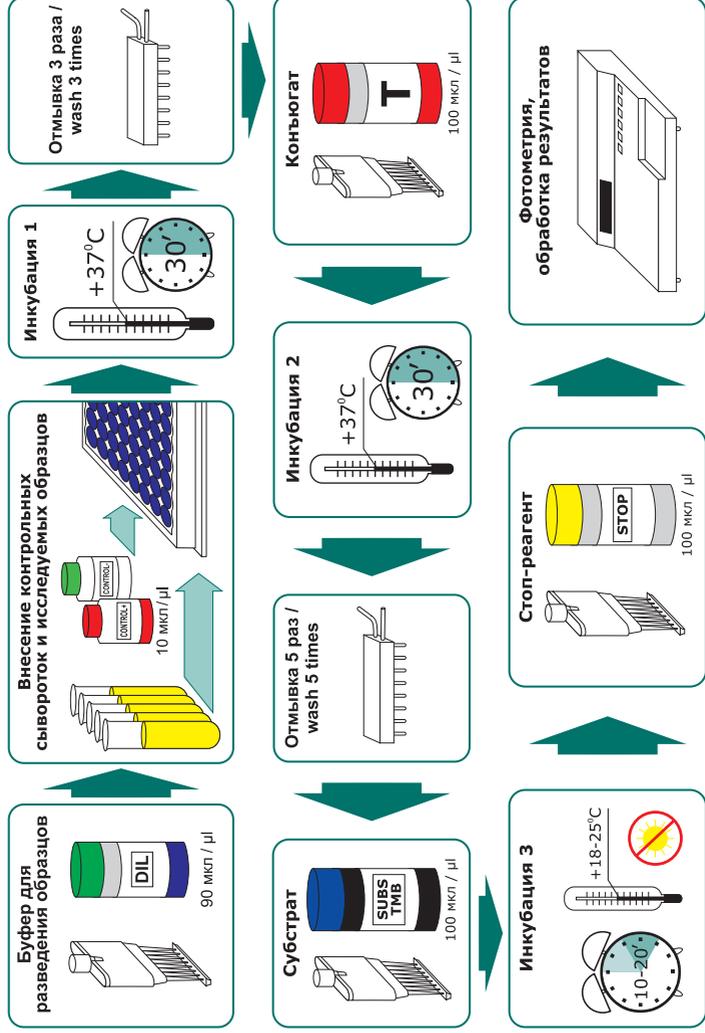
redkin@xema-medica.com

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



**K119**

**СОДЕРЖАНИЕ**

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

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

## **ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ IgG АНТИТЕЛ К АНТИГЕНАМ HELICOBACTER PYLORI В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «Helicobacter pylori IgG-ИФА»**

### **1. НАЗНАЧЕНИЕ**

**1.1.** Набор реагентов «Helicobacter pylori IgG-ИФА» предназначен для качественного определения концентрации IgG антител к антигенам Helicobacter pylori в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

**1.2.** H.pylori – широко распространенный микроорганизм, которым инфицирована половина населения земного шара. Его распространенность чрезвычайно высока в развивающихся странах и достаточно низка в развитых странах мира. По данным Всемирной организации гастроэнтерологов, в странах Восточной Европы и Азии инфицированность взрослого населения составляет 70–80 %.

Исследования последних десятилетий показали ведущую роль бактерии H. pylori в патогенезе поражений желудка и двенадцатиперстной кишки. H.pylori обнаруживают почти у 100 % взрослых пациентов с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки, примерно у 80 % больных язвенной болезнью желудка, у 92 % больных раком желудка и у 92 % больных с активным хроническим гастритом. Исследованиями доказано, что элиминация хеликобактера приводит к исчезновению гастрита и значительно уменьшает частоту рецидивов язвы двенадцатиперстной кишки.

**1.3.** Хеликобактериоз – хроническая инфекция с длительным, часто бессимптомным течением. В случае возникновения симптомы не отличаются от клинических проявлений гастродуоденита (обычно – постоянные боли в области эпигастрия). H.pylori очень часто присутствует у пациентов, не имеющих клинических проявлений заболевания.

**1.4.** Штаммы H.pylori чрезвычайно гетерогенны и разделяются на две большие группы – штаммы, экспрессирующие антигены VacA и CagA (тип I), и штаммы, которые не экспрессируют эти антигены (тип II). Штаммы первой группы доминируют у пациентов с язвенной болезнью и раком желудка. Белок CagA проникает в клетки эпителия слизистой оболочки, приводит к нарушению митоза и индуцирует хромосомную нестабильность. Если инфекция вызвана штаммами H. pylori, экспрессирующими белок CagA, в организме человека вырабатываются антитела специфичные к этому антигену. Антитела к белкам CagA выявляются у 80–100 % пациентов с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки и у 94 % больных раком желудка. Поэтому выявление антител, специфичных к белку CagA, является информативным маркером в диагностике язвенной болезни двенадцатиперстной кишки и рака желудка.

**1.5.** Штаммы *H.pylori* II типа, которые не экспрессируют антигены *CagA* и *VacA*, не ассоциируются с тяжелыми поражениями желудка и двенадцатиперстной кишки, в частности, язвенной болезнью и раком.

**1.6.** Инфекция *H.pylori* может быть обнаружена как инвазивными, так и неинвазивными диагностическими методами. Инвазивные методы включают исследование биоптатов слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта гистологическими, культуральными методами или быстрым уреазным тестом, однако, неоднородное распространение *H.pylori* по слизистой часто приводит к ложноотрицательным результатам. К неинвазивным методам диагностики относятся серологические исследования сыворотки пациента на наличие специфических к *H.pylori* антител и дыхательный уреазный тест с применением радиоактивно меченой мочевины. Иммуоферментный анализ на выявление специфических антител классов IgG/IgA/IgM является минимально инвазивным, быстрым, высокочувствительным и информативным методом диагностики инфекции *H.pylori*.

## **2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА**

Определение IgG антител к антигенам *Helicobacter pylori* основано на использовании непрямого варианта твердофазного иммуоферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизован рекомбинантный белок *CagA* *H.pylori*. Антитела из образца связываются с антигеном на поверхности лунки. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата – мышинных моноклональных антител к IgG 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 содержанию специфических IgG антител к антигенам *Helicobacter pylori*. Индекс позитивности (ИП, %) IgG антител к антигенам *Helicobacter pylori* в исследуемых образцах рассчитывается по формуле, приведенной в инструкции.

### 3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

#### 3.1. Чувствительность и специфичность.

Чувствительность Набора реагентов «Helicobacter pylori IgG-ИФА» оценивали с помощью панели охарактеризованных сывороток, которая состоит из 42 образцов сывороток крови человека, содержащих антитела класса IgG к H. pylori. В Наборе реагентов «Helicobacter pylori IgG-ИФА» все сыворотки были определены как положительные. При исследовании 158 отрицательных на антитела к H. pylori сывороток показатель специфичности составил более 98%.

#### 3.2. Воспроизводимость.

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

Коэффициент вариации (CV) для образцов, измеренных на двух сериях Набора реагентов «Helicobacter pylori IgG-ИФА» (Intra-assay)

образец, №	кол-во повторов	значение, ИП средний	CV1, %	CV2, %
1	32	3.4	2.9	2.8
2	32	9.1	4.8	5.0

Коэффициент вариации (CV) для образцов, измеренных на одной серии Набора реагентов «Helicobacter pylori IgG-ИФА» в течение трех дней (Inter-assay)

образец, №	кол-во повторов	значение, ИП средний	CV1, %
1	8	3.1	3.9
2	8	9.0	6.2

## 4. СОСТАВ НАБОРА

	Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1	P119Z	SORB MTP	<b>Планшет</b> 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт	-
2	CN119Z CP119Z	CONTROL - CONTROL+	<b>Контрольные сыворотки</b> (отрицательный и положительный контроли) на основе сыворотки крови человека с известным содержанием IgG антител к антигенам <i>Helicobacter pylori</i> , готовы к использованию (0.5 мл и 0.2 мл соответственно)	2	шт	прозрачная бесцветная жидкость и прозрачная жидкость красного цвета
3	T119Z	CONJ HRP	<b>Конъюгат</b> , готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная жидкость красного цвета
4	S011Z	DIL	<b>ИФА-Буфер</b> , готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная жидкость синего цвета
5	R055Z	SUBS TMB	<b>Раствор субстрата тетраметилбензидина</b> (ТМБ), готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
6	S008Z	BUF WASH 26X	<b>Концентрат отмывочного раствора</b> (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26х-кратный (22 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
7	R050Z	STOP	<b>Стоп-реагент</b> , готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
8	N003	-	Бумага для заклеивания планшета	2	шт	-
9	K119I	-	Инструкция по применению Набора реагентов « <i>Helicobacter pylori</i> IgG-ИФА»	1	шт	-
10	K119Q	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов « <i>Helicobacter pylori</i> IgG-ИФА»	1	шт	-

## 5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

**5.1.** Потенциальный риск применения Набора – класс 2а (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 °С ±0.1 °С;
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы в диапазоне 10–250 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 выдерживать 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 «*Helicobacter pylori* IgG-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 46 исследуемых образцов и 2 проб 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;
- Буфер для разведения образцов, конъюгат, стоп-реагент после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- контрольные сыворотки 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. Допускается исследование сывороток, хранение которых с момента забора крови осуществлялось при температуре от +2 °С до +8 °С не более 7 суток.

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

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

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

## 9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	<b>Поместите в рамку необходимое количество стрипов</b> – исследуемые образцы в 2 повторах и 4 лунки для контрольных сывороток (Отрицательный контроль 3 лунки, Положительный контроль 1 лунка).
2	<b>Внесите во все лунки планшета по 90 мкл ИФА-Буфер.</b>
3	<b>Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 10 мкл контрольных сывороток.</b> В остальные лунки внесите в дубликатах <b>по 10 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови.</b> Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
4	<b>ВНИМАНИЕ!</b> При внесении образцов сыворотки (плазмы) крови происходит изменение цвета раствора.
5	Аккуратно перемешайте содержимое планшета круговыми движениями по горизонтальной поверхности, заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета. <b>Инкубируйте планшет в течение 30 минут при температуре +37 °С.</b>
6	По окончании инкубации удалите содержимое лунок аспирацией (например, с помощью водоструйного насоса) или декантированием и <b>отмойте лунки 3 раза.</b> При каждой отмывке добавьте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п.7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок.
7	<b>Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.</b>
8	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и <b>инкубируйте</b> его в течение <b>30 минут при температуре +37 °С.</b>
9	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и <b>отмойте лунки 5 раз.</b>
10	<b>Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина.</b> Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2-3 мин. <b>Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °С) в течение 10–20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.</b>
11	<b>Внесите во все лунки</b> с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, <b>по 100 мкл стоп-реагента,</b> при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
12	<b>Измерьте величину оптической плотности (ОП)</b> содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования <b>при длине волны 450 нм.</b> Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра выставляйте по воздуху.

13	<p><b>Рассчитайте содержание антител к антигенам в исследуемых образцах.</b> Для этого:</p> <p>1. Рассчитайте среднее значение ОП Отрицательного контроля:</p> $\text{ОП (CN119)Ср} = (\text{ОП1 (CN119)} + \text{ОП2 (CN119)} + \text{ОП3 (CN119)}) / 3;$ <p>Результаты анализа считать достоверными, если:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- ОП <b>Положительного контроля</b> не ниже <b>0.6 оптических единиц (ОЕ)</b>;</li> <li>- ОП <b>Отрицательного контроля</b> не выше <b>0.15 ОЕ</b> во всех лунках;</li> <li>- ОП каждого значения Отрицательного контроля отличается не более чем в два раза от среднего значения отрицательного контроля, т.е. <math>\text{ОП (CN119)Ср} \times 0.5 &lt; \text{ОПn (CN119)} &lt; \text{ОП (CN119)Ср} \times 2.0</math>;</li> </ul> <p>если одно из значений Отрицательного контроля выходит за пределы этого интервала, то его значение не участвует в расчете ОП (CN119)Ср.</p> <p>2. Рассчитайте уровень граничного значения Cut off, для этого к среднему значению ОП Отрицательного контроля прибавьте 0.3</p> $\text{Cut off} = \text{ОП (CN119)Ср} + 0.3$ <p>3. Рассчитайте Индекс Позитивности (ИП, %) для каждого исследуемого образца, для этого ОП образца разделите на значение Cut off</p> $\text{ИП} = \text{ОПобразца} / \text{Cut off}$
----	---

## 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.

Интерпретация результатов:

При  $\text{ИП} > 1.1$  образец положительный,  
при  $\text{ИП} < 0.9$  – отрицательный.

При значении ИП, лежащем в промежутке от 0.91 до 1.09 – результат в пограничной зоне (+/-). Такие сыворотки рекомендуется исследовать повторно. Если повторный полученный результат будет неопределенным, то следует провести тестирование сыворотки, полученной через 2–4 недели. В случае получения неопределенных результатов такие образцы считать отрицательными. При интерпретации результатов исследований детских сывороток уровень граничного значения должен быть пониженным на 10%.

Результат исследования детских сывороток		Результат исследования сывороток взрослых	
ИП образца $> 0.9$	положительный	ИП образца $> 1.1$	положительный
$0.8 \leq \text{ИПобразца} \leq 0.9$	неопределенный	$0.9 \leq \text{ИП образца} \leq 1.1$	неопределенный
ИП образца $< 0.8$	отрицательный	ИП образца $< 0.9$	отрицательный

Использование индекса позитивности позволяет проводить полуколичественный сравнительный анализ уровня специфических антител в парных сыворотках крови. ИП в пределах 1.1–7.0 пропорционален содержанию специфических антител класса IgG. Это позволяет проводить исследование парных сывороток полученных от пациентов с интервалом в 2–4 недели.

Если ИП образца составляет выше 7.0 для корректной оценки относительно содержания специфических антител, рекомендуется провести повторный анализ образца предварительно разведенного раствором для разведения сывороток в 10 раз, при определении индекса позитивности в таком случае следует умножить полученное значение ИП на 10.

Такой способ интерпретации результатов анализа позволяет сравнивать уровень специфических антител к *H. pylori* в динамике.

**Интерпретация результатов определения антител классов IgG, IgA и IgM специфичных к белку CagA *H.pylori***

Результат определения антител к белку CagA <i>H.pylori</i>			Интерпретация результата
IgG*	IgA**	IgM	
Отрицательный	Отрицательный	Отрицательный	Образец не содержит специфических антител к CagA <i>H.pylori</i> , либо их концентрация ниже предела чувствительности анализа
Отрицательный	Положительный	Положительный	Вероятная ранняя стадия инфекции, рекомендуется провести повторные исследования через три недели
Отрицательный	Положительный	Отрицательный	
Отрицательный	Отрицательный	Положительный	
Положительный	Отрицательный	Отрицательный	Образец содержит специфические антитела к белку CagA <i>H.pylori</i> , рекомендуется провести комплекс дополнительных обследований: эндоскопия, уреазный тест, бактериология.
Положительный	Положительный	Положительный или Отрицательный	

\* – Исследованиями доказано, что снижение титров специфических антител класса IgG является достоверным показателем эффективности терапии и эрадикации *H.pylori*.

\*\* – Специфические антитела класса IgA при инфицировании *H.pylori* значительно чаще обнаруживаются у больных раком и язвой желудка, чем у пациентов с хроническими гастритами.

## 11. ЛИТЕРАТУРА

1. Кожанова М.Г. *Helicobacter pylori*: роль в развитии гастродуоденальных заболеваний и методы диагностики // Клиническая лабораторная диагностика. – 1999. – № 11.- С. 52-55.
2. Кучерявый Ю.А. Инфекция *Helicobacter pylori* и заболевания поджелудочной железы // Клиническая фармакология и терапия. – 2004. – Т. 13, № 1. – С. 40-43.
3. Bermejo F, Boixeda D., Gisbert J.P. et al. Concordance between noninvasive tests in detecting *Helicobacter pylori* and potential use of serology for monitoring eradication in gastric ulcer // *J Clin Gastroenterol.* – 2000. – V.31 N.2 – P.137-41.
4. Holtmann G., Talley N.J., Mitchell H., Hazell S. Antibody response to specific *H. pylori* antigens in functional dyspepsia, duodenal ulcer disease, and health // *Am. J. Gastroenterol.* – 1998. – Vol.93 N.8 – P.1222-1227.
5. Klaamas K., Held M., Wadström T., Lipping A., Kurtenkov O. IgG immune response to *Helicobacter pylori* antigens in patients with gastric cancer as defined by ELISA and immunoblotting. // *Int. J. Cancer.* – 1996 – Vol.67, N.1 – P.1-5.
6. Kosunen T.U., Seppälä K., Saran S. Association of *Helicobacter pylori* IgA antibodies with the risk of peptic ulcer disease and gastric cancer // *World J Gastroenterol.* – 2005. – V.11, N.43 – P.6871-6874.
7. Kosunen T.U., Seppälä K., Sarna S., Sipponen P. // Diagnostic value of decreasing IgG, IgA, and IgM antibody titres after eradication of *Helicobacter pylori*. – *Lancet.* – 1992. – V.339 N.8798 – P.893-895.
8. Me´graud F., Lehours P. *Helicobacter pylori* Detection and Antimicrobial Susceptibility Testing. // *Clin. Microbiol. Rev.* – 2007. – Vol. 20, No. 2. – p. 280-322.
9. Umeda M., Murata-Kamiya N., Saito Y. et al. *Helicobacter pylori* CagA Causes Mitotic Impairment and Induces Chromosomal Instability // *J. of Bio. Chem.* – 2009 – No. 284 – P.22166-22172
10. WGO Practice Guideline – *Helicobacter Pylori* in developing countries. – 2005. – p.54

По вопросам, касающимся качества Набора «**Helicobacter pylori IgG-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](mailto:info@xema.ru); [rqc@xema.ru](mailto:rqc@xema.ru)

интернет: [www.xema.ru](http://www.xema.ru); [www.xema-medica.com](http://www.xema-medica.com)

Руководитель службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА»,

к. б. н. Д. С. Кострикин



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



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;

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  
IgM АНТИТЕЛ К АНТИГЕНАМ  
HELICOBACTER PYLORI В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ**

**«Helicobacter pylori IgM-ИФА»**

**A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY  
FOR THE QUALITATIVE DETERMINATION  
OF IgM ANTIBODIES TO HELICOBACTER PYLORI  
IN HUMAN SERUM OR PLASMA**

**Helicobacter pylori IgM EIA**

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF** **K119M**

ТУ № 9398-1191-18619450-2012

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ  
№ ФСР 2012/14172 от 21 декабря 2012 г.

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



For 96 determinations / На 96 определений



Для *in vitro* диагностики



XEMA Co., Ltd.

The 9th Parkovaya str., 48

105264 Moscow, Russia

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

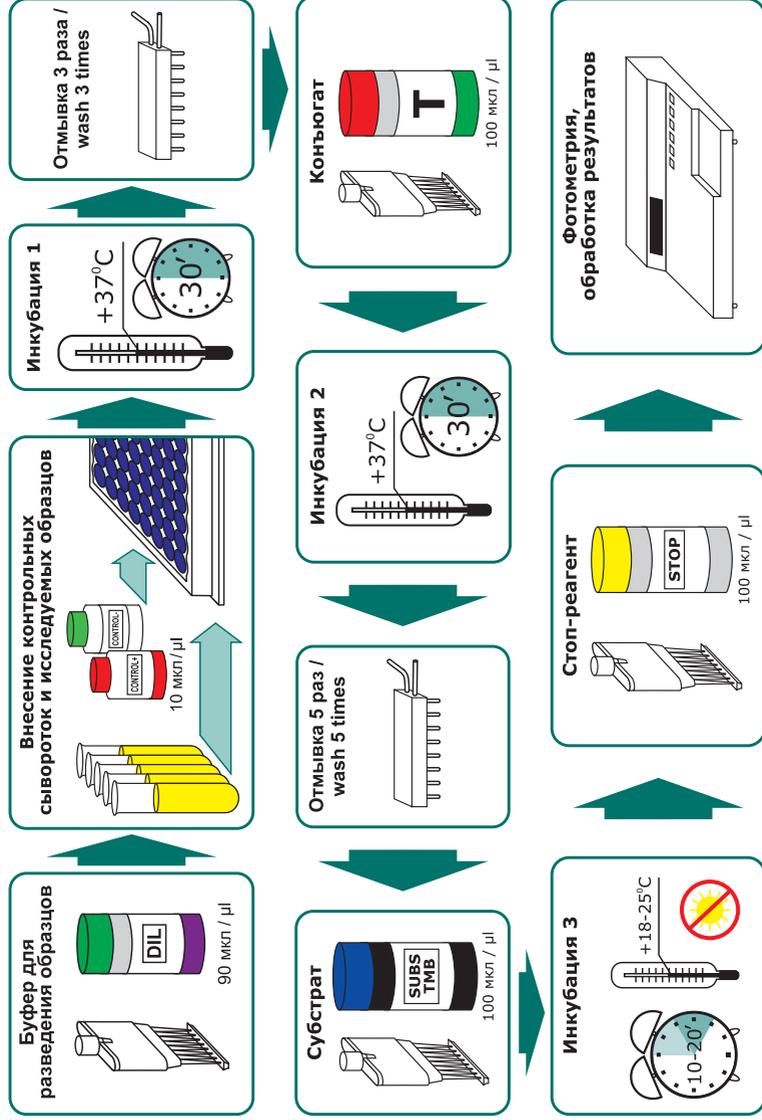
e-mail: redkin@xema-medica.com

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



**K119M**

**СОДЕРЖАНИЕ**

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

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

## **ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ IgM АНТИТЕЛ К АНТИГЕНАМ HELICOBACTER PYLORI В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «Helicobacter pylori IgM-ИФА»**

### **1. НАЗНАЧЕНИЕ**

**1.1.** Набор реагентов «Helicobacter pylori IgM-ИФА» предназначен для качественного определения концентрации IgM антител к антигенам Helicobacter pylori в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

**1.2.** H.pylori – широко распространенный микроорганизм, которым инфицирована половина населения земного шара. Его распространенность чрезвычайно высока в развивающихся странах и достаточно низка в развитых странах мира. По данным Всемирной организации гастроэнтерологов, в странах Восточной Европы и Азии инфицированность взрослого населения составляет 70–80 %.

Исследования последних десятилетий показали ведущую роль бактерии H. pylori в патогенезе поражений желудка и двенадцатиперстной кишки. H.pylori обнаруживают почти у 100 % взрослых пациентов с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки, примерно у 80 % больных язвенной болезнью желудка, у 92 % больных раком желудка и у 92 % больных с активным хроническим гастритом. Исследованиями доказано, что элиминация хеликобактера приводит к исчезновению гастрита и значительно уменьшает частоту рецидивов язвы двенадцатиперстной кишки.

**1.3.** Хеликобактериоз – хроническая инфекция с длительным, часто бессимптомным течением. В случае возникновения симптомы не отличаются от клинических проявлений гастродуоденита (обычно – постоянные боли в области эпигастрия). H.pylori очень часто присутствует у пациентов, не имеющих клинических проявлений заболевания.

**1.4.** Штаммы H.pylori чрезвычайно гетерогенны и разделяются на две большие группы – штаммы, экспрессирующие антигены VacA и CagA (тип I), и штаммы, которые не экспрессируют эти антигены (тип II). Штаммы первой группы доминируют у пациентов с язвенной болезнью и раком желудка. Белок CagA проникает в клетки эпителия слизистой оболочки, приводит к нарушению митоза и индуцирует хромосомную нестабильность. Если инфекция вызвана штаммами H. pylori, экспрессирующими белок CagA, в организме человека вырабатываются антитела специфичные к этому антигену. Антитела к белкам CagA выявляются у 80–100 % пациентов с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки и у 94 % больных раком желудка. Поэтому выявление антител, специфичных к белку CagA, является информативным маркером в диагностике язвенной болезни двенадцатиперстной кишки и рака желудка.

**1.5.** Штаммы *H.pylori* II типа, которые не экспрессируют антигены *CagA* и *VacA*, не ассоциируются с тяжелыми поражениями желудка и двенадцатиперстной кишки, в частности, язвенной болезнью и раком.

**1.6.** Инфекция *H.pylori* может быть обнаружена как инвазивными, так и неинвазивными диагностическими методами. Инвазивные методы включают исследование биоптатов слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта гистологическими, культуральными методами или быстрым уреазным тестом, однако, неоднородное распространение *H.pylori* по слизистой часто приводит к ложноотрицательным результатам. К неинвазивным методам диагностики относятся серологические исследования сыворотки пациента на наличие специфических к *H.pylori* антител и дыхательный уреазный тест с применением радиоактивно меченой мочевины. Иммуоферментный анализ на выявление специфических антител классов IgG/IgA/IgM является минимально инвазивным, быстрым, высокочувствительным и информативным методом диагностики инфекции *H.pylori*.

## **2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА**

Определение IgM антител к антигенам *Helicobacter pylori* основано на использовании непрямого варианта твердофазного иммуоферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизован рекомбинантный белок *CagA* *H.pylori*. Антитела из образца связываются с антигеном на поверхности лунки. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата – мышинных моноклональных антител к IgM 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 содержанию IgM антител к антигенам *Helicobacter pylori*. Индекс позитивности (ИП, %) IgM антител к антигенам *Helicobacter pylori* в исследуемых образцах рассчитывается по формуле, приведенной в инструкции.

### 3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

#### 3.1. Чувствительность и специфичность.

Чувствительность Набора реагентов «Helicobacter pylori IgM-ИФА» оценивали с помощью панели охарактеризованных сывороток, которая состоит из 42 образцов сывороток крови человека, содержащих антитела класса IgM к H. pylori. В Наборе реагентов «Helicobacter pylori IgM-ИФА» все сыворотки были определены как положительные. При исследовании 158 отрицательных на антитела к H. pylori сывороток показатель специфичности составил более 98%.

#### 3.2. Воспроизводимость.

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

Коэффициент вариации (CV) для образцов, измеренных на двух сериях Набора реагентов «Helicobacter pylori IgM-ИФА» (Intra-assay).

образец, №	кол-во повторов	значение, ИП средний	CV1, %	CV2, %
1	32	3.7	2.6	2.7
2	32	8.9	4.3	5.1

Коэффициент вариации (CV) для образцов, измеренных на одной серии Набора реагентов «Helicobacter pylori IgM-ИФА» в течение трех дней (Inter-assay)

образец, №	кол-во повторов	значение, ИП средний	CV1, %
1	8	3.2	3.9
2	8	8.7	6.1

## 4. СОСТАВ НАБОРА

	Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1	P119Z	SORB MTP	<b>Планшет</b> 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт	-
2	CN119MZ SP119MZ	CONTROL - CONTROL+	<b>Контрольные сыворотки</b> (отрицательный и положительный контроль) на основе сыворотки крови человека с известным содержанием IgM антител к антигенам <i>Helicobacter pylori</i> , готовы к использованию (0,5 мл и 0,2 мл соответственно)	2	шт	прозрачная бесцветная жидкость и прозрачная жидкость красного цвета
3	T119MZ	CONJ HRP	<b>Конъюгат</b> , готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная жидкость зеленого цвета
4	SP119MZ	DIL	<b>ИФА-Буфер</b> , готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная жидкость пурпурного цвета
5	R055Z	SUBS TMB	<b>Раствор субстрата тетраметилбензидина</b> (ТМБ), готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
6	S008Z	BUF WASH 26X	<b>Концентрат отмывочного раствора</b> (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26х-кратный (22 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
7	R050Z	STOP	<b>Стоп-реагент</b> , готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
8	N003	-	Бумага для заклеивания планшета	2	шт	-
9	K119MI	-	Инструкция по применению Набора реагентов « <i>Helicobacter pylori</i> IgM-ИФА»	1	шт	-
10	K119MQ	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов « <i>Helicobacter pylori</i> IgM-ИФА»	1	шт	-

## 5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

**5.1.** Потенциальный риск применения Набора – класс 2а (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  $+37 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0.1 \text{ }^\circ\text{C}$ ;
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы в диапазоне 10–250 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 выдерживать 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 «*Helicobacter pylori* IgM-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 46 исследуемых образцов и 2 проб 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;
- Буфер для разведения образцов, конъюгат, стоп-реагент после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- контрольные сыворотки 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. Допускается исследование сывороток, хранение которых с момента забора крови осуществлялось при температуре от +2 °С до +8 °С не более 7 суток.

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

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

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

## 9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	<b>Поместите в рамку необходимое количество стрипов</b> – исследуемые образцы в 2 повторах и 4 лунки для контрольных сывороток (Отрицательный контроль 3 лунки, Положительный контроль 1 лунка).
2	<b>Внесите во все лунки планшета по 90 мкл ИФА-Буфера.</b>
3	<b>Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 10 мкл контрольных сывороток.</b> В остальные лунки внесите в дубликатах <b>по 10 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови.</b> Внесение контрольных сывороток и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
4	<b>ВНИМАНИЕ!</b> При внесении образцов сыворотки (плазмы) крови происходит изменение цвета раствора.
5	Аккуратно перемешайте содержимое планшета круговыми движениями по горизонтальной поверхности, заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета. <b>Инкубируйте планшет в течение 30 минут при температуре +37 °С.</b>
6	По окончании инкубации удалите содержимое лунок аспирацией (например, с помощью водоструйного насоса) или декантированием и <b>отмойте лунки 3 раза.</b> При каждой отмывке добавьте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п.7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок.
7	<b>Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.</b>
8	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и <b>инкубируйте</b> его в течение <b>30 минут при температуре +37 °С.</b>
9	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и <b>отмойте лунки 5 раз.</b>
10	<b>Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина.</b> Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2-3 мин. <b>Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °С) в течение 10–20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.</b>
11	<b>Внесите во все лунки</b> с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, <b>по 100 мкл стоп-реагента,</b> при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
12	<b>Измерьте величину оптической плотности (ОП)</b> содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования <b>при длине волны 450 нм.</b> Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра выставляйте по воздуху.

**13 Рассчитайте содержание антител к антигенам в исследуемых образцах.** Для этого:

1. Рассчитайте среднее значение ОП Отрицательного контроля:

$$\text{ОП (CN119MZ)}_{\text{Ср}} = (\text{ОП1 (CN119MZ)} + \text{ОП2 (CN119MZ)} + \text{ОП3 (CN119MZ)}) / 3;$$

Результаты анализа считать достоверными, если:

- ОП **Положительного контроля** не ниже **0.6 оптических единиц** (ОЕ);
- ОП **Отрицательного контроля** не выше **0.15 ОЕ** во всех лунках.

2. Рассчитайте уровень граничного значения Cut off, для этого к среднему значению ОП Отрицательного контроля прибавьте 0.25

$$\text{Cut off} = \text{ОП (CN119MZ)}_{\text{Ср}} + 0.25$$

3. Рассчитайте Индекс Позитивности (ИП, %) для каждого исследуемого образца, для этого ОП образца разделите на значение Cut off

$$\text{ИП} = \text{ОП образца} / \text{Cut off}$$

**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.

Интерпретация результатов:

- При ИП > 1.1 образец положительный,
- при ИП < 0.9 – отрицательный.

При значении ИП, лежащем в промежутке от 0.91 до 1.09 – результат в пограничной зоне (+/-). Такие сыворотки рекомендуется исследовать повторно. Если повторный полученный результат будет неопределенным, то следует провести тестирование сыворотки, полученной через 2–4 недели. В случае получения неопределенных результатов такие образцы считать отрицательными. При интерпретации результатов исследований детских сывороток уровень граничного значения должен быть пониженным на 10%.

Результат исследования детских сывороток		Результат исследования сывороток взрослых	
ИП образца > 0.9	положительный	ИП образца > 1.1	положительный
0.8 ≤ ИП образца ≤ 0.9	неопределенный	0.9 ≤ ИП образца ≤ 1.1	неопределенный
ИП образца < 0.8	отрицательный	ИП образца < 0.9	отрицательный

Использование индекса позитивности позволяет проводить полуколичественный сравнительный анализ уровня специфических антител в парных сыворотках крови. ИП в пределах 1.1–7.0 пропорционален содержанию специфических антител класса IgG. Это позволяет проводить исследование парных сывороток полученных от пациентов с интервалом в 2–4 недели.

Если ИП образца составляет выше 7.0 для корректной оценки относительно содержания специфических антител, рекомендуется провести повторный анализ образца предварительно разведенного раствором для разведения сывороток в 10 раз, при определении индекса позитивности в таком случае следует умножить полученное значение ИП на 10. Такой способ интерпретации результатов анализа позволяет сравнивать уровень специфических антител к *H. pylori* в динамике.

## Интерпретация результатов определения антител классов IgG, IgA и IgM специфичных к белку CagA *H. pylori*

Результат определения антител к белку CagA <i>H. pylori</i>			Интерпретация результата
IgG*	IgA**	IgM	
Отрицательный	Отрицательный	Отрицательный	Образец не содержит специфических антител к CagA <i>H. pylori</i> , либо их концентрация ниже предела чувствительности анализа
Отрицательный	Положительный	Положительный	Вероятная ранняя стадия инфекции, рекомендуется провести повторные исследования через три недели
Отрицательный	Положительный	Отрицательный	
Отрицательный	Отрицательный	Положительный	
Положительный	Отрицательный	Отрицательный	Образец содержит специфические антитела к белку CagA <i>H. pylori</i> , рекомендуется провести комплекс дополнительных обследований: эндоскопия, уреазный тест, бактериология.
Положительный	Положительный	Положительный или Отрицательный	

\* – Исследованиями доказано, что снижение титров специфических антител класса IgG является достоверным показателем эффективности терапии и эрадикации *H. pylori*.

\*\* – Специфические антитела класса IgA при инфицировании *H. pylori* значительно чаще обнаруживаются у больных раком и язвой желудка, чем у пациентов с хроническими гастритами.

### 11. ЛИТЕРАТУРА

1. Кожанова М.Г. *Helicobacter pylori*: роль в развитии гастродуоденальных заболеваний и методы диагностики // Клиническая лабораторная диагностика. – 1999. – № 11. – С. 52-55.
2. Кучерявый Ю.А. Инфекция *Helicobacter pylori* и заболевания поджелудочной железы // Клиническая фармакология и терапия. – 2004. – Т. 13, № 1. – С. 40-43.
3. Bermejo F, Boixeda D., Gisbert J.P. et al. Concordance between noninvasive tests in detecting *Helicobacter pylori* and potential use of serology for monitoring eradication in gastric ulcer // J Clin Gastroenterol. – 2000. – V.31 N.2 – P.137-41.
4. Holtmann G., Talley N.J., Mitchell H., Hazell S. Antibody response to specific *H. pylori* antigens in functional dyspepsia, duodenal ulcer disease, and health // Am. J. Gastroenterol. – 1998. – Vol.93 N.8 – P.1222-1227.
5. Klaamas K., Held M., Wadström T., Lipping A., Kurtenkov O. IgG immune response to *Helicobacter pylori* antigens in patients with gastric cancer as defined by ELISA and immunoblotting. // Int. J. Cancer. – 1996 – Vol.67, N.1 – P.1-5.
6. Kosunen T.U., Seppälä K., Saran S. Association of *Helicobacter pylori* IgA antibodies with the risk of peptic ulcer disease and gastric cancer // World J Gastroenterol. – 2005. – V.11, N.43 – P.6871-6874.
7. Kosunen T.U., Seppälä K., Saran S., Sipponen P. // Diagnostic value of decreasing IgG, IgA, and IgM antibody titres after eradication of *Helicobacter pylori*. – Lancet. – 1992. – V.339 N.8798 – P.893-895.
8. Me'graud F., Lehours P. *Helicobacter pylori* Detection and Antimicrobial Susceptibility Testing. // Clin. Microbiol. Rev. – 2007. – Vol. 20, No. 2. – p. 280-322.
9. Umeda M., Murata-Kamiya N., Saito Y. et al. *Helicobacter pylori* CagA Causes Mitotic Impairment and Induces Chromosomal Instability // J. of Bio. Chem. – 2009 – No. 284 – P.22166-22172
10. WGO Practice Guideline – *Helicobacter Pylori* in developing countries. – 2005. – p.54

По вопросам, касающимся качества Набора «**Helicobacter pylori IgM-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 QUALITATIVE DETERMINATION OF IgM ANTIBODIES TO *HELICOBACTER PYLORI* IN HUMAN SERUM OR PLASMA**

### **1. INTENDED USE**

A solid-phase enzyme immunoassay for the qualitative determination of IgM antibodies to *Helicobacter pylori* in 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 46 unknown samples in duplicates.

### **2. SUMMARY AND EXPLANATION**

*H. pylori* is detectable in nearly 100% of adult patients with duodenal ulcer, about 80% of patients with gastric ulcer, more than 90% of gastric cancer patients and more than 90% of patients with active chronic gastritis. An association between *H. pylori* and gastric cancer is confirmed. In developing countries, where prevalence of *H. pylori* infection is high (ca. 70-80% of population for Eastern Europe and Asia), most children become infected by the age of 10, and gastric cancer rates are very high. In the USA and other developed countries, standards of hygiene and the increasing socioeconomic status of the population have reduced the incidence of infection, and in parallel, the rates of peptic ulcers and gastric cancer have declined. There is an excellent correlation between the clinical presentation of gastritis, the presence of *H. pylori* in the stomach and elevated serum *H. pylori* IgG antibody. Moreover, eradication of *H. pylori* from a patient leads to a recovery from gastritis and a significant reduction in duodenal ulcer recurrence. *H. pylori*-specific IgG antibody also falls significantly after successful antibacterial therapy. *H. pylori* strains are classified into two broad groups - those that express both VacA (vacuolising toxin) and CagA (cytotoxin-associated gene) (type I) and those that produce neither (type II). Type I strains are predominate in patients with ulcers and cancer, while type II strains are mostly associated with asymptomatic infections. 80-100% of patients with duodenal ulcer disease produce CagA antibodies against a 128 kd antigen compared with 60-63% of *H. pylori*-infected persons with gastritis only, indicating that serologic responses to the 128 kd protein are more prevalent among *H. pylori*-infected persons with duodenal ulcers than infected persons without peptic ulceration. In *H. pylori*-infected patients who develop gastric cancer or duodenal ulcer, serum IgG against CagA are found in 94% and 80-100% of patients, resp., thus indicating that detection of antibodies to CagA is a useful marker for diagnosis of gastric cancer and duodenal ulcer. For gastritis, prevalence of IgG-antibodies to *H. pylori* is lower – ca. 60-63%.

The IgM test detects antibodies formed 2-4 weeks after infection with *H. pylori*. IgG and IgA antibodies require up to two months after infection before becoming detectable. If the immune system fails to eradicate the bacterium, it will begin to colonise the mucosal lining of the upper gastrointestinal tract. In the absence of *H. pylori* IgG, IgM positivity should be considered as a reason for treatment only in case of existing active symptoms of gastric ulcer. If treatment is not chosen in the presence of *H. pylori* IgM antibodies, it is advisable to carry out IgG testing after 2-3 months to confirm infection eradication by the immune system.

### 3. PRINCIPLE OF THE TEST

This test is based on indirect enzyme immunoassay principle. Tested specimen is placed into the microwells coated with CagA protein of *Helicobacter pylori*. Antibodies from the specimen bind coated CagA protein of *Helicobacter pylori* on the microwell surface. Unbound material is removed by washing procedure. Second antibodies directed towards species specific IgG, 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. Positivity index (PI, %) is calculated by the formula (see Calculations). 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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. It may cause skin irritation and burns.
- 4.5.** Wear disposable latex gloves when handling specimens and reagents. Microbial contamination of reagents may give false results.
- 4.6.** Do not use the kit beyond the expiration date.
- 4.7.** All indicated volumes have to be performed according to the protocol. Optimal test results are obtained only when using calibrated pipettes and microplate readers.
- 4.8.** Do not smoke, eat, drink or apply cosmetics in areas where specimens or kit reagents are handled.
- 4.9.** Chemicals and prepared or used reagents have to be treated as hazardous waste according to the national biohazard safety guidelines or regulations.
- 4.10.** Do not mix reagents from different lots.
- 4.11.** Replace caps on reagents immediately. Do not swap caps.
- 4.12.** Do not pipette reagents by mouth.
- 4.13.** Specimens must not contain any AZIDE compounds – they inhibit activity of peroxidase.
- 4.14.** Material Safety Data Sheet for this product is available upon request directly from XEMA Co., Ltd.
- 4.15.** The Material Safety Data Sheet fit the requirements of EU Guideline 91/155 EC.

## 5. KIT COMPONENTS

### 5.1. Contents of the Kit

	Symbol	Description	Qty	Units	Colour code	Stability of opened/diluted components
1	SORB MTP	<i>Helicobacter pylori</i> IgM EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp. date
2	CONTROL - CONTROL +	Control sera (0.5 ml and 0.2 ml, resp.)	2	pcs	colourless; red	2 months
3	CONJ HRP	Conjugate, 14 ml	1	pcs	green	until exp. date
4	DIL	EIA Sample buffer 14 ml	1	pcs	purple	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
7	STOP	Stop solution, 14 ml	1	pcs	Diluted washing solution - 1 month at 2-8 °C or 5 days at RT	until exp. date
8	N003	Plate sealing tape	2	pcs	colourless	until exp. date
9	K119MI	Instruction <i>Helicobacter pylori</i> IgM EIA	1	pcs	-	N/A
10	K119MQ	QC data sheet <i>Helicobacter pylori</i> IgM EIA	1	pcs	-	N/A

**5.2.** Equipment and material required but not provided

- Distilled or deionized water;
- Automatic or semiautomatic multichannel micropipettes, 90-250 µl, is useful but not essential;
- Calibrated micropipettes with variable volume, range volume 10-250 µl;
- Dry thermostat for 37 °C ±2 °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 vials with calibrators on low speed centrifuge.
- Prepare washing solution from the concentrate BUF WASH 26X by 26 dilution 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:

**7.5.** Assay procedure:

1	Put the desired number of microstrips into the frame; allocate 4 wells for control samples CONTROL - CONTROL + (3 and 1 wells resp.) and two wells for each unknown sample. DO NOT REMOVE ADHESIVE SEALING TAPE FROM UNUSED STRIPS.
2	Pipet 90 µl of EIA Sample buffer into each well.
3	Pipet 10 µl of control samples CONTROL - 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 with 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 air.

For the assay to be valid, the following requirements should be met:

1. OD450 for CONTROL+ should be nit 0.6 AU.
2. OD450 for CONTROL- should not be more than 0.15 AU for all replicates.

## 8. EXPECTED VALUES

### CALCULATION OF RESULTS.

1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for CONTROL- in triplicates and each pair of samples.
2. Calculate the cut-off value: (mean OD450 for CONTROL-) + 0.25
3. Calculate Positivity Index (PI) for each sample:  

$$PI = \text{mean OD450}(\text{sample}) / \text{Cut-off}$$

If PI value is greater than 1.1, the result is POSITIVE.

If PI value is less than 0.9, the result is NEGATIVE.

If PI value is between 0.9 and 1.1, the result is EQUIVOCAL. Such samples should be retested. If the result is equivocal again, a new sample should be obtained 2-4 weeks later and tested again. If the result remains equivocal, the sample should be considered negative. Therapeutic 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 therapeutic measures. 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.

## 11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

### 11.1 Analytical specificity.

Specificity of the test was evaluated on 93 negative serum specimens. Based on these data, specificity of the test is 98%.

### 11.2 Analytical sensitivity.

Specificity of kit was evaluated using internal panel "H.Pylori Positive Control".

### 11.3 Precision.

Intra-assay precision for two different lots (CV1, CV2) is shown below:

Serum, no	Replicates	Value, IP average	CV1, %	CV2, %
1	32	3.4	2.9	2.8
2	32	9.1	4.8	5

Inter-assay precision is shown below:

Serum, no	Duplicated	Value, IP average	CV, %
1	8	3.1	3.9
2	8	9	6.2

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  
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



**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 HBsAg отсутствуют  
Контрольные сыворотки, входящие в состав набора, инактивированы.



For 96 determinations/На 96 определений



Для *in vitro* диагностики



XEMA Co., Ltd.

The 9th Parkovaya str., 48

105264 Moscow, Russia

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

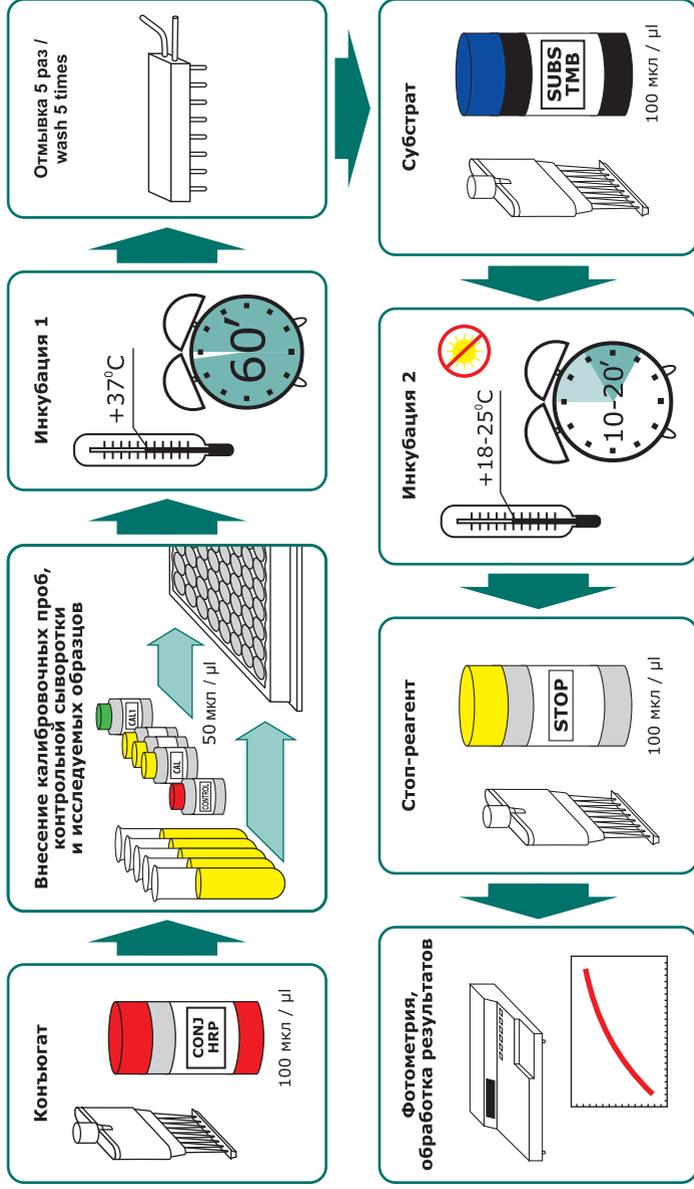
e-mail: redkin@xema-medica.com

internet: www.xema-medica.com



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

## Схема проведения анализа / Test procedure



**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:  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединицы. Специфичность и биологическую активность гормона определяет его  $\beta$ -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  $\beta$ -субъединицы; проявление связанного антигена проводится с помощью моноклонального антитела, специфичного для  $\alpha$ -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  $\beta$ -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  $\beta$ -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	<b>Планшет</b> 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2 C205Z	CAL 1-6	<b>Калибровочные пробы</b> на основе фосфатного буфера (рН 7.2-7.4), содержащие известные количества хорионического гонадотропина - <b>0; 15; 60; 125; 250; 500 МЕ/л</b> , готовы к использованию (по 0.8 мл каждая)	6	шт.	прозрачные жидкости синего цвета (калибровочная проба 0 - прозрачная бесцветная жидкость)
3 Q205Z	CONTROL	<b>Контрольная сыворотка</b> 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	<b>Конъюгат</b> , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость красного цвета
5 S011Z4	DIL SPE	<b>ИФА-Буфер</b> , готов к использованию (100 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость синего цвета
6 R055Z	SUBS TMB	<b>Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ)</b> , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
7 S008Z	BUF WASH 26X	<b>Концентрат отмывочного раствора</b> (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26х-кратный (22 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
8 R050Z	STOP	<b>Стоп-реагент</b> , 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	<b>Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.</b>
5	<b>Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 50 мкл калибровочной пробы и контрольной сыворотки. В остальные лунки внесите в дубликатах по 50 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови.</b> Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
6	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и <b>инкубируйте</b> его в течение <b>60 минут при температуре +37 °С</b> .
7	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и <b>отмойте лунки 5 раз</b> . При каждой отмывке добавьте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п. 7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок постукиванием планшета в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.
8	<b>Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина.</b> Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2-3 мин. <b>Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °С) в течение 10-20 минут</b> в зависимости от степени развития синего окрашивания.
9	<b>Внесите во все лунки</b> с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, <b>по 100 мкл стоп-реагента</b> , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
10	<b>Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре</b> вертикального сканирования <b>при длине волны 450 нм</b> . Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра 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](mailto:rqc@xema.ru); [info@xema.ru](mailto:info@xema.ru)  
интернет: [www.xema.ru](http://www.xema.ru); [www.xema-medica.com](http://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 ( $\beta$ )-chain specific monoclonal antibody as the capture, and alpha ( $\alpha$ )-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  $\beta$  chain of hCG-antibodies. Antigen from the specimen is captured by the antibodies coated onto the microwell surface. Second antibodies – murine monoclonal to  $\alpha$  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

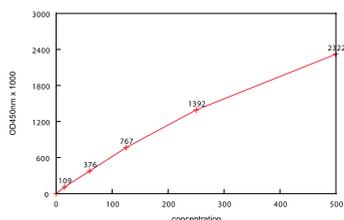
**9.1.** Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

**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

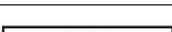
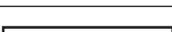
Linearity was checked by assaying dilution series of 5 samples with different hCG concentrations. Linearity percentages obtained ranged within 90 to 110%.

### 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
	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  
производитель средств 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;

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

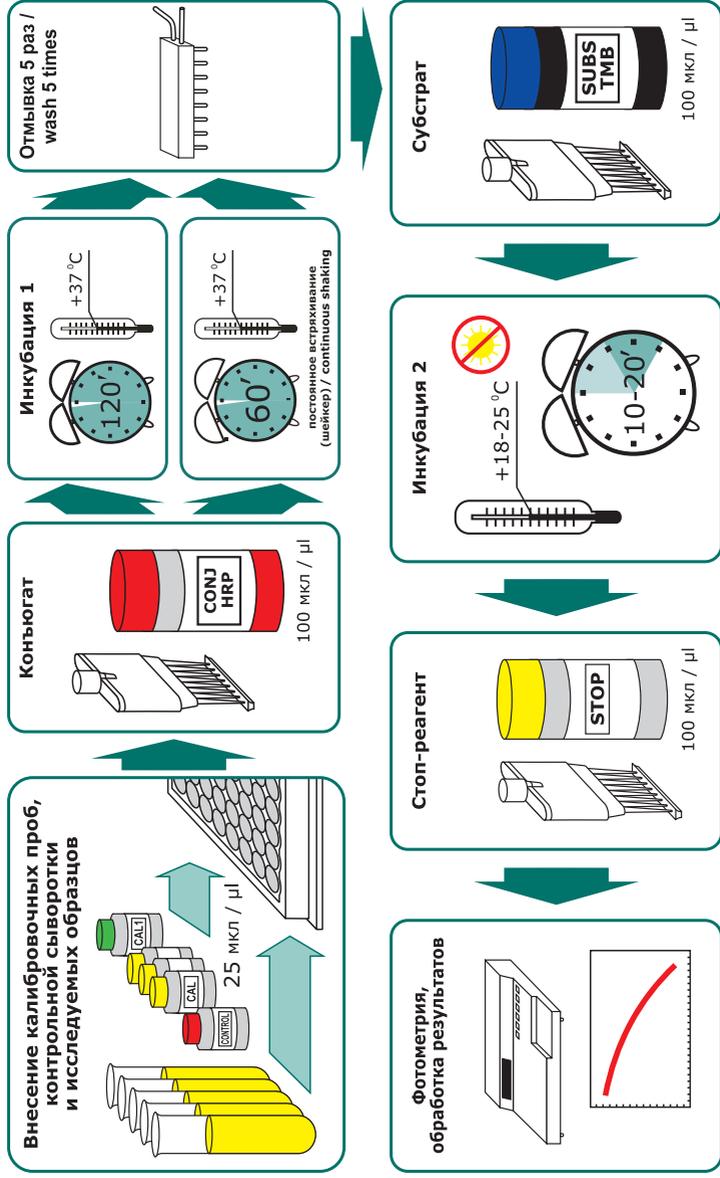


XEMA Co., Ltd.  
The 9th Parkovaya str., 48  
105264 Moscow, Russia  
Tel./fax: +7(495) 510-57-07  
e-mail: redkin@xema-medica.com  
internet: www.xema-medica.com



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 аналитами 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	<b>Планшет</b> 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2 C208Z	CAL 1-6	<b>Калибровочные пробы</b> на основе сыворотки крови человека, содержащие известные количества эстрадиола – <b>0; 0.1; 0.3; 1; 3; 20 нмоль/л</b> , готовы к использованию (по 0.8 мл каждая)	6	шт.	прозрачные жидкости ярко-красного цвета (калибровочная проба 0 – прозрачная бесцветная жидкость)
3 Q208Z	CONTROL	<b>Контрольная сыворотка</b> на основе сыворотки крови человека с известным содержанием эстрадиола, готова к использованию (0.8 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
4 T208Z	CONJ HRP	<b>Конъюгат</b> , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость красного цвета
5 R055Z	SUBS TMB	<b>Раствор субстрата тетраметилбензидаина</b> (ТМБ), готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
6 S008Z	BUF WASH 26X	<b>Концентрат отмывочного раствора</b> (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26х-кратный (22 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
7 R050Z	STOP	<b>Стоп-реагент</b> , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
8 N003	-	Бумага для заклеивания планшета	2	шт.	-
9 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	<b>Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 25 мкл калибровочной пробы и контрольной сыворотки.</b> 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	<b>Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.</b>
4	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и <b>инкубируйте</b> его в течение <b>120 минут при температуре +37 °С.</b> Допускается инкубация в течение 60 минут при + 37 °С и постоянном встряхивании (600 об/мин)
5	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и <b>отмойте лунки 5 раз.</b> 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	<b>Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина.</b> Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2–3 мин. <b>Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °С) в течение 10–20 минут</b> в зависимости от степени развития синего окрашивания.
7	<b>Внесите во все лунки</b> с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, <b>по 100 мкл стоп-реагента</b> , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
8	<b>Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре</b> вертикального сканирования <b>при длине волны 450 нм.</b> Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра 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](mailto:info@xema.ru); [rqc@xema.ru](mailto:rqc@xema.ru)

интернет: [www.xema.ru](http://www.xema.ru); [www.xema-medica.com](http://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% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. It may cause skin irritation and burns.

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

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

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

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

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

**4.10.** Do not mix reagents from different lots.

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

**4.12.** Do not pipette reagents by mouth.

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

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

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

## 5.1. 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

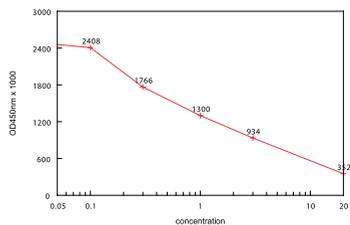
1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

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
	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  
ТИРЕОГЛОБУЛИНА  
В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ**

**«ТИРЕОГЛОБУЛИН-ИФА»**

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

**THYROGLOBULIN EIA**

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ REF **K232**

ТУ № 9398-232-18619450-2009

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ  
№ ФСР 2010/07272 от 8 апреля 2010 г.

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



For 96 determinations/На 96 определений



Для *in vitro* диагностики

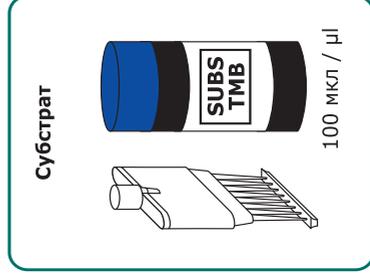
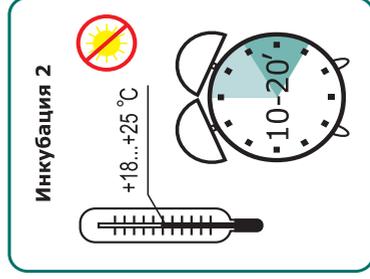
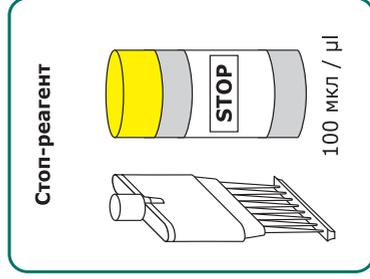
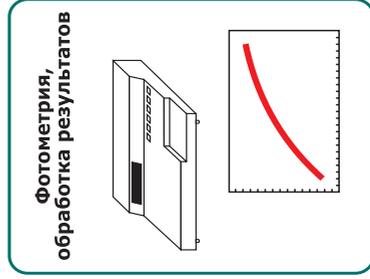
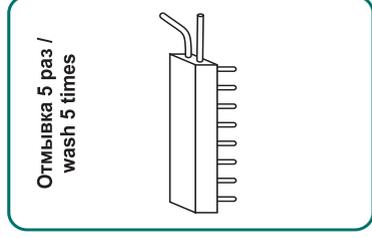
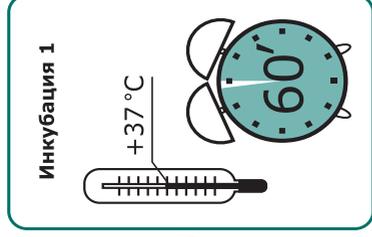
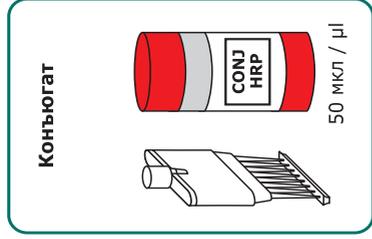
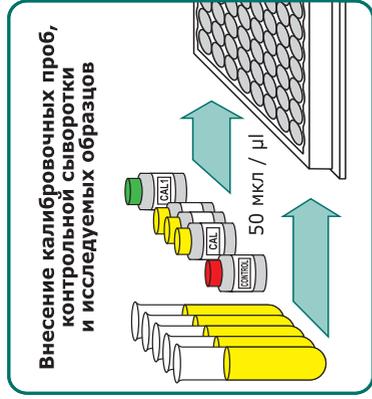


XEMA Co., Ltd.  
The 9th Parkovaya str., 48  
105264 Moscow, Russia  
Tel./fax: +7(495) 510-57-07  
e-mail: redkin@xema-medica.com  
internet: www.xema-medica.com



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

# Схема проведения анализа / Test procedure



**K222, K228, K232, K236, K291**

**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	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	15

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

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

### **1. НАЗНАЧЕНИЕ**

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

**1.2.** Тиреоглобулин (ТГ) – высокомолекулярный белок с молекулярной массой около 650-700 кДа, вырабатываемый эпителиальными клетками щитовидной железы. В нормальной щитовидной железе, ТГ вырабатывается в просвет фолликулов и подвергается ферментативному иодированию, в ходе которого высвобождаются предшественники гормонов Т3 и Т4. Вместе со свободными гормонами небольшие количества ТГ проникают в циркуляцию. Синтез ТГ регулируется гормонами гипофизарно-гипоталамической оси (тиролиберинном и ТТГ), а также самими гормонами щитовидной железы в случае их введения в терапевтических целях.

**1.3.** У больных с дифференцированной тиреоидной аденокарциномой серийное определение ТГ в сыворотке служит надежным мониторинговым маркером полноты резекции железы, рецидива и метастатического роста опухоли.

**1.4.** Значительное повышение уровня ТГ в сыворотке крови наблюдается также при доброкачественных заболеваниях щитовидной железы: тиреоидитах и гипертиреозах различной этиологии. При этом серийное определение ТГ может использоваться также в мониторинге и прогнозе тиреостатической терапии болезни Грейвса.

## 2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

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

## 3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

### 3.1. Специфичность.

Использование мышинных моноклональных антител к тиреоглобулину позволяет достичь высокой специфичности анализа

### 3.2. Воспроизводимость.

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

### 3.3. Линейность.

Зависимость концентрации ТГ в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей ТГ, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 10–400 нг/мл и составляет  $\pm 10.0\%$ .

### 3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации ТГ предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 25 нг/мл. Процент «открытия» составляет 90–110%.

### 3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «ТИРЕОГЛОБУЛИН-ИФА» концентрация ТГ в сыворотке (плазме) крови не превышает 0.5 нг/мл.

## 4. СОСТАВ НАБОРА

Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1 P232Z	SORB MTP	<b>Планшет</b> 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2 C232Z	CAL 1-5	<b>Калибровочные пробы</b> на основе трис-буфера (рН 7.2-7.4), содержащие известные количества тиреоглобулина – <b>0; 10; 25; 100; 400 нг/мл</b> , готовы к использованию (по 0.8 мл каждая)	5	шт.	прозрачные жидкости ярко-синего цвета (калибровочная проба 0 – прозрачная бесцветная жидкость)
3 Q232Z	CONTROL	<b>Контрольная сыворотка</b> на основе сыворотки крови человека с известным содержанием тиреоглобулина, готова к использованию (0.8 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
4 T232Z	CONJ HRP	<b>Конъюгат</b> , готов к использованию (7 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость ярко-синего цвета
5 R055Z	SUBS TMB	<b>Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ)</b> , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
6 S008Z	BUF WASH 26X	<b>Концентрат отмывочного раствора</b> (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26x-кратный (22 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
7 R050Z	STOP	<b>Стоп-реагент</b> , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
8 N003	-	Бумага для заклеивания планшета	2	шт.	-
9 K232I	-	Инструкция по применению Набора реагентов «ТИРЕОГЛОБУЛИН-ИФА»	1	шт.	-
10 K232Q	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «ТИРЕОГЛОБУЛИН-ИФА»	1	шт.	-

## 5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

**5.1.** Потенциальный риск применения Набора – класс 1 (ГОСТ Р 51609-2000).

**5.2.** Все компоненты Набора, за исключением стоп-реагента (5.0% раствор серной кислоты), в используемых концентрациях являются нетоксичными.

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

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

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

**5.5.** Медицинские отходы класса Б. Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПин 2.1.7.2790-10 «Санитарноэпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

## 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 ±2 °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 «ТИРЕОГЛОБУЛИН-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;
- 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. Допускается исследование сывороток, хранение которых с момента забора крови осуществлялось при температуре от +2 °С до +8 °С не более 7 суток.

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

**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 тиреоглобулина 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	<b>Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 50 мкл калибровочной пробы и контрольной сыворотки. В остальные лунки внесите в дубликатах по 50 мкл исследуемых образцов сыоротки (плазмы) крови.</b> Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
3	<b>Внесите во все лунки по 50 мкл конъюгата.</b>
4	<b>Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте его в течение 60 минут при температуре +37 °С.</b>
5	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и <b>отмойте лунки 5 раз.</b> При каждой отмывке добавьте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п. 7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждой декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок постукиванием планшета в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.
6	<b>Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина.</b> Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2–3 мин. <b>Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °С) в течение 10–20 минут</b> в зависимости от степени развития синего окрашивания.
7	<b>Внесите во все лунки</b> с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, <b>по 100 мкл стоп-реагента</b> , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
8	<b>Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре</b> вертикального сканирования <b>при длине волны 450 нм.</b> Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра выставьте по калибровочной пробе С1.
9	Постройте в линейных координатах калибровочный график: ось абсцисс (х) – концентрация ТГ в калибровочных пробах (нг/мл), 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.
10	Определите по калибровочному графику содержание ТГ 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 ТГ в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0.5 нг/мл), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (400 нг/мл) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация ТГ ниже 0.5 нг/мл или выше 400 нг/мл.

Исследуемая группа	Единицы, нг/мл	
	Нижний предел	Верхний предел
Здоровые доноры	–	50

## 11. ЛИТЕРАТУРА

1. CA Spencer, M Takeuchi, and M Kazarosyan – Current status and performance goals for serum thyroglobulin assays. Clin. Chem., Jan 1996; 42: 164 – 173.
2. PW Ladenson – Optimal laboratory testing for diagnosis and monitoring of thyroid nodules, goiter, and thyroid cancer. Clin. Chem., Jan 1996; 42: 183 – 187.
3. Anthony P. Weetman – Graves' Disease. N. Engl. J. Med., Oct 2000; 343: 1236 – 1248.

По вопросам, касающимся качества Набора «**ТИРЕОГЛОБУЛИН-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 THYROGLOBULIN IN HUMAN SERUM OR PLASMA**

### **1. INTENDED USE**

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

This kit is designed for measurement of thyroglobulin 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**

Thyroglobulin (TG) is a high MW (ca. 650-700 kDa) glycoprotein synthesized by the thyroid epithelial cells. In normal thyroid gland, TG is secreted to the follicular lumen and undergoes iodination of tyrosine residues leading to formation of thyroid hormones (T3 and T4). Minor quantities of TG penetrate to the circulation in normal donors. Synthesis of TG is regulated by hormones (TSH, TRH, exogenous thyroid therapy).

In differentiated thyroid carcinoma, serial determination of serum TG is used for post-treatment monitoring. An elevation of serum TG in such patients indicates a presence of residual thyroid tissue, relapse or metastatic growth of the tumour.

The elevated serums TG are also observed in benign thyroid diseases, e.g. thyroiditis, hyperthyroidism and non-toxic goiter. The monitoring of serum TG is also used for prognostic evaluation of thyrostatic treatment of Graves' disease.

### **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 TG-antibodies. Antigen from the specimen is captured by the antibodies coated onto the microwell surface. Second antibodies – murine monoclonal to human TG, 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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. It may cause skin irritation and burns.

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

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

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

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

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

**4.10.** Do not mix reagents from different lots.

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

**4.12.** Do not pipette reagents by mouth.

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

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

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

## 5.1. Contents of the Kit

## 5. KIT COMPONENTS

Symbol	Description	Qty	Units	Colour code	Stability of opened/diluted components
1 SORB MTP	Thyroglobulin 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; 10; 25; 100; 400 ng/ml	5	pcs	bright blue (C1 – colourless)	2 months
3 CONTROL	Control serum (0.8 ml)	1	pcs	colourless	2 months
4 CONJ HRP	Conjugate, 7 ml	1	pcs	bright 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 K232I	Instruction Thyroglobulin EIA	1	pcs		N/A
10 K232Q	QC data sheet Thyroglobulin 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. 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 calibrators CAL 1–5, control samples CONTROL and unknown samples into the wells.
3	Dispense 50 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 first calibrator.
11	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

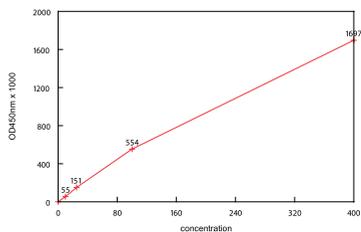
**9.1.** Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

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

**9.3.** Determine the corresponding concentration of thyroglobulin 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	0.13
CAL 2	10 ng/ml	0.19
CAL 3	25 ng/ml	0.28
CAL 4	100 ng/ml	0.69
CAL 5	400 ng/ml	1.83



## 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 Thyroglobulin. 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
Healthy donors	–	50

## 11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

### 11.1. Analytical sensitivity.

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

### 11.2. Linearity.

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

### 11.3. Recovery.

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

## 12. LITERATURE

1. CA Spencer, M Takeuchi, and M Kazarosyan – Current status and performance goals for serum thyroglobulin assays. Clin. Chem., Jan 1996; 42: 164 – 173.
2. PW Ladenson – Optimal laboratory testing for diagnosis and monitoring of thyroid nodules, goiter, and thyroid cancer. Clin. Chem., Jan 1996; 42: 183 – 187.
3. Anthony P. Weetman – Graves' Disease. N. Engl. J. Med., Oct 2000; 343: 1236 – 1248.



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  
профессионалов сферы 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





Instruction for use



**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ  
НАБОРА РЕАГЕНТОВ  
ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ  
CA72-4 В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ**

**«CA72-4-ИФА»**

**A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY  
FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION  
OF CA72-4 IN HUMAN SERUM OR PLASMA**

**CA72-4 EIA**

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF** **K244**

ТУ № 9398-244-18619450-2009

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ  
№ ФСР 2010/07273 от 8 апреля 2010 г.

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



For 96 determinations/На 96 определений



Для *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



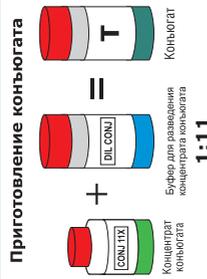
Authorized Representative in EU:  
Polmed.de  
Steinacker 20, D-73773  
Aichwald, Germany  
e-mail: info@polmed.de

## Схема проведения анализа / Test procedure

**Приготовление конъюгата**

Концентрат конъюгата + Буфер для разведения концентрата конъюгата = Конъюгат

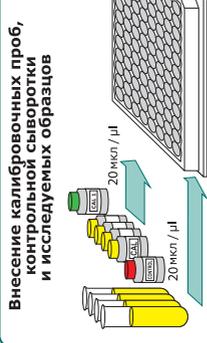
**1:1**



**Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов**

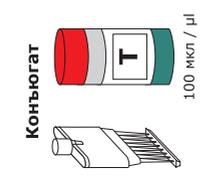
20 мкл /  $\mu$ л

20 мкл /  $\mu$ л



**Конъюгат**

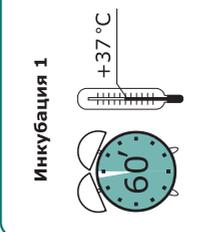
100 мкл /  $\mu$ л



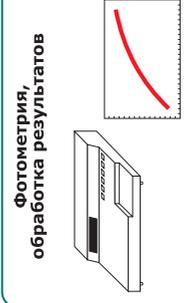
**Инкубация 1**

+37 °C

60

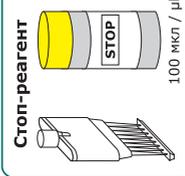


**Фотометрия, обработка результатов**



**Стоп-реагент**

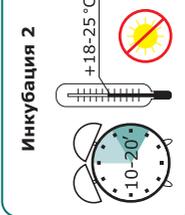
100 мкл /  $\mu$ л



**Инкубация 2**

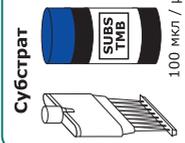
+18-25 °C

10-20

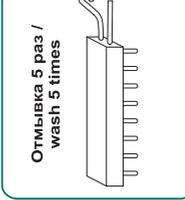


**Субстрат**

100 мкл /  $\mu$ л



**Отмывка 5 раз / wash 5 times**



**K244**

**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

**CONTENTS**

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	15

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

## **ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СА72-4 В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «СА72-4-ИФА»**

### **1. НАЗНАЧЕНИЕ**

**1.1.** Набор реагентов «СА72-4-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации СА72-4 в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

**1.2.** СА72-4, или углеводный антиген 72-4 с высокой молекулярной массой (м.м. 230 – 1000 кДа), представляет собой антиген (эпитоп), ассоциированный с раком желудка, карциномой яичников и некоторыми другими опухолями. Количественное определение СА72-4 в сыворотке или плазме крови, особенно одновременно с определением углеводного антигена сиалил-Льюиса СА19-9 (ХЕМА кат. № К223) используется в целях контроля течения и терапии рака желудка, а также вместе с СА125 (ХЕМА кат. № К222) – в целях мониторинга рака яичников. СА72-4 в норме практически не экспрессируется здоровыми тканями у взрослых. Увеличенная концентрация углеводного антигена 72-4 отмечается в высоком проценте случаев рака желудочно-кишечного тракта, яичников и легких. Кроме того, повышение уровня СА72-4 обнаруживается у небольшого числа пациентов с разнообразными доброкачественными заболеваниями. В связи с этим, данные по содержанию СА72-4 всегда следует интерпретировать в комплексе с результатами других методов исследования и клиническими данными.

## 2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение СА72-4 основано на использовании «сэндвич»-варианта твердофазного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы мышинные моноклональные антитела к СА72-4 человека. В лунках планшета, при добавлении исследуемого образца, происходит связывание СА72-4, содержащегося в исследуемом образце, с антителами на твердой фазе. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата мышинных моноклональных антител к СА72-4 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 СА72-4 в исследуемом образце. Концентрацию СА72-4 в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания СА72-4 в калибровочных пробах.

## 3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

### 3.1. Специфичность.

Использование мышинных моноклональных антител к СА72-4 позволяет достичь высокой специфичности анализа.

### 3.2. Воспроизводимость.

Коэффициент вариации результатов определения содержания СА72-4 в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «СА72-4-ИФА» не превышает 8.0%.

### 3.3. Линейность.

Зависимость концентрации СА72-4 в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей СА72-4, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 5–200 Ед/мл и составляет  $\pm 10.0\%$ .

### 3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации СА72-4 предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 15 Ед/мл. Процент «открытия» составляет 90–110%.

### 3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «СА72-4-ИФА» концентрация СА72-4 в сыворотке (плазме) крови не превышает 1.0 Ед/мл.

## 4. СОСТАВ НАБОРА

Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1 P244Z	SORB MTP	<b>Планшет</b> 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2 C244Z	CAL 1-5	<b>Калибровочные пробы</b> на основе сыворотки крови человека, содержащие известные количества СА72-4 - 0; 5; 15; 50; 200 Ед/мл, готовы к использованию (по 0.5 мл каждая)	5	шт.	прозрачные жидкости синего цвета (калибровочная проба 0 - прозрачная бесцветная жидкость)
3 Q244Z	CONTROL	<b>Контрольная сыворотка</b> на основе сыворотки крови человека с известным содержанием СА72-4, готова к использованию (0.5 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
4 T244XZ	CONJ 11X	<b>Концентрат конъюгата</b> (1.2 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость зеленого цвета
5 ST244Z	DIL CONJ	<b>Буфер для разведения концентрата конъюгата</b> , готов к использованию (12 мл)	1	шт	прозрачная жидкость голубого цвета
6 R055Z	SUBS TMB	<b>Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ)</b> , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
7 S008Z	BUF WASH 26X	<b>Концентрат отмывочного раствора</b> (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26x-кратный (22 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
8 R050Z	STOP	<b>Стоп-реагент</b> , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
9 N003	-	Бумага для заклеивания планшета	2	шт.	-
10 K244I	-	Инструкция по применению Набора реагентов «СА72-4-ИФА»	1	шт.	-
11 K244Q	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «СА72-4-ИФА»	1	шт.	-

## 5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

**5.1.** Потенциальный риск применения Набора – класс 1 (ГОСТ Р 51609-2000).

**5.2.** Все компоненты Набора, за исключением стоп-реагента (5.0% раствор серной кислоты), в используемых концентрациях являются нетоксичными.

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

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

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

## 6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность содержимого лунок планшета при длине волны 450 нм;
- термостат, поддерживающий температуру  $+37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;
- 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).

### 7.4. Приготовление конъюгата.

Разбавьте концентрат конъюгата в 11 раза буфером для разведения концентрата конъюгата. Например, на один стрип понадобится 900 мкл конъюгата: 90 мкл концентрата конъюгата + 900 мкл буфера для разведения конъюгата.

ВНИМАНИЕ! Разбавленный раствор конъюгата не хранится! Разбавляйте только ту часть концентрата конъюгата, которая необходима для данной постановки!

## 8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

**8.1.** Набор реагентов «СА72-4-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;
- оставшийся неиспользованным концентрат отмывочного раствора, 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 СА72-4 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	<b>Приготовьте конъюгат (см п. 7.4.)</b>
3	<b>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.</b> Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
4	<b>Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.</b>
5	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и <b>инкубируйте его в течение 60 минут при температуре +37 °С.</b>
6	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и <b>отмойте лунки 5 раз.</b>
7	<b>Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидаина.</b> Внесение раствора субстрата тетраметилбензидаина в лунки необходимо произвести в течение 2–3 мин. <b>Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °С) в течение 10–20 минут</b> в зависимости от степени развития синего окрашивания.
8	<b>Внесите во все лунки</b> с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидаина, <b>по 100 мкл стоп-реагента</b> , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
9	<b>Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре</b> вертикального сканирования <b>при длине волны 450 нм.</b> Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра выставляйте по калибровочной пробе С1.
10	Постройте в линейных координатах калибровочный график: ось абсцисс (х) – концентрация СА72-4 в калибровочных пробах (Ед/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.
11	Определите по калибровочному графику содержание СА72-4 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 СА72-4 в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (1.0 Ед/мл), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (200 Ед/мл) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация СА72-4 ниже 1.0 Ед/мл или выше 200 Ед/мл.

Исследуемая группа	Единицы, Ед/мл	
	Нижний предел	Верхний предел
Здоровые доноры	-	6.0

## 11. ЛИТЕРАТУРА

1. DJ Byrne, MC Browning, and A Cuschieri – CA72-4: a new tumour marker for gastric cancer. Br J Surg, Sep 1990; 77(9): 1010-3.
2. Ian J. Jacobs and Usha Menon – Progress and Challenges in Screening for Early Detection of Ovarian Cancer. Mol. Cell. Proteomics, Apr 2004; 3: 355 – 366.
3. R Hamazoe, M Maeta, T Matsui, S Shibata, S Shiota, and N Kaibara – CA72-4 compared with carcinoembryonic antigen as a tumour marker for gastric cancer. Eur J Cancer, Jan 1992; 28A(8-9): 1351-4.

По вопросам, касающимся качества Набора «СА72-4-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 CA72-4 IN HUMAN SERUM OR PLASMA**

### **1. INTENDED USE**

A solid-phase enzyme immunoassay for the quantitative determination of CA72-4 in blood serum or plasma.

This kit is designed for measurement of CA72-4 in blood serum or plasma. The kit contains reagents sufficient for 96 determinations and allows to analyze 42 unknown samples in duplicates.

### **2. SUMMARY AND EXPLANATION**

CA 72-4, or a carbohydrate antigen 72-4, is a high MW (230-1000 kD) antigen (epitope) associated to gastric and ovarian cancer as well as some other malignancies and not expressed in noticeable quantities in tissues of healthy adult individuals. Quantitative determination of CA 72-4 in serum or plasma is helpful (particularly, in combination with CA 19-9 – see Xema, Cat.# K223) for monitoring of gastric cancer and its therapy, while combined determination of CA 72-4 and CA 125 (see Xema, Cat.# K222) is used for monitoring of ovarian cancer.

Elevated levels of CA 72-4 are often seen in adenocarcinomas of the gastro-intestinal tract, ovaries (mucinous type) and lungs. Besides, raised CA 72-4 is sometimes also seen in patients with benign pathology (chronic inflammation, cysts, fibrosis). That is why, results of CA 72-4 determination should always be interpreted in conjunction with other laboratory and clinical data.

NOTE: the patients that have received murine monoclonal antibodies for radioimaging or immunotherapy may develop high titered anti-mouse antibodies (HAMA). The presence of these antibodies gives false results in the present assay. Sera from HAMA positive patients should be treated by depleting adsorbents before assaying.

### **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 antibodies to human CA72-4. 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 Ab to human CA72-4, labelled with peroxidase, 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 concentration of the measured analyte in the specimen.

#### 4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

**4.1.** For professional use only.

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

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

**4.4.** Avoid contact with stop solution containing 5.0% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. It may cause skin irritation and burns.

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

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

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

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

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

**4.10.** Do not mix reagents from different lots.

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

**4.12.** Do not pipette reagents by mouth.

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

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

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

### 5. KIT COMPONENTS

#### 5.1. Contents of the Kit

Symbol	Description	Qty	Units	Colour code	Stability of opened/ diluted components
1	SORB MTP CA72-4 EIA strips, 8x12 wells	polystyrene microwells coated with murine monoclonal Ab to human CA72-4	1	pcs	until exp.date
2	CAL 1-5 Calibrator set, 0.5 ml each. The set contains 5 calibrators: 0; 5; 15; 50; 200 U/ml	human CA72-4 diluted in a preselected human serum preservative - 0.01% Bronidox L, 0.01% 2-Methyl-4-isothiazolin-3-one-hydrochloride; also contains blue dye. Ready-to-use	5	pcs	blue (C1 - colourless) 2 months
3	CONTROL Control serum (0.5 ml)	dilution of preselected human serum, with high content of CA72-4 with preservative - 0.01% Bronidox L, 0.01% 2-Methyl-4-isothiazolin-3-one-hydrochloride; also contains purple dye. Ready-to-use	1	pcs	colourless 2 months
4	CONJ 11X Conjugate concentrate, 1.2 ml	Aqueous solution of murine monoclonal to human CA72-4 coupled with horseradish peroxidase diluted on phosphate buffered saline with casein from bovine milk and detergent (Tween-20), contains 0,1% phenol as preservative and green dye	1	pcs	green Concentrate - until exp.date Diluted - 1 day at 2-8 °C
5	DIL CONJ Conjugate dilution buffer, 12 ml	Aqueous Tris-buffered BSA solution, preservative - 0,01% Bronidox L, 0,01% 2-Methyl-4-isothiazolin-3-one-hydrochloride; contains light blue dye	1	pcs	light blue until exp.date
6	SUBS TMB Substrate solution, 14 ml	ready-to-use single-component tetramethylbenzidine (TMB) solution	1	pcs	colourless until exp.date
7	BUF WASH 26X Washing solution concentrate 26x, 22 ml	aqueous solution of sodium chloride and detergent (Tween 20), contains proClin300 as a preservative.	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	5,0% vol/vol solution of sulphuric acid. Ready-to-use	1	pcs	colourless until exp.date
9	N003 Plate sealing tape		2	pcs	N/A
10	K244I Instruction CA72-4 EIA		1	pcs	N/A
11	K244Q QC data sheet CA72-4 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;
- 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. A short-term storage at higher temperatures (nmt 25 °C for nmt 5 days) is allowed (e.g., during transportation).

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 should be tested during the day of sampling. If test run is scheduled for another day, 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.
- Prepare washing solution from the concentrate BUF WASH 26X by 26 dilutions in distilled water.

## 7.2. 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	Prepare working conjugate solution by dilution of conjugate concentrate 11 fold by conjugate dilution buffer. ATTENTION: working conjugate solution is unstable and should not be stored! Prepare the volume required for actual assay run.
3	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).
4	Dispense 100 µl of CONJ HRP into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape.
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. Dispensing of TMB should be completed within 3 minutes.
8	Incubate in a dark place for 10-20 minutes, depending on blue coloration of wells.
9	Dispense 100 µl of STOP into the wells in the same order as TMB.
10	Measure OD (optical density) at 450 nm.
11	Set photometer blank on first calibrator.
12	Apply point-by-point method for data reduction.

## 8. QUALITY CONTROL

It is recommended to use external control samples (not included) according to state and federal regulations. The use of external 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

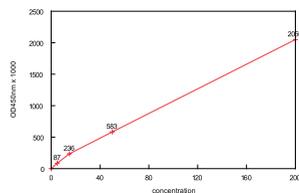
**9.1.** Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

**9.2.** Plot a calibration curve on graph paper: OD versus CA72-4 concentration.

**9.3.** Determine the corresponding concentration of CA72-4 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.** is presented a typical example of a standard curve with the XEMA Co. Not for calculations!

Calibrators	Value	Absorbance Units (450 nm)
CAL 1	0 U/ml	0.08
CAL 2	5 U/ml	0.17
CAL 3	15 U/ml	0.32
CAL 4	50 U/ml	0.67
CAL 5	200 U/ml	2.13



## 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 therapeutical measures. Each laboratory should establish its own normal range for CA72-4. 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.

NOTE2: if analyte concentration in a specimen is lower than the analytical sensitivity (2 U/ml) or higher than the highest calibrator (200 U/ml), it is recommended to express the results in the following manner: "CA 72-4 concentration is lower than 1.0 U/ml" or "CA 72-4 concentration is higher than 200 U/ml".

Patient group	Units, U/ml	
	Lower limit	Upper limit
Healthy individuals	-	6

## 11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

### 11.1. Analytical sensitivity

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

### 11.2. Linearity

Linearity was checked by assaying dilution series of 5 samples with different CA72-4 concentrations. Linearity percentages obtained within the range of 5-200 U/ml fell within 90–110%.

### 11.3. Recovery

Recovery was estimated by assaying a mixed sample (Contol + calibrator 3, 1:1) with known CA72-4 concentration. The recovery percentages ranged from 90% to 110%.

11.4. High-dose hook effect was not seen up to 50 000 IU/ml.

## 12. LITERATURE

1. DJ Byrne, MC Browning, and A Cuschieri - CA72-4: a new tumour marker for gastric cancer. *Br J Surg*, Sep 1990; 77(9): 1010-3.
2. Ian J. Jacobs and Usha Menon - Progress and Challenges in Screening for Early Detection of Ovarian Cancer. *Mol. Cell. Proteomics*, Apr 2004; 3: 355 - 366.
3. R Hamazoe, M Maeta, T Matsui, S Shibata, S Shiota, and N Kaibara - CA72-4 compared with carcinoembryonic antigen as a tumour marker for gastric cancer. *Eur J Cancer*, Jan 1992; 28A(8-9): 1351-4.



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



Ассоциация российских  
производителей иммунохимических  
диагностических реагентов



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;

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  
С-ПЕПТИДА В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ ЧЕЛОВЕКА**

**«С-ПЕПТИД-ИФА»**

**A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY  
FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION  
OF C-PEPTIDE IN HUMAN BLOOD SERUM OR PLASMA, URINE**

**C-peptide EIA**

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF** **K267C**

ТУ № 21.20.23-2671-18619450-2018

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ  
№ РЗН 2018/7915 от 06 декабря 2018 г.

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



For 96 determinations/На 96 определений



Для *in vitro* диагностики

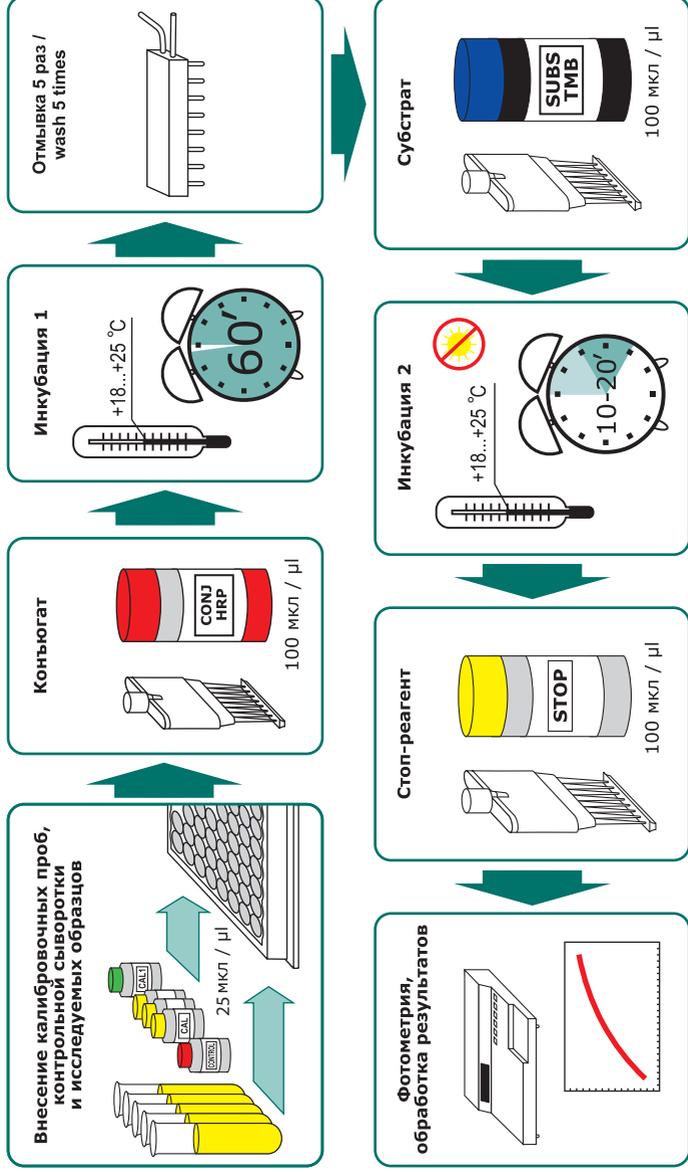


XEMA Co., Ltd.  
The 9th Parkovaya str., 48  
105264 Moscow, Russia  
Tel./fax: +7(495) 510-57-07  
e-mail: redkin@xema-medica.com  
internet: www.xema-medica.com



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

## Схема проведения анализа / Test procedure



K267C

**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

**CONTENT**

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

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

# **ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ С-ПЕПТИДА В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ ЧЕЛОВЕКА «С-ПЕПТИД-ИФА»**

## **1. НАЗНАЧЕНИЕ**

**1.1.** Набор реагентов «С-пептид-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации С-пептида в сыворотке (плазме) крови, моче методом твердофазного иммуноферментного анализа.

## **2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА**

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

### 3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

**3.1. Специфичность.** Перекрестная реакция мышинных моноклональных антител к С-пептиду человека с другими анализатами приведена в таблице:

Аналит	Перекрестная реакция, %
инсулин человека	<0.01
проинсулин человека (интактный)	2.7
Humalog	0.3

#### 3.2. Воспроизводимость.

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

#### 3.3. Линейность.

Зависимость концентрации С-пептида в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей С-пептид, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 0.2-20 нг/мл и составляет  $\pm 10.0$  %.

#### 3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации С-пептида предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 0.5 нг/мл. Процент «открытия» составляет 90–110 %.

#### 3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «С-пептид-ИФА» концентрация С-пептида в сыворотке (плазме) крови не превышает 0.015 нг/мл.

#### 3.6. Хук-эффект.

Не обнаружен до концентрации 400 нг/мл.

## 4. СОСТАВ НАБОРА

	Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1	P267CZ	SORB MTP	<b>Планшет</b> 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2	C267CZ	CAL 1 - 6	<b>Калибровочные пробы</b> на основе трис-буфера (рН 7.2-7.4), содержащие известные количества С-пептида - 0; 0.2; 0.5; 2; 5; 20 нг/мл, лиофилизированные (по 0.5 мл каждая)	6	шт.	после восстановления: прозрачные жидкости синего цвета (калибровочная проба 0 - прозрачная бесцветная жидкость)
3	Q267CZ	CONTROL	<b>Контрольная сыворотка</b> на основе сыворотки крови человека с известным содержанием С-пептида, лиофилизированная (0.5 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
4	T267CZ	CONJ HRP	<b>Конъюгат</b> , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость синего цвета
5	S011Z2	DIL SPE	<b>ИФА-Буфер</b> , готов к использованию (22 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость синего цвета
6	R055Z	SUBS TMB	Раствор <b>субстрата тетраметилбензидина (ТМБ)</b> , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
7	S008Z	BUF WASH 26X	<b>Концентрат отмывочного раствора</b> , 26x-кратный (22 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
8	R050Z	STOP	<b>Стоп-реагент</b> , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
9	N003	-	Бумага для заклеивания планшета	2	шт.	-
10	K267CI	-	Инструкция по применению Набора реагентов «С-пептид-ИФА»	1	шт.	-
11	K267CQ	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «С-пептид-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.

**5.5.** Все использованные одноразовые материалы подвергать обработке дезинфицирующими средствами с последующей утилизацией (см. МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения»).

**5.6.** Медицинские отходы класса Б. Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПин 2.1.7.2790-10 «Санитарноэпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

## 6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность содержимого лунок планшета при длине волны 450 нм;
- 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).

#### **7.4. Подготовка калибровочных проб.**

Приготовьте калибровочные пробы и контрольную сыворотку: добавьте 0.5 мл бидистиллированной воды в каждый флакон и тщательно перемешайте. Жидкие калибраторы должны быть использованы в течение 72 часов; для повторного использования их рекомендуется заморозить в аликвотах при температуре ниже 15°C. Для более длительного хранения калибраторы можно аликвотировать и хранить замороженными при температуре ниже -15°C. ВНИМАНИЕ: допускается не более 1 цикла замораживания-оттаивания!

#### **7.5. Подготовка образцов мочи:**

Осветлите образцы центрифугированием. Разбавьте в 21 раз Буфером для разведения образцов. Пример: 10 мкл образца + 200 мкл Буфера для разведения образцов. Внимание: разбавленный образец не хранится!

## **8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА**

**8.1.** Набор реагентов «С-пептид-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 41 исследуемого образца, 6 калибровочных проб и 1 пробы контрольной сыворотки (всего 96 определений).

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

- оставшиеся неиспользованными стрипы необходимо тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;

- 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 приготовления следует хранить при температуре +2...+8 °С не более 72 часов. Допускается однократная заморозка при температуре -20 °С и ниже, хранить не более 12 месяцев;

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

- приготовленный отмывочный раствор следует хранить при комнатной температуре (+18...+25 °С) не более 15 суток или при температуре +2...+8 °С не более 45 суток.

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

**8.4.** Для проведения анализа не следует использовать гемолизованную, мутную сыворотку (плазму) крови, а также сыворотку (плазму) крови, содержащую азид натрия. Если анализ производится не в день взятия крови, сыворотку (плазму) следует хранить при температуре -20 °С. Повторное замораживание-оттаивание образцов сыворотки (плазмы) крови не допускается. Допускается исследование сывороток, хранение которых с момента забора крови осуществлялось при температуре от +2 °С до +8 °С не более 7 суток. Образцы мочи следует осветлить центрифугированием перед анализом или после разморозки.

**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 С-пептида в контрольной сыворотке.

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

## 9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	<b>Поместите</b> в рамку необходимое количество стрипов - исследуемые образцы в 2 повторях и 14 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки.
2	<b>Приготовьте калибровочные пробы и контрольную сыворотку:</b> добавьте 0.5 мл бидистиллированной воды в каждый флакон и тщательно перемешайте. Жидкие калибраторы должны быть использованы в течение 72 часов; для повторного использования их рекомендуется заморозить в аликвотах при температуре ниже 15°C. Для более длительного хранения калибраторы можно алик-вотировать и хранить замороженными при температуре ниже -15°C. ВНИМАНИЕ: допускается не более 1 цикла замораживания-оттаивания!
3	<b>Подготовьте образцы мочи</b> для анализа (п 7.5)
4	Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по <b>25 мкл калибровочной пробы и контрольной сыворотки</b> . В остальные лунки внесите в дубликатах по 25 мкл <b>исследуемых образцов</b> сыворотки (плазмы) крови, подготовленных образцов мочи. Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
5	Внесите во все лунки по <b>100 мкл конъюгата</b> .
6	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и <b>инкубируйте его в течение 60 минут при температуре +18...+25 °С</b> .
7	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и <b>отмойте лунки 5 раз</b> . При каждой отмывке добавьте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п.7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок постукиванием планшета в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.
8	Внесите во все лунки по <b>100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина</b> . Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2-3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной тем-пературе (+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 <b>100 мкл стоп-реагента</b> , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
10	<b>Измерьте величину оптической плотности (ОП)</b> 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.
11	Постройте в линейных координатах калибровочный график: ось абсцисс (x) - концентрация С-пептида в калибровочных пробах (нг/мл), ось ординат (y) - оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма обсчета (ап-проксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод.
12	Определите по калибровочному графику содержание С-пептида 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 С-пептида в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0.015 нг/мл), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (20 нг/мл) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация С-пептида ниже 0.015 нг/мл или выше 20 нг/мл.

В Наборе «С-пептид-ИФА» значения концентраций калибровочных проб выражены в нг/мл. Для пересчета концентраций в пкмоль/л, полученное значение концентрации в нг/мл следует умножить на 331.

$$1 \text{ нг/мл} = 331 \text{ пкмоль/л}$$

Исследуемая группа	Единицы, нг/мл		Единицы доп., пкмоль/л	
	Нижний предел	Верхний предел	Нижний предел	Верхний предел
Сыворотка (плазма)	0.9	5.0	298	1655
моча	2 мкг/день	260 мкг/день		

По вопросам, касающимся качества Набора «С-пептид-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 C-peptide in blood serum or plasma.

This kit is designed for measurement of C-peptide 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. 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 C-peptide-antibodies. Antigen from the specimen is captured by the antibodies coated onto the microwell surface. Second antibodies - murine monoclonal to human C-peptide, 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.

### 3. WARNINGS AND PRECAUTIONS

**3.1.** For professional use only.

**3.2.** This kit is intended for in vitro diagnostic use only.

**3.3. 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.

**3.4.** Avoid contact with stop solution containing 5.0 % H<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>. It may cause skin irritation and burns.

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

**3.6.** Do not use the kit beyond the expiration date.

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

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

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

**3.10.** Do not mix reagents from different lots.

**3.11.** Replace caps on reagents immediately. Do not swap caps.

**3.12.** Do not pipette reagents by mouth.

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

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

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

## 4.1. Contents of the Kit

## 4. KIT COMPONENTS

Symbol	Description	Qty	Units	Colour code	Stability of opened/diluted components
1 SORB MTP	C-peptide EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp.date
2 CAL 1 - 6	Calibrator set, 0.5 ml each. The set contains 6 calibrators: 0; 0.2; 0.5; 2; 5; 20 ng/ml	6	pcs	blue (C1 - colourless)	2 months
3 CON-TROL	Control serum (0.5 ml)	1	pcs	colourless	2 months
4 CONJ HRP	Conjugate, 14 ml	1	pcs	blue	until exp.date
5 DIL SPE	EIA buffer 22 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 K267CI	Instruction C-peptide EIA	1	pcs	-	N/A
11 K267CQ	QC data sheet C-peptide EIA			-	N/A

**4.2.** Equipment and material required but not provided

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

**4.3.** 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.

**5. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE**

Specimens of serum/plasma may be stored for up to 72 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.

Urine:

Centrifuge sample to clear. Urine samples may be stored for up to 36 hours at +2...+8 °C prior to assaying.

Dilute sample by DIL SPE in 21 times. Do not store diluted samples!

**6. TEST PROCEDURE****6.1.** 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.

**6.2.** Procedural Note:

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

**6.3.** Assay flowchart

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

#### 6.4. 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	Before first use of the kit dissolve the calibrators: add 0.5 ml deionized water to each vial and mix thoroughly avoiding foam formation. Liquid calibrators should be assayed within an 72 hour, aliquoted and stored frozen below -15 °C. For long term storage it is recommended to freeze the calibrators in aliquoted portions and store below -15 °C. ATTENTION: AVOID MORE THAN 1 FREEZE-THAW CYCLES!
3	Pipet 25 µl of calibrators CAL 1 - 6, control samples CONTROL and unknown samples into the wells.
4	Dispense 100 µl of CONJ HRP into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape (included into the kit).
5	Incubate 60 minutes at 18-25°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.
13	Apply point-by-point method for data reduction.

#### 6.5. Handling notes

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

## 7. 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.

## 8. CALCULATION OF RESULTS

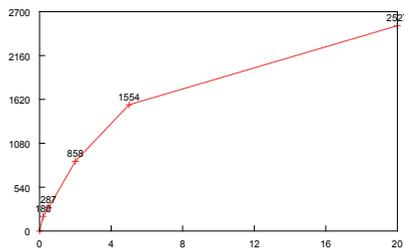
**8.1.** Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

**8.2.** Plot a calibration curve on graph paper: OD versus C-peptide concentration.

**8.3.** Determine the corresponding concentration of C-peptide 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.

**8.4.** 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	0.2 ng/ml	0.23
CAL 3	0.5 ng/ml	0.33
CAL 4	2 ng/ml	0.90
CAL 5	5 ng/ml	1.60
CAL 6	20 ng/ml	2.57



## 9. 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 C-peptide. 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		Units alternative, pM	
	Lower limit	Upper limit	Lower limit	Upper limit
serum (plasma)	0.9	5.0	298	1655
urine	2 ug/day	260 ug/day	0	0

## 10. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

### 10.1. Analytical specificity / Cross reactivity

Analyte	Cross-reactivity, % wt/wt
Human insulin	<0.01
Human proinsulin (intact)	2.7
Humalog	0.3

### 10.2. Precision

Intra-assay precision is shown below:

Serum, no	duplicated	value, ng/ml	CV1, %
1	10	0.6	6.7
2	10	5.8	7,7

Inter-assay precision is shown below:

Serum, no	duplicated	value, ng/ml	CV, %
1	10	0.85	4.5
2	10	4.3	5.6

### 10.3. Analytical sensitivity

Sensitivity of the assay was assessed as being 0.015 ng/ml.

### 10.4. Linearity

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

### 10.5. Recovery

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



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 ОБЩЕГО IgG  
В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ**

**«общий IgG-ИФА»**

**A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY  
FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION  
OF TOTAL IgG IN HUMAN BIOLOGICAL FLUIDS**

**Total IgG EIA**

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ REF **K271**

ТУ № 9398-271-18619450-2009

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ  
№ ФСР 2009/06104 от 19 ноября 2009 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 *ин vitro* диагностики

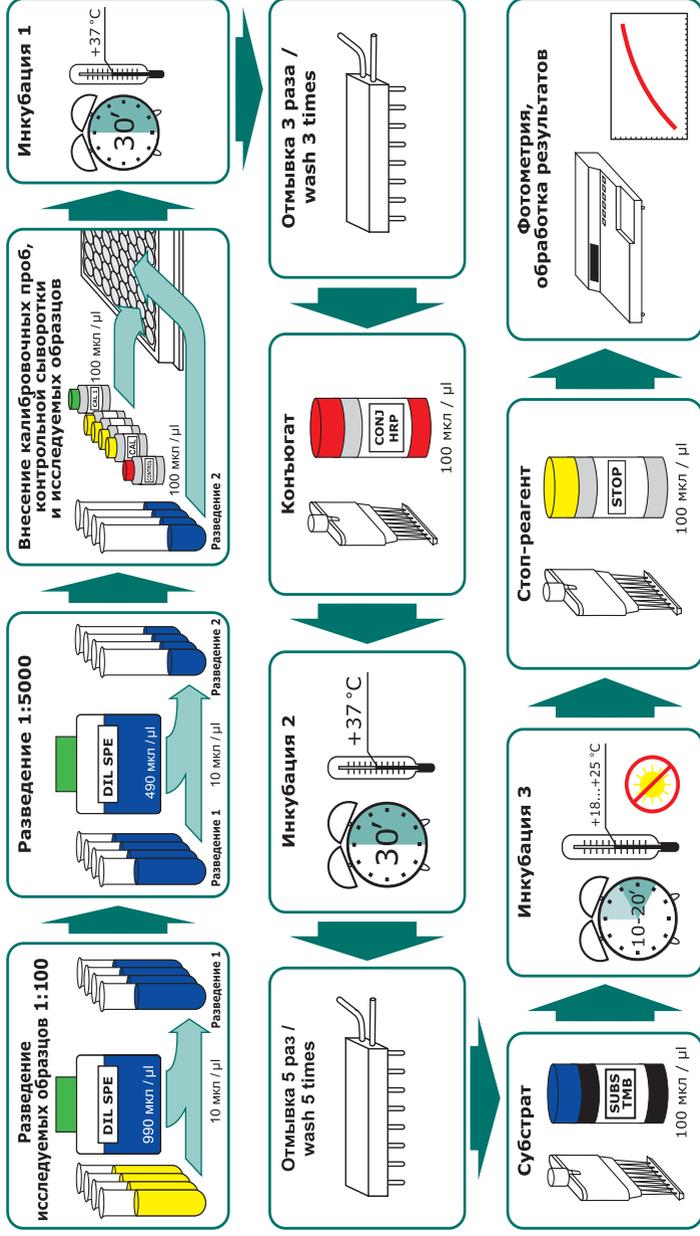


XEMA Co., Ltd.  
The 9th Parkovaya str., 48  
105264 Moscow, Russia  
Tel./fax: +7(495) 510-57-07  
e-mail: redkin@xema-medica.com  
internet: www.xema-medica.com



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

## Схема проведения анализа / Test procedure \*



\* Для сыворотки (плазмы) крови.  
Способ разведения для других видов материала приведен в таблице М

\* Blood serum or plasma  
For other tested materials, see table M.

**K271**

**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	9
11. ЛИТЕРАТУРА	9

**CONTENT**

1. INTENDED USE	10
2. SUMMARY AND EXPLANATION	10
3. PRINCIPLE OF THE TEST	10
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 IgG В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ «общий IgG-ИФА»**

### **1. НАЗНАЧЕНИЕ**

**1.1.** Набор реагентов «общий IgG-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации общего IgG в биологических жидкостях (см. таблицу М) методом твердофазного иммуноферментного анализа.

**1.2.** Антитела класса IgG преобладают в составе фракции  $\gamma$  – глобулинов и являются основным классом антител, присутствующих в сыворотке крови человека. Увеличение концентрации IgG в сыворотке крови является основным признаком зрелого иммунного ответа, а снижение их концентрации ниже 5 г/л свидетельствует о развитии тяжелого иммунодефицита. Определение концентрации IgG в сыворотке крови, как и соотношения содержания IgG/IgA/IgM может служить одним из основных критериев оценки иммунного статуса индивида и использоваться при контроле лечения некоторых инфекционных заболеваний. Резкое повышение концентрации IgG в сыворотке крови наблюдается при миеломной болезни.

### **2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА**

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

### 3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

**3.1. Специфичность.** Перекрестная реакция мышиных моноклональных антител к общему IgG с другими аналитами приведена в таблице:

Аналит	Перекрестная реакция, %
IgA	<0.1
IgM	<0.1
IgE	<0.1

#### 3.2. Воспроизводимость.

Коэффициент вариации результатов определения содержания общего IgG в одном и том же образце биологических жидкостей с использованием Набора «общий IgG-ИФА» не превышает 8.0%.

#### 3.3. Линейность.

Зависимость концентрации общего IgG в образцах биологических жидкостей при разведении их биологическими жидкостями, не содержащими общий IgG, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 1–25 г/л и составляет  $\pm 10.0\%$ .

#### 3.4. Точность.

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

#### 3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «общий IgG-ИФА» концентрация общего IgG в биологических жидкостях не превышает 0.06 г/л.

## 4. СОСТАВ НАБОРА

Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1 P271Z	SORB MTP	<b>Планшет</b> 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2 C271Z	CAL 1-5	<b>Калибровочные пробы</b> на основе трис-буфера (pH 7.2-7.4), содержащие известные количества общего IgG – <b>0; 1; 5; 10; 25 г/л</b> , готовы к использованию (по 1 мл каждая)	5	шт.	прозрачные жидкости синего цвета (калибровочная проба 0 – прозрачная бесцветная жидкость)
3 Q271Z	CONTROL	<b>Контрольная сыворотка</b> на основе сыворотки крови человека с известным содержанием общего IgG, готова к использованию (1 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
4 T271Z	CONJ HRP	<b>Конъюгат</b> , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость красного цвета
5 SP271Z	DIL SPE	<b>Буфер для разведения образцов</b> , готов к использованию (100 мл)	1	шт	прозрачная жидкость синего цвета
6 R055Z	SUBS TMB	<b>Раствор субстрата тетраметилбензидина</b> (TMB), готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
7 S008Z	BUF WASH 26X	<b>Концентрат отмывочного раствора</b> (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26x-кратный (22 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
8 R050Z	STOP	<b>Стоп-реагент</b> , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
9 N003	-	Бумага для заклеивания планшета	2	шт.	-
10 K271I	-	Инструкция по применению Набора реагентов «общий IgG-ИФА»	1	шт.	-
11 K271Q	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «общий IgG-ИФА»	1	шт.	-

## 5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

**5.1.** Потенциальный риск применения Набора – класс 2а (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 10–250 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 ( $+18\dots+25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) 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  $+2\dots+8\text{ }^{\circ}\text{C}$  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 «общий IgG-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;
- Буфер для разведения образцов, 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. Допускается исследование сывороток, хранение которых с момента забора крови осуществлялось при температуре от +2 °С до +8 °С не более 7 суток.

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

**8.6.** При использовании Набора для проведения нескольких независимых серий анализов следует иметь в виду, что для каждого независимого определения необходимо построение нового калибровочного графика; кроме этого, рекомендуется определение концентрации общего IgG 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	<b>Разбавьте образцы сыворотки (плазмы) крови в 5000 раз</b> , используя Буфер для разведения образцов (SP271Z). Пример: в пробирку Разведение 1 (1:100) добавьте 10 мкл образца + 990 мкл Буфера для разведения образцов. В другую пробирку Разведение 2 (1:5000) добавьте: 10 мкл Разведения 1 + 490 мкл Буфера для разведения образцов. Разведение 2 (1:5000) следует использовать в анализе. Способ разведения для других видов материала приведен в таблице М. Не разбавляйте калибровочные пробы и контрольную сыворотку.
3	Если предполагаемая концентрация общего IgG в исследуемом образце превышает 25 г/л, его следует дополнительно развести, используя Буфер для разведения образцов (SP271Z). Использование других буферов и реагентов для разбавления образцов может исказить результаты определения! Примечание. Для получения надежных результатов рекомендуется использовать несколько последовательных разведений исследуемого образца биологических жидкостей.
4	<b>Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 100 мкл каждой калибровочной пробы и контрольной сыворотки</b> . При исследовании сыворотки (плазмы) крови в лунки, предназначенные для исследуемых образцов, <b>внесите по 100 мкл разбавленных образцов (Разведение 2)</b> . При исследовании других видов материала объем вносимого исследуемого образца указан в таблице М. Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
5	Аккуратно перемешайте содержимое планшета круговыми движениями по горизонтальной поверхности, закройте планшет бумагой для заклеивания планшета. <b>Инкубируйте планшет в течение 30 минут при температуре +37 °С</b> .
6	По окончании инкубации удалите содержимое лунки аспирацией (например, с помощью водоструйного насоса) или декантированием и <b>отмойте лунки 3 раза</b> . При каждой отмывке добавьте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п. 7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок.
7	<b>Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата</b> .
8	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и <b>инкубируйте его в течение 30 минут при температуре +37 °С</b> .
9	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и <b>отмойте лунки 5 раз</b> .
10	<b>Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина</b> 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	<b>Внесите во все лунки</b> с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, <b>по 100 мкл стоп-реагента</b> , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
12	<b>Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре</b> вертикального сканирования <b>при длине волны 450 нм</b> . Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра выставляйте по калибровочной пробе С1.

продолжение таблицы на стр. 8

13	Постройте в линейных координатах калибровочный график: ось абсцисс (X) – концентрация общего IgG в калибровочных пробах (г/л), ось ординат (Y) – оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма подсчета (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод.
14	Определите по калибровочному графику содержание общего IgG в исследуемых образцах. Если исследуемый образец преобразовали (см. п. 3), умножьте полученный результат на фактор разведения. При анализе различных видов материала необходимо умножить полученные значения на фактор пересчета, приведенный в таблице М.

Таблица М

Вид материала	Сбор, хранение и обработка материала	Пример разведения	Буфер для разведения образцов в лунку, мкл	Образец в лунку, мкл	Фактор пересчета
сыворотка (плазма) крови	Исследуемые образцы должны быть тщательно отцентрифугированы. Анализ мутных, хилезных и гемолитических образцов может привести к искажению результатов.	Разведение 1 (1:100): 10 мкл образца + 990 мкл Буфера для разведения образцов. Вторую пробу Разведение 2 (1:5000) добавьте 10 мкл Разведения 1 + 490 мкл Буфера для разведения образцов. Разведение 2 (1:5000) следует использовать в анализе	0	100	1
слюна	Исследуемые образцы должны быть тщательно отцентрифугированы. Анализ мутных образцов может привести к искажению результатов.		90	10	0.002
моча	Исследуемые образцы должны быть тщательно отцентрифугированы. Анализ мутных образцов может привести к искажению результатов.		50	50	0.0004
спинно-мозговая жидкость	Исследуемые образцы должны быть тщательно отцентрифугированы. Анализ мутных образцов может привести к искажению результатов.	10 мкл образца + 500 мкл буфера для разведения образцов	0	100	0.01

## 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 IgG в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0.06 г/л), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (25 г/л) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация общего IgG ниже 0.06 г/л или выше 25 г/л.

Исследуемая группа	Единицы, г/л	
	Нижний предел	Верхний предел
новорожденные	7.0	15
1-3 месяца	2.7	8.0
4-6 месяцев	1.8	8.5
7-12 месяцев	3.5	12
1-6 лет	6.5	18
7-11 лет	8.5	15
> 11 лет	9.0	20

## 11. ЛИТЕРАТУРА

1. RG Hamilton – Human IgG subclass measurements in the clinical laboratory. Clin. Chem., Oct 1987; 33: 1707 – 1725.
2. V. A. Semenova, E. Steward-Clark, K. L. Stamey, T. H. Taylor, Jr., D. S. Schmidt, S. K. Martin, N. Marano, and C. P. Quinn – Mass Value Assignment of Total and Subclass Immunoglobulin G in a Human Standard Anthrax Reference Serum. Clin. Diagn. Lab. Immunol., Sep 2004; 11: 919 – 923.

По вопросам, касающимся качества Набора **«общий IgG-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 IgG IN HUMAN BIOLOGICAL FLUIDS**

### **1. INTENDED USE**

A solid-phase enzyme immunoassay for the quantitative determination of total IgG in biological fluids.

This kit is designed for measurement of total IgG in biological fluids. 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**

Immunoglobulin G (IgG) is the main part of serum  $\gamma$  - globulin fraction. IgG is secreted during secondary immune response and plays a key role in humoral immunity. Decrease of serum IgG concentration below 5 g/l is a marker of severe life-threatening immunodeficiency. Determination of serum IgG concentration and IgG/IgA/IgM ratios can be used for monitoring of humoral immune status. Marked elevation of serum IgG may be observed in chronic inflammation, autoimmune diseases and myeloma.

### **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 IgG-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 total IgG, 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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. It may cause skin irritation and burns.

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

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

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

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

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

**4.10.** Do not mix reagents from different lots.

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

**4.12.** Do not pipette reagents by mouth.

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

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

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

## 5.1. Contents of the Kit

## 5. KIT COMPONENTS

Symbol	Description	Qty	Units	Colour code	Stability of opened/diluted components
1	SORB MTP total IgG EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp.date
2	CAL 1-5 Calibrator set, 1 ml each. The set contains 5 calibrators: 0; 1; 5; 10; 25 g/l	5	pcs	blue (Cl – colourless)	2 months
3	CONTROL Control serum (1 ml)	1	pcs	colourless	2 months
4	CONJ HRP Conjugate, 14 ml	1	pcs	red	until exp.date
5	DIL SPE EIA sample buffer 100 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	K2711 Instruction total IgG EIA	1	pcs		N/A
11	K271Q QC data sheet total IgG 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  $\mu\text{l}$ , is useful but not essential;
- Calibrated micropipettes with variable volume, range volume 10–250  $\mu\text{l}$ ;
- 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

**5.3.** Storage and stability of the Kit

Store the whole kit at +2...+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.

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

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

**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	Dilute samples using buffer DIL SPE (EIA sample buffer) 5000 fold. See table M for dilution modes and factors for different types of analyzed material. Do not dilute control sample and calibrators.
3	If suggested analyte concentration in the sample exceeds the highest calibrator, additionally dilute this sample accordingly, using DIL SPE (EIA sample buffer). Use of other buffers or reagents for sample dilution may lead to incorrect measurement.
4	Pipet 100 µl of calibrators CAL 1-5 and control samples CONTROL into allocated wells. For testing of blood serum or plasma pipet 100 µl of the unknown diluted sample (DILUTION 2) into the allocated wells. See table M for the volumes of other materials. Pipetting should be made within 3 minutes, to ensure an uniform incubation time for all samples. Carefully mix the contents of the wells by short horizontal rotating of the plate for 5-7 seconds and 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. Use Calculation factor listed in table M to calculate analyte concentration in different material types.

### 7.5. Sample processing

Material type	Notes on material collection, storage and handling	Sample dilution example	EIA sample buffer into the well, $\mu\text{l}$	Sample into the well, $\mu\text{l}$	Calculation factor
blood serum or plasma	Grossly hemolytic, lipemic, or turbid samples should be avoided and should be treated by centrifugation before testing.	10 $\mu\text{l}$ of sample + 990 $\mu\text{l}$ of diluent = DILUTION 1. 10 $\mu\text{l}$ of DILUTION 1 + 490 $\mu\text{l}$ of diluent = DILUTION 2	0	100	1
saliva	Grossly hemolytic, lipemic, or turbid samples should be avoided and should be treated by centrifugation before testing.		90	10	0.002
urine	Grossly hemolytic, lipemic, or turbid samples should be avoided and should be treated by centrifugation before testing.		50	50	0.0004
cerebrospinal fluid	Grossly hemolytic, lipemic, or turbid samples should be avoided and should be treated by centrifugation before testing.	10 $\mu\text{l}$ of sample + 500 $\mu\text{l}$ of diluent	0	100	0.01

### 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.

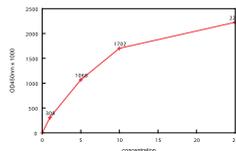
**9.2.** Plot a calibration curve on graph paper: OD versus total IgG concentration.

**9.3.** Determine the corresponding concentration of total IgG 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 g/l	0.08
CAL 2	1 g/l	0.38
CAL 3	5 g/l	1.15
CAL 4	10 g/l	1.78
CAL 5	25 g/l	2.30



## 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 total IgG. 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, g/l	
	Lower limit	Upper limit
newborn	7.0	15
1-3 month	2.7	8.0
4-6 month	1.8	8.5
7-12 month	3.5	12
1-6 yrs	6.5	18
7-11 yrs	8.5	15
> 11 yrs	9.0	20

## 11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

### 11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

Analyte	Cross-reactivity, % wt/wt
IgA	<0.1
IgM	<0.1
IgE	<0.1

**11.2.** Analytical sensitivity. Sensitivity of the assay was assessed as being 0.06 g/l.

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

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

## 12. LITERATURE

- RG Hamilton – Human IgG subclass measurements in the clinical laboratory. Clin. Chem., Oct 1987; 33: 1707 – 1725.
- V. A. Semenova, E. Steward-Clark, K. L. Stamey, T. H. Taylor, Jr., D. S. Schmidt, S. K. Martin, N. Marano, and C. P. Quinn – Mass Value Assignment of Total and Subclass Immunoglobulin G in a Human Standard Anthrax Reference Serum. Clin. Diagn. Lab. Immunol., Sep 2004; 11: 919 – 923.

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  
производитель средств 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;

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 ОБЩЕГО IgA  
В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ**

**«Общий IgA-ИФА»**

**A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY  
FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION  
OF TOTAL IgA IN HUMAN BIOLOGICAL FLUIDS**

**Total IgA EIA**

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF K275**

ТУ № 9398-275-18619450-2009

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ  
№ ФСР 2009/06103 от 19 ноября 2009 г.



For 96 determinations/На 96 определений



Для *ин витро* диагностики

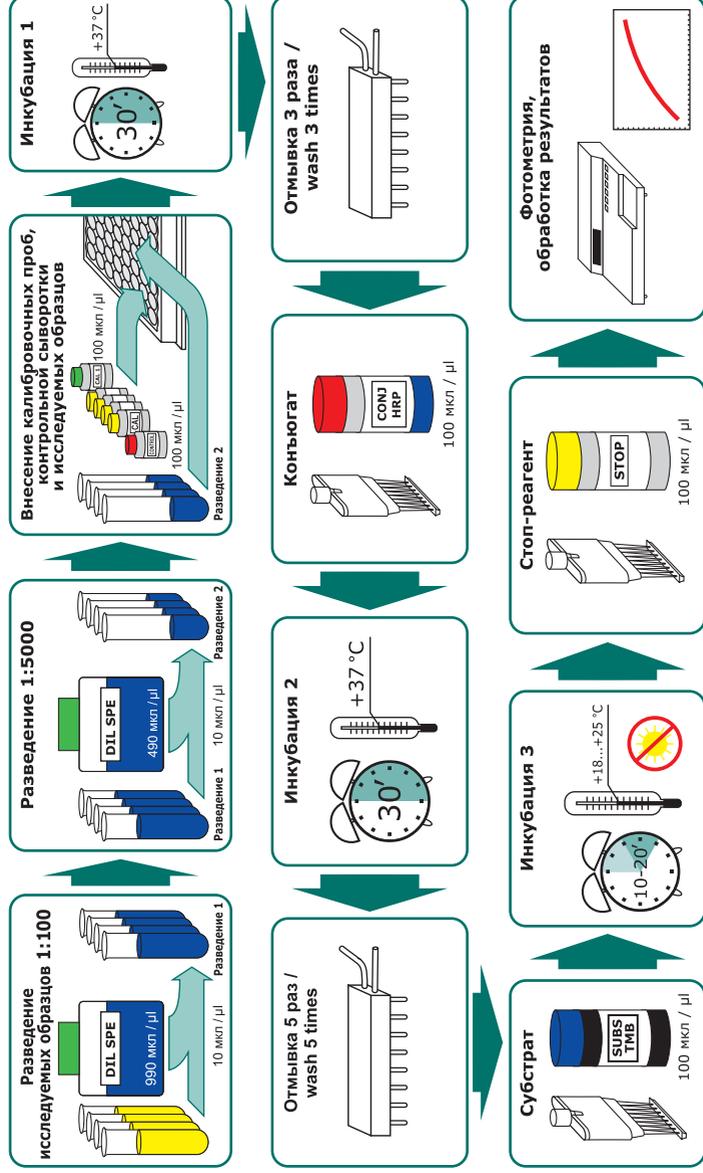


XEMA Co., Ltd.  
The 9th Parkovaya str., 48  
105264 Moscow, Russia  
Telephone/fax: +7(495) 737-39-36; 737-00-40  
e-mail: redkin@xema-medica.com  
internet: www.xema-medica.com



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

## Схема проведения анализа / Test procedure \*



**K271, K274, K275, K277**

\* Для сыворотки (плазмы) крови. Способ разведения для других видов материала приведен в таблице М

\* Blood serum or plasma  
For other tested materials, see table M.

**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	9
11. ЛИТЕРАТУРА	9

**CONTENT**

1. INTENDED USE	10
2. SUMMARY AND EXPLANATION	10
3. PRINCIPLE OF THE TEST	10
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 IgA В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ «общий IgA-ИФА»**

### **1. НАЗНАЧЕНИЕ**

**1.1.** Набор реагентов «общий IgA-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации общего IgA в биологических жидкостях (см. таблицу М) методом твердофазного иммуноферментного анализа.

**1.2.** Иммуноглобулин А (IgA) основной гуморальный фактор иммунной защиты слизистых оболочек. Один из наиболее часто встречающихся в популяции врожденных дефектов – это селективный IgA дефицит. Селективный дефицит IgA приводит к синдрому хронических инфекционных заболеваний желудочно-кишечного тракта, мочевыводящих и дыхательных путей. Определение концентрации IgA в сыворотке крови, а также в других биологических жидкостях может использоваться в качестве основного скринингового теста для оценки гуморального иммунного статуса индивида. Резкое повышение сывороточной концентрации IgA характерно для некоторых аутоиммунных заболеваний и миеломной болезни.

### **2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА**

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

### 3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

**3.1. Специфичность.** Перекрестная реакция мышиных моноклональных антител к общему IgA с другими аналитами приведена в таблице:

Аналит	Перекрестная реакция, %
IgG	<0.1
IgM	<0.1
IgE	<0.1

#### 3.2. Воспроизводимость.

Коэффициент вариации результатов определения содержания общего IgA в одном и том же образце биологических жидкостей с использованием Набора «общий IgA-ИФА» не превышает 8.0%.

#### 3.3. Линейность.

Зависимость концентрации общего IgA в образцах биологических жидкостей при разведении их биологическими жидкостями, не содержащей общий IgA, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 0.1–5 г/л и составляет  $\pm 10.0\%$ .

#### 3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации общего IgA предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 0.5 г/л. Процент «открытия» составляет 90–110%.

#### 3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «общий IgA-ИФА» концентрация общего IgA в биологических жидкостях не превышает 0.06 г/л.

## 4. СОСТАВ НАБОРА

Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1 P275Z	SORB MTP	<b>Планшет</b> 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2 C275Z	CAL 1-5	<b>Калибровочные пробы</b> на основе трис-буфера (рН 7,2-7,4), содержащие известные количества общего IgA – <b>0; 0.1; 0.5; 2; 5 г/л</b> , готовы к использованию (по 1 мл каждая)	5	шт.	прозрачные жидкости синего цвета (калибровочная проба 0 – прозрачная бесцветная жидкость)
3 Q275Z	CONTROL	<b>Контрольная сыворотка</b> на основе сыворотки крови человека с известным содержанием общего IgA, готова к использованию (1 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
4 T275Z	CONJ HRP	<b>Конъюгат</b> , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость синего цвета
5 S011Z4	DIL SPE	<b>ИФА-Буфер</b> , готов к использованию (100 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость синего цвета
6 R055Z	SUBS TMB	<b>Раствор субстрата тетраметилбензидина</b> (ТМБ), готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
7 S008Z	BUF WASH 26X	<b>Концентрат отмывочного раствора</b> (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26х-кратный (22 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
8 R050Z	STOP	<b>Стоп-реагент</b> , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
9 N003	-	Бумага для заклеивания планшета	2	шт.	-
10 K275I	-	Инструкция по применению Набора реагентов «общий IgA-ИФА»	1	шт.	-
11 K275Q	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «общий IgA-ИФА»	1	шт.	-

## 5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

**5.2.** Все компоненты Набора, за исключением стоп-реагента (5.0% раствор серной кислоты), в используемых концентрациях являются нетоксичными.

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

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

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

## 6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность содержимого лунок планшета при длине волны 450 нм;
- термостат, поддерживающий температуру  $+37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы в диапазоне 5–250 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 «общий IgA-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 общего IgA 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	Разбавьте образцы сыворотки (плазмы) крови в 5000 раз, используя ИФА-Буфер. Пример: в пробирку Разведение 1 (1:100): 10 мкл образца + 990 мкл ИФА-Буфера. В другую пробирку Разведение 2 (1:5000) добавьте 10 мкл Разведения 1 + 490 мкл ИФА-Буфера. Разведение 2 (1:5000) следует использовать в анализе. Способ разведения для других видов материала приведен в таблице М. Не разбавляйте калибровочные пробы и контрольную сыворотку.
3	Если предполагаемая концентрация общего IgA в исследуемом образце превышает 5 г/л, его следует дополнительно развести, используя ИФА-Буфер. Использование других буферов и реагентов для разбавления образцов может искажать результаты определения! Примечание. Для получения надежных результатов рекомендуется использовать несколько последовательных разведений исследуемого образца биологических жидкостей.
4	<b>Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 100 мкл каждой калибровочной пробы и контрольной сыворотки.</b> При исследовании сыворотки (плазмы) крови в лунки, предназначенные для исследуемых образцов, <b>внесите по 100 мкл разбавленных образцов (Разведение 2)</b> . При исследовании других видов материала объем вносимого исследуемого образца указан в таблице М. Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
5	Аккуратно перемешайте содержимое планшета круговыми движениями по горизонтальной поверхности, закройте планшет бумагой для заклеивания планшета. <b>Инкубируйте планшет в течение 30 минут при температуре +37 °С.</b>
6	По окончании инкубации удалите содержимое лунок аспирацией (например, с помощью водоструйного насоса) или декантированием и <b>отмойте лунки 3 раза</b> . При каждой отмывке добавляйте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п. 7.3), встряхните планшет 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	<b>Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.</b>
8	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и <b>инкубируйте</b> его в течение <b>30 минут при температуре +37 °С.</b>
9	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и <b>отмойте лунки 5 раз</b> .
10	<b>Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина.</b> Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2–3 мин. <b>Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °С) в течение 10–20 минут</b> в зависимости от степени развития синего окрашивания.
11	<b>Внесите во все лунки</b> с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, <b>по 100 мкл стоп-реагента</b> , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
12	<b>Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре</b> вертикального сканирования <b>при длине волны 450 нм</b> . Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра представляйте по калибровочной пробе С1.

продолжение таблицы на стр. 8

13	Постройте в линейных координатах калибровочный график: ось абсцисс (x) – концентрация общего IgA в калибровочных пробах (г/л), ось ординат (y) – оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма обсева (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод.
14	Определите по калибровочному графику содержание общего IgA в исследуемых образцах. Если исследуемый образец преобразовали (см. п.3), умножьте полученный результат на фактор разведения. При анализе различных видов материала необходимо умножить полученные значения на фактор пересчета, приведенный в таблице М.

Таблица М

Вид материала	Сбор, хранение и обработка материала	Пример разведения	ИФА-Буфер в лунку, мкл	Образец в лунку, мкл	Фактор пересчета
сыворотка (плазма крови)	Исследуемые образцы должны быть тщательно отцентрифугированы. Анализ мутных, хилезных и гемолитических образцов может привести к искажению результатов.	Разведение 1 (1:100): 10 мкл образца + 990 мкл ИФА-Буфера. В другую пробирку Разведение 2 (1:5000) добавьте 10 мкл Разведения 1 + 490 мкл ИФА-Буфера. Разведение 2 (1:5000) следует использовать в анализе	0	100	1
слюна	Исследуемые образцы должны быть тщательно отцентрифугированы. Анализ мутных образцов может привести к искажению результатов.	5 мкл образца + 500 мкл ИФА-Буфера	90	10	0.2
моча	Исследуемые образцы должны быть тщательно отцентрифугированы. Анализ мутных образцов может привести к искажению результатов.		80	20	0.001
спинно-мозговая жидкость	Исследуемые образцы должны быть тщательно отцентрифугированы. Анализ мутных образцов может привести к искажению результатов.		50	50	0.0004

## 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 IgA в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0.06 г/л), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (5 г/л) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация общего IgA ниже 0.06 г/л или выше 5 г/л.

Исследуемая группа	Единицы, г/л	
	Нижний предел	Верхний предел
Здоровые доноры	0.9	5.0
>61 года	1.0	6.5
новорожденные	-	0.05
1-3 месяца	0.06	0.6
4-6 месяцев	0.1	1.0
7-12 месяцев	0.35	1.7
1-6 лет	0.8	2.2
7-11 лет	0.9	2.6

## 11. ЛИТЕРАТУРА

1. Heiddis B. Valdimarsdottir and Arthur A. Stone – Psychosocial Factors and Secretory Immunoglobulin A. Critical Reviews in Oral Biology & Medicine, Jan 1997; 8: 461 – 474.
2. Amir H Abdul Latiff and Michael A Kerr – The clinical significance of immunoglobulin A deficiency. Ann Clin Biochem, Mar 2007; 44: 131 – 139.

По вопросам, касающимся качества Набора «**общий IgA-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 IGA IN HUMAN BIOLOGICAL FLUIDS**

### **1. INTENDED USE**

A solid-phase enzyme immunoassay for the quantitative determination of total IgA in biological fluids.

This kit is designed for measurement of total IgA in biological fluids. 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**

Immunoglobulin A (IgA) is a main factor of mucosal immune response to bacteria and viruses. Selective IgA deficiency is one of the most frequent hereditary disorders causing chronic infections inflammation in gastrointestinal, urinary and respiratory systems. Determination of IgA concentration in serum and other biological fluids can be used as screening for selective IgA deficiency and other immunodeficiency syndromes. Marked elevation of serum IgA is observed in some autoimmune diseases and IgA myeloma.

### **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 IgA-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 total IgA, 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.

## 5.1. Contents of the Kit

## 5. KIT COMPONENTS

Symbol	Description	Qty	Units	Colour code	Stability of opened/diluted components
1	SORB MTP total IgA EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp.date
2	CAL 1-5 Calibrator set, 1 ml each. The set contains 5 calibrators: 0; 0.1; 0.5; 2; 5 g/l	5	pcs	blue (C1 – colourless)	2 months
3	CONTROL Control serum (1 ml)	1	pcs	colourless	2 months
4	CONJ HRP Conjugate, 14 ml	1	pcs	blue	until exp.date
5	DIL SPE EIA buffer 100 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	K275I Instruction total IgA EIA	1	pcs		N/A
11	K275Q QC data sheet total IgA 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  $\mu\text{l}$ , is useful but not essential;
- Calibrated micropipettes with variable volume, range volume 5–250  $\mu\text{l}$ ;
- Dry thermostat for +37 °C  $\pm$ 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.

**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	Dilute samples using buffer DIL SPE (EIA buffer) 5000 fold. See table M for dilution modes and factors for different types of analyzed material. Do not dilute control sample and calibrators.
3	If suggested analyte concentration in the sample exceeds the highest calibrator, additionally dilute this sample accordingly, using DIL SPE (EIA buffer). Use of other buffers or reagents for sample dilution may lead to incorrect measurement.
4	Pipet 100 µl of calibrators CAL 1-5 and control samples CONTROL into allocated wells. For testing of blood serum or plasma pipet 100 µl of the diluted unknown sample into the allocated wells. See table M for the volumes of other materials. Pipetting should be made within 3 minutes, to ensure an uniform incubation time for all samples. Carefully mix the contents of the wells by short horizontal rotating of the plate for 5-7 seconds and 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.
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. Use Calculation factor listed in table M to calculate analyte concentration in different material types.

### 7.5. Sample processing

Material type	Notes on material collection, storage and handling	Sample dilution example	EIA buffer into the well, µl	Sample into the well, µl	Calculation factor
blood serum or plasma	Grossly hemolytic, lipemic, or turbid samples should be avoided and should be treated by centrifugation before testing.	10 µl of sample + 990 µl of diluent = DILUTION 1. 10 µl of DILUTION 1 + 490 µl of diluent = DILUTION 2	0	100	1
saliva	Grossly hemolytic, lipemic, or turbid samples should be avoided and should be treated by centrifugation before testing.	5 µl of sample + 500 µl of diluent	90	10	0.2
urine	Grossly hemolytic, lipemic, or turbid samples should be avoided and should be treated by centrifugation before testing.		80	20	0.001
cerebrospinal fluid	Grossly hemolytic, lipemic, or turbid samples should be avoided and should be treated by centrifugation before testing.		50	50	0.0004

### 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

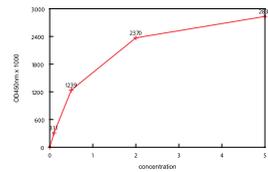
**9.1.** Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

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

**9.3.** Determine the corresponding concentration of total IgA 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 g/l	0.08
CAL 2	0.1 g/l	0.40
CAL 3	0.5 g/l	1.32
CAL 4	2 g/l	2.45
CAL 5	5 g/l	2.92



## 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 total IgA. 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, g/l	
	Lower limit	Upper limit
Healthy donors	0.9	5.0
>61 yr	1.0	6.5
newborn	-	0.05
1-3 month	0.06	0.6
4-6 month	0.1	1.0
7-12 month	0.35	1.7
1-6 yrs	0.8	2.2
7-11 yrs	0.9	2.6

## 11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

### 11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

Analyte	Cross-reactivity, % wt/wt
IgG	<0.1
IgM	<0.1
IgE	<0.1

**11.2.** Analytical sensitivity. Sensitivity of the assay was assessed as being 0.06 g/l.

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

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

## 12. LITERATURE

1. Heiddis B. Valdimarsdottir and Arthur A. Stone – Psychosocial Factors and Secretory Immunoglobulin A. Critical Reviews in Oral Biology & Medicine, Jan 1997; 8: 461 – 474.

2. Amir H Abdul Latiff and Michael A Kerr – The clinical significance of immunoglobulin A deficiency. Ann Clin Biochem, Mar 2007; 44: 131 – 139.

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  
производитель средств лабораторной  
диагностики



Russian Association  
of Medical Laboratory  
Diagnosticians



Российская ассоциация  
медицинских лабораторных  
диагностиков

### Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

**8 800 505 23 45**

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

### Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

#### Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

105043, г. Москва, а/я 58

105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1-й под., 5 этаж

тел.: +7 (495) 510-57 07, 737-39-36;

факс: +7 (495) 737-00-40

e-mail: info@xema.ru

www.xema-medica.com

ФООО «Хема», тел.: +7 (812) 271-24-41

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

e-mail: spb@xema.ru

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

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

литер А, корп. 8/К, офис 416

e-mail: hemma-test@yandex.ru

ТОВ «Хема», тел.: (044) 422-62-16;

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

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com





Instruction for use



**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ  
ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОБЩЕГО IgM  
В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ**

**«Общий IgM-ИФА»**

**A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY  
FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION  
OF TOTAL IgM IN HUMAN BIOLOGICAL FLUIDS**

**Total IgM EIA**

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF K277**

ТУ № 9398-277-18619450-2009

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ  
№ ФСР 2009/06102 от 19 ноября 2009 г.

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



For 96 determinations/На 96 определений



Для *ин витро* диагностики

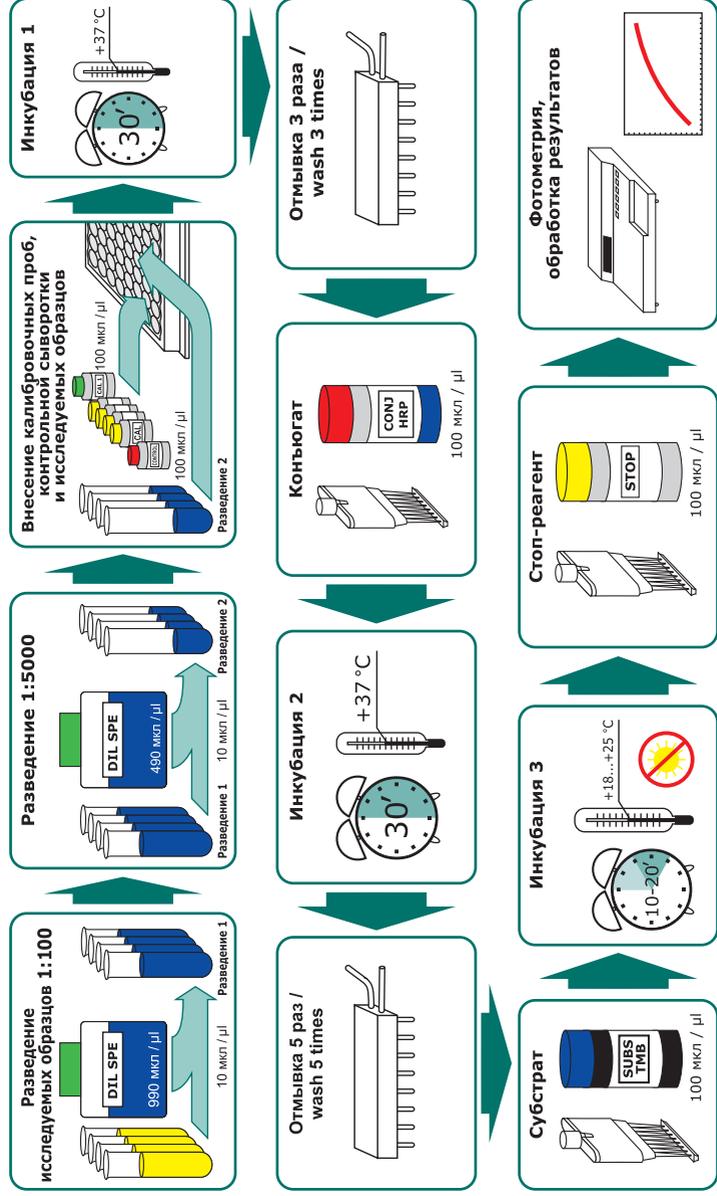


XEMA Co., Ltd.  
The 9th Parkovaya str., 48  
105264 Moscow, Russia  
Telephone/fax: +7(495) 737-39-36; 737-00-40  
e-mail: redkin@xema-medica.com  
internet: www.xema-medica.com



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

## Схема проведения анализа / Test procedure \*



\* Для сыворотки (плазмы) крови.

Способ разведения для других видов материала приведен в таблице М

\* Blood serum or plasma

For other tested materials, see table M.

**K271, K274, K275, K277**

**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	9
11. ЛИТЕРАТУРА	9

**CONTENT**

1. INTENDED USE	10
2. SUMMARY AND EXPLANATION	10
3. PRINCIPLE OF THE TEST	10
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 IgM В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ «Общий IgM-ИФА»**

### **1. НАЗНАЧЕНИЕ**

**1.1.** Набор реагентов «Общий IgM-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации общего IgM в биологических жидкостях (см. таблицу М) методом твердофазного иммуноферментного анализа.

**1.2.** Иммуноглобулин М (IgM) присутствует в крови как в мономерной, так и в пентамерной формах. Повышенная концентрация IgM в сыворотке крови является основным признаком первичного иммунного ответа, а также может свидетельствовать о персистирующих бактериальных и вирусных инфекциях. Снижение концентрации IgM в сыворотке крови наблюдается при некоторых иммунодефицитах. Резкое повышение уровня IgM характерно для макроглобулинемии (болезни Вальденстрема) и IgM миеломы.

### **2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА**

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

### 3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

**3.1. Специфичность.** Перекрестная реакция мышиных моноклональных антител к общему IgM с другими аналитами приведена в таблице:

Аналит	Перекрестная реакция, %
IgA	<0.1
IgG	<0.1
IgE	<0.1

**3.2. Воспроизводимость.**

Коэффициент вариации результатов определения содержания общего IgM в одном и том же образце биологических жидкостей с использованием Набора «Общий IgM-ИФА» не превышает 8.0%.

**3.3. Линейность.**

Зависимость концентрации общего IgM в образцах биологических жидкостей при разведении их биологическими жидкостями, не содержащей общий IgM, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 0.5–10 г/л и составляет  $\pm 10.0\%$ .

**3.4. Точность.**

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации общего IgM предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 2.0 г/л. Процент «открытия» составляет 90–110%.

**3.5. Чувствительность.**

Минимальная достоверно определяемая Набором «Общий IgM-ИФА» концентрация общего IgM в биологических жидкостях не превышает 0.06 г/л.

## 4. СОСТАВ НАБОРА

Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1 P277Z	SORV MTP	<b>Планшет</b> 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2 C277Z	CAL 1-5	<b>Калибровочные пробы</b> на основе трис-буфера (рН 7.2-7.4), содержащие известные количества общего IgM – <b>0; 0.5; 2; 5; 10 г/л</b> , готовы к использованию (по 1 мл каждая)	5	шт.	прозрачные жидкости пурпурного цвета (калибровочная проба 0 – прозрачная бесцветная жидкость)
3 Q277Z	CONTROL	<b>Контрольная сыворотка</b> на основе сыворотки крови человека с известным содержанием общего IgM, готова к использованию (1 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
4 T277Z	CONJ HRP	<b>Конъюгат</b> , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость пурпурного цвета
5 S011Z4	DIL SPE	<b>ИФА-Буфер</b> , готов к использованию (100 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость синего цвета
6 R055Z	SUBS TMB	<b>Раствор субстрата тетраметилбензидина</b> (ТМБ), готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
7 S008Z	BUF WASH 26X	<b>Концентрат отмывочного раствора</b> (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26x-кратный (22 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
8 R050Z	STOP	<b>Стоп-реагент</b> , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
9 N003	-	Бумага для заклеивания планшета	2	шт.	-
10 K2771	-	Инструкция по применению Набора реагентов «Общий IgM-ИФА»	1	шт.	-
11 K277Q	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «Общий IgM-ИФА»	1	шт.	-

## 5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

**5.1.** Потенциальный риск применения Набора – класс 2а (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 5–250 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 «Общий IgM-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;
- Буфер для разведения образцов, 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. Допускается исследование сывороток, хранение которых с момента забора крови осуществлялось при температуре от +2 °С до +8 °С не более 7 суток.

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

**8.6.** При использовании Набора для проведения нескольких независимых серий анализов следует иметь в виду, что для каждого независимого определения необходимо построение нового калибровочного графика; кроме этого, рекомендуется определение концентрации общего IgM 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	<b>Разбавьте образцы</b> сыворотки (плазмы) крови в 5000 раз, используя ИФА-Буфер. Пример: в пробирку Разведение 1 (1:100): 10 мкл образца + 990 мкл ИФА-Буфера. В другую пробирку Разведение 2 (1:5000) добавьте 10 мкл Разведения 1 + 490 мкл ИФА-Буфера. Разведение 2 (1:5000) следует использовать в анализе. Способ разведения для других видов материала приведен в таблице М. Не разбавляйте калибровочные пробы и контрольную сыворотку.
3	Если предполагаемая концентрация общего IgM в исследуемом образце превышает 10 г/л, его следует дополнительно развести, используя ИФА-Буфер. Использование других буферов и реагентов для разбавления образцов может исказить результаты определения! Примечание. Для получения надежных результатов рекомендуется использовать несколько последовательных разведений исследуемого образца биологических жидкостей.
4	<b>Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 100 мкл каждой калибровочной пробы и контрольной сыворотки.</b> При исследовании сыворотки (плазмы) крови в лунки, предназначенные для исследуемых образцов, <b>внесите по 100 мкл разбавленных образцов (Разведение 2)</b> . При исследовании других видов материала объем вносимого исследуемого образца указан в таблице М. 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. <b>Инкубируйте планшет в течение 30 минут при температуре +37 °С.</b>
6	По окончании инкубации удалите содержимое лунок аспирацией (например, с помощью водоструйного насоса) или декантированием и <b>отмойте лунки 3 раза</b> . 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.
7	<b>Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.</b>
8	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и <b>инкубируйте его в течение 30 минут при температуре +37 °С.</b>
9	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и <b>отмойте лунки 5 раз</b> .
10	<b>Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина.</b> Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2–3 мин. <b>Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °С) в течение 10–20 минут</b> в зависимости от степени развития синего окрашивания.
11	<b>Внесите во все лунки</b> с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, <b>по 100 мкл стоп-реагента</b> , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
12	<b>Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре</b> вертикального сканирования <b>при длине волны 450 нм</b> . Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра выставляйте по калибровочной пробе С1.

продолжение таблицы на стр. 8

13	Постройте в линейных координатах калибровочный график: ось абсцисс (x) – концентрация общего IgM в калибровочных пробах (г/л), 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.
14	Определите по калибровочному графику содержание общего IgM в исследуемых образцах. Если исследуемый образец предразводили (см. п.3), умножьте полученный результат на фактор разведения. При анализе различных видов материала необходимо умножить полученные значения на Фактор пересчета, приведенный в таблице М.

Таблица М

Вид материала	Сбор, хранение и обработка материала	Пример разведения	Буфер для разведения образцов в лунку, мкл	Образец в лунку, мкл	Фактор пересчета
сыворотка (плазма) крови	Исследуемые образцы должны быть тщательно отцентрифугированы. Анализ мутных, хилезных и гемолитических образцов может привести к искажению результатов.	Разведение 1 (1:100): 10 мкл образца + 990 мкл Буфера для разведения образцов. В другую пробирку Разведение 2 (1:5000) добавьте 10 мкл Разведение 1 + 490 мкл Буфера для разведения образцов. Разведение 2 (1:5000) следует использовать в анализе	0	100	1
слюна	Исследуемые образцы должны быть тщательно отцентрифугированы. Анализ мутных образцов может привести к искажению результатов.		90	10	0.002
моча	Исследуемые образцы должны быть тщательно отцентрифугированы. Анализ мутных образцов может привести к искажению результатов.		50	50	0.0004
спинно-мозговая жидкость	Исследуемые образцы должны быть тщательно отцентрифугированы. Анализ мутных образцов может привести к искажению результатов.		80	20	0.001

## 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 IgM в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0.06 г/л), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (10 г/л) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация общего IgM ниже 0.06 г/л или выше 10 г/л.

Исследуемая группа	Единицы, г/л	
	Нижний предел	Верхний предел
Здоровые доноры	0.7	3.7
новорожденные	0.1	0.35
1-3 месяца	0.12	0.9
4-6 месяцев	0.25	1.2
7-12 месяцев	0.35	1.0
1-6 лет	0.55	2.2
7-11 лет	0.65	1.7

## 11. ЛИТЕРАТУРА

1. Erik J. Wiersma, Cathy Collins, Shafie Fazel, and Marc J. Shulman Structural and Functional Analysis of J Chain-Deficient IgM J. Immunol., Jun 1998; 160: 5979 – 5989.

По вопросам, касающимся качества Набора «**Общий IgM-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 IgM IN HUMAN BIOLOGICAL FLUIDS**

### **1. INTENDED USE**

A solid-phase enzyme immunoassay for the quantitative determination of total IgM in biological fluids.

This kit is designed for measurement of total IgM in biological fluids. 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**

Immunoglobulin M (IgM) is secreted during primary immune response and exists in monomeric and pentameric forms. Elevated serum IgM is observed in chronic inflammation, macroglobulinemia and IgM myeloma. Decreased IgM level may occur in some immunodeficiency syndromes.

### **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 IgM-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 total IgM, 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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. It may cause skin irritation and burns.

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

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

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

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

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

**4.10.** Do not mix reagents from different lots.

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

**4.12.** Do not pipette reagents by mouth.

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

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

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

## 5.1. Contents of the Kit

## 5. KIT COMPONENTS

Symbol	Description	Qty	Units	Colour code	Stability of opened/diluted components
1	total IgM EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp.date
2	total IgM EIA strips, 8x12 wells Calibrator set, 1 ml each. The set contains 5 calibrators: 0; 0.5; 2; 5; 10 g/l	5	pcs	purple (C1 – colourless)	2 months
3	Control serum (1 ml)	1	pcs	colourless	2 months
4	Conjugate, 14 ml	1	pcs	purple	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 total IgM EIA	1	pcs		N/A
11	QC data sheet total IgM 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 5–250 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.

**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	Dilute samples using buffer DIL SPE (EIA sample buffer) 5000 fold. See table M for dilution modes and factors for different types of analyzed material. Do not dilute control sample and calibrators.
3	If suggested analyte concentration in the sample exceeds the highest calibrator, additionally dilute this sample accordingly, using DIL SPE (EIA sample buffer). Use of other buffers or reagents for sample dilution may lead to incorrect measurement.
4	Pipet 100 µl of calibrators CAL 1–5 and control samples CONTROL into allocated wells. For testing of blood serum or plasma pipet 100 µl of the unknown diluted sample (DILUTION 2) into the allocated wells. See table M for the volumes of other materials. Pipetting should be made within 3 minutes, to ensure an uniform incubation time for all samples. Carefully mix the contents of the wells by short horizontal rotating of the plate for 5–7 seconds and 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.
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. Use Calculation factor listed in table M to calculate analyte concentration in different material types.

## 7.5. Sample processing

Material type	Notes on material collection, storage and handling	Sample dilution example	EIA sample buffer into the well, $\mu\text{l}$	Sample into the well, $\mu\text{l}$	Calculation factor
blood serum or plasma	Grossly hemolytic, lipemic, or turbid samples should be avoided and should be treated by centrifugation before testing.	10 $\mu\text{l}$ of sample + 990 $\mu\text{l}$ of diluent = DILUTION 1. 10 $\mu\text{l}$ of DILUTION 1 + 490 $\mu\text{l}$ of diluent = DILUTION 2	0	100	1
saliva	Grossly hemolytic, lipemic, or turbid samples should be avoided and should be treated by centrifugation before testing.		90	10	0.002
urine	Grossly hemolytic, lipemic, or turbid samples should be avoided and should be treated by centrifugation before testing.		50	50	0.0004
cerebrospinal fluid	Grossly hemolytic, lipemic, or turbid samples should be avoided and should be treated by centrifugation before testing.		80	20	0.001

## 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

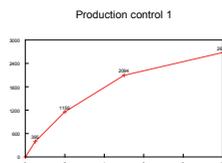
**9.1.** Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

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

**9.3.** Determine the corresponding concentration of total IgM 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 g/l	0.08
CAL 2	0.5 g/l	0.32
CAL 3	2 g/l	0.93
CAL 4	5 g/l	2.15
CAL 5	10 g/l	3.01



## 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 total IgM. 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, g/l	
	Lower limit	Upper limit
Healthy donors	0.7	3.7
newborn	0.1	0.35
1-3 month	0.12	0.9
4-6 month	0.25	1.2
7-12 month	0.35	1.0
1-6 yrs	0.55	2.2
7-11 yrs	0.65	1.7

## 11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

### 11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

Analyte	Cross-reactivity, % wt/wt
IgA	<0.1
IgG	<0.1
IgE	<0.1

**11.2.** Analytical sensitivity. Sensitivity of the assay was assessed as being 0.06 g/l.

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

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

## 12. LITERATURE

Erik J. Wiersma, Cathy Collins, Shafie Fazel, and Marc J. Shulman Structural and Functional Analysis of J Chain-Deficient IgM J. Immunol., Jun 1998; 160: 5979 – 5989.

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



Классический российский  
профессиональный союз клинических  
лабораторных диагностов



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;

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

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com

