

Annex 1

List of devices produced XEMA Co., Ltd.
 registered in German (BfArM-DMIDS) with CE marking

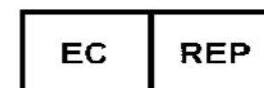
XEMA Co., Ltd.
 bld.48/4, 9th Parkovaya str.
 Moscow 105264, RUSSIA,
 info@xema.ru; www.xema.ru



	Nomenclature term	Catalog number	Short name:	EDMA Classification	Class	Form number All changed by 00313369	Registration number	Certificate number	Registration date	Exp. date
1.	THYROID PEROXIDASE (INCL. MICROSOMAL) ANTIBODIES	K131	aTPO EIA Cat. Nr K131	12-10-03-01-00	other	00082228	DE/CA59/IVD/13/44	00055095	2007-10-29	2025-05-25
2.	THYROGLOBULIN AUTOANTIBODIES	K132	aTG EIA Cat. Nr K132	12-10-03-04-00	other	00082229	DE/CA59/IVD/13/43	00055096	2007-10-29	
3.	MPO ANCA	K133	aMPO EIA Cat. Nr K133	12-10-90-09-00	other	00082229	DE/CA59/IVD/13/42	00055097	2007-10-29	
4.	TISSUE TRANSGLUTAMINASE ANTIBODIES	K160; K161	Anti-tTG IgG EIA Cat. Nr K160; Anti-tTG IgA EIA Cat. Nr K161	12-10-90-21-00	other	00082231	DE/CA59/IVD/13/41	00055098	2007-10-29	
5.	GLIADIN ANTIBODIES	K180; K181; K182A, K182G	Gliadin IgG EIA Cat. Nr K180; Gliadin IgA EIA Cat. Nr K181 ; Deamidated Gliadin IgA EIA, Deamidated Gliadin IgG EIA	12-10-90-06-00	other	00082232/ changed by 00120956	DE/CA59/IVD/13/40	00055099	2011-08-11	
6.	IMMUNOGLOBULIN E – TOTAL	K200	Total IgE EIA Cat. Nr K200	12-02-01-02-00	other	00082233	DE/CA59/IVD/13/39	00055100	2007-10-29	
7.	THYROID STIMULATING HORMONE	K201; K201A	TSH EIA Cat. Nr K201; TSH Plus EIA Cat. Nr K201A	12-04-01-11-00	other	00082237	DE/CA59/IVD/13/38	00055103	2007-10-29	
8.	LUTEINISING HORMONE	K202	LH EIA Cat. Nr K202	12-05-01-05-00	other	00082238	DE/CA59/IVD/13/37	00055104	2007-10-29	
9.	FOLLICLE STIMULATING HORMONE	K203	FSH EIA Cat. Nr K203	12-05-01-04-00	other	00082239	DE/CA59/IVD/13/36	00055105	2007-10-29	
10.	HUMAN GROWTH HORMONE	K204	GH EIA Cat. Nr K204	12-06-04-02-00	other	00082240	DE/CA59/IVD/13/35	00055106	2007-10-29	
11.	HUMAN CHORIONIC GONADOTROPIN TOTAL	K205	HCG EIA Cat. Nr K205	12-05-02-05-00	other	00082241	DE/CA59/IVD/13/34	00055107	2007-10-29	
12.	PROLACTIN	K206	Prolactin EIA Cat. Nr K206	12-05-01-08-00	other	00082242	DE/CA59/IVD/13/33	00055108	2007-10-29	
13.	PROGESTERONE	K207; K207S	Progesterone EIA Cat. Nr K207 ; Salivary Progesterone EIA	12-05-01-06-00	other	00082243/ changed by 00120953	DE/CA59/IVD/13/32	00055109	2011-08-11	
14.	ESTRADIOL	K208	Estradiol EIA Cat. Nr K208	12-05-01-03-00	other	00082244	DE/CA59/IVD/13/31	00055110	2007-10-29	
15.	TESTOSTERONE (WITH DEHYDRO AND FREE TESTOSTERONE)	K209 ; K209S	Testosterone EIA Cat. Nr K209 ; Salivary Testosterone EIA	12-05-01-10-00	other	00082245/ changed by 00120954	DE/CA59/IVD/13/30	00055111	2011-08-11	
16.	CORTISOL	K210 ; K210S	Cortisol EIA Cat. Nr K210 ; Salivary Cortisol EIA	12-06-02-04-00	other	00082246/ changed by 00120955	DE/CA59/IVD/13/29	00055112	2011-08-11	
17.	TRIIODOTHYRONINE	K211	T3 EIA Cat. Nr K211	12-04-01-05-00	other	00082247	DE/CA59/IVD/13/28	00055113	2007-10-29	
18.	THYROXINE	K212	T4 EIA Cat. Nr K212	12-04-01-07-00	other	00082248	DE/CA59/IVD/13/27	00055114	2007-10-29	
19.	FREE TRIIODOTHYRONINE	K213	Free T3 EIA Cat. Nr K213	12-04-01-01-00	other	00082250	DE/CA59/IVD/13/26	00055115	2007-10-29	
20.	FREE THYROXINE	K214	Free T4 EIA Cat. Nr K214	12-04-01-02-00	other	00082251	DE/CA59/IVD/13/25	00055116	2007-10-29	
21.	DEHYDRO-EPIANDROSTERONE SULPHATE (INCL. DHEA)	K215	DHEA-S EIA Cat. Nr K215	12-05-01-02-00	other	00082253	DE/CA59/IVD/13/24	00055117	2007-10-29	
22.	17 OH PROGESTERONE	K217	17-OH-Progesterone EIA Cat. Nr K217	12-05-01-07-00	other	00082256	DE/CA59/IVD/13/22	00055118	2007-10-29	
23.	CANCER ANTIGEN 125	K222	CA 125 EIA Cat. Nr K222	12-03-01-06-00	other	00082257	DE/CA59/IVD/13/23	00055119	2007-10-29	
24.	CANCER ANTIGEN 19-9	K223	CA 19.9 EIA Cat. Nr K223	12-03-01-03-00	other	00082258	DE/CA59/IVD/13/21	00055120	2007-10-29	
25.	CARCINOEMBRYONIC ANTIGEN	K224	CEA EIA Cat. Nr K224	12-03-01-31-00	other	00082262	DE/CA59/IVD/13/20	00055123	2007-10-29	
26.	ALPHAFETOPROTEIN	K225	AFP EIA Cat. Nr K225	12-03-90-01-00	other	00082264	DE/CA59/IVD/13/19	00055124	2007-10-29	
27.	CANCER ANTIGEN 15-3	K226	M12 (CA 15.3) EIA Cat. NrK226	12-03-01-02-00	other	00082265	DE/CA59/IVD/13/18	00055125	2007-10-29	

	Nomenclature term	Catalog number	Short name:	EDMA Classification	Class	Form number All changed by 00313369	Registration number	Certificate number	Registration date	Exp. date
28.	OTHER CANCER ANTIGENS	K227; K228	MUC11 M22 EIA Cat. Nr K227; MUC11 M20 EIA Cat. Nr K228	12-03-01-90-00	other	00082266	DE/CA59/IVD/13/17	00055126	2007-10-29	2025-05-25
29.	OTHER OTHER TUMOUR MARKERS	K232	Thyroglobulin EIA Cat. Nr K232	12-03-90-90-00	other	00082267	DE/CA59/IVD/13/16	00055127	2007-10-29	
30.	β HUMAN CHORIONIC GONADOTROPIN (INCL. SUBUNIT)	K235	Free beta HCG EIA Cat. Nr K235	12-05-02-06-00	other	00082268	DE/CA59/IVD/13/15	00055128	2007-10-29	
31.	PREGNANCY ASSOCIATED PLASMA PROTEIN - A (DOWNS)	K238	PAPP-A EIA Cat. Nr K238	12-05-02-10-00	other	00082269	DE/CA59/IVD/13/14	00055129	2007-10-29	
32.	OTHER OTHER PLASMA PROTEINS	K240	Alveomucin EIA Cat. Nr K240	12-01-90-90-00	other	00082270	DE/CA59/IVD/13/13	00055130	2007-10-29	
33.	C-REACTIVE PROTEIN	K250	CRP EIA Cat. Nr K250	12-11-01-09-00	other	00082271	DE/CA59/IVD/13/12	00055131	2007-10-29	
34.	SEX HORMONE BINDING GLOBULIN	K268	SHBG EIA Cat. Nr K268	12-05-01-09-00	other	00082272	DE/CA59/IVD/13/11	00055132	2007-10-29	
35.	TROPONIN (T + I)	K291	Troponin I EIA Cat. Nr K291	12-13-01-07-00	other	00082273	DE/CA59/IVD/13/10	00055133	2007-10-29	
36.	IMMUNOGLOBULIN G	K271	Total IgG EIA Cat. Nr K271	12-01-01-05-00	other	00082274	DE/CA59/IVD/13/9	00055134	2007-10-29	
37.	IMMUNOGLOBULIN G SUBCLASS REAGENTS	K272; K274	IgG2 EIA Cat. Nr K272; IgG4 EIA Cat. Nr K274	12-01-01-06-00	other	00082275	DE/CA59/IVD/13/8	00055135	2007-10-29	
38.	IMMUNOGLOBULIN A	K275	Total IgA EIA Cat. Nr K275	12-01-01-01-00	other	00082276	DE/CA59/IVD/13/7	00055136	2007-10-29	
39.	IMMUNOGLOBULIN M	K277	Total IgM EIA Cat. Nr K277	12-01-01-07-00	other	00082277	DE/CA59/IVD/13/6	00055137	2007-10-29	
40.	RHEUMATOID/AUTOIMMUNE CONTROLS	KQ13; KQ14; KQ15	AutoQon AT immunoassay control set Cat. Nr KQ13; AutoQon ANA/ENA immunoassay control set Cat. Nr KQ14; AutoQon ACL immunoassay control set Cat. Nr KQ15	12-50-01-14-00	other	00082278	DE/CA59/IVD/13/5	00055138	2007-10-29	
41.	HORMONE CONTROLS	KQ21	HormoQon immunoassay control set Cat. Nr KQ21	12-50-01-04-00	other	00082279	DE/CA59/IVD/13/4	00055139	2007-10-29	
42.	TUMOUR MARKER CONTROLS	KQ22	OmaQon immunoassay control set Cat. Nr KQ22	12-50-01-10-00	other	00082280	DE/CA59/IVD/13/3	00055140	2007-10-29	
43.	CYFRA 21-1	K236	CYFRA 21-1 EIA	12-03-01-20-00	other	00120946	DE/CA59/IVD/13/45	00078973	2011-08-11	
44.	CANCER ANTIGEN 72-4	K244	CA 72-4 EIA	12-03-01-05-00	other	00120947	DE/CA59/IVD/13/46	00078974	2011-08-11	
45.	NEONATAL THYROID STIMULATING HORMONE	K201N	TSH-Neo EIA	12-04-01-03-00	other	00120948	DE/CA59/IVD/13/47	00078975	2011-08-11	
46.	ESTRIOL	K218	Free Estriol EIA	12-05-02-02-00	other	00120950	DE/CA59/IVD/13/48	00078977	2011-08-11	
47.	IMMUNOGLOBULIN E - MONOTEST/MONORESULT - MULTI AG	K200S	Specific IgE EIA	12-02-01-04-00	other	00120951	DE/CA59/IVD/13/49	00078978	2011-08-11	
48.	KAPPA AND LAMBDA CHAIN	K279K K279L	Free kappa Igg light chain EIA, Free lambda Igg light chain EIA	12-01-01-20-00	other	00120952	DE/CA59/IVD/13/50	00078979	2011-08-11	
49.	TRYPSIN NEONATAL	K242	Neonatal IRT EIA Cat. Nr K242	12-01-90-08-00	other	00125311	DE/CA59/IVD/13/51	00081283	2013-01-09	
50.	NEURON SPECIFIC ENOLASE	K234	NSE EIA Cat. Nr K234	12-03-90-08-00	other	00126089	DE/CA59/IVD/13/52	00081687	2013-03-20	
51.	OTHER OTHER TUMOUR MARKERS	K239	HE – 4 EIA Cat. Nr K239	12-03-90-90-00	other	00126090	DE/CA59/IVD/13/53	00081688	2013-03-20	
52.	HSV IgG	K104	HSV ½ IgG EIA (Cat. Nr K104)	15-04-03-05-00	other	00127648	DE/CA59/IVD/13/67	00082628	2013-09-10	
53.	HSV IgM	K104M	HSV ½ IgM EIA (Cat. Nr K104M)	15-04-03-06-00	other	00127649	DE/CA59/IVD/13/66	00082629	2013-09-10	
54.	MYCOPLASMA ANTIBODY ASSAYS	K106	Mycoplasma IgG EIA (Cat. Nr K106)	15-01-08-03-00	other	00127650	DE/CA59/IVD/13/65	00082630	2013-09-10	
55.	SYPHILIS ANTIBODY ASSAYS TOTAL	K111	Treponema pallidum Total Ab EIA (Cat. Nr K111)	15-01-03-03-00	other	00127651	DE/CA59/IVD/13/64	00082631	2013-09-10	

	Nomenclature term	Catalog number	Short name:	EDMA Classification	Class	Form number All changed by 00313369	Registration number	Certificate number	Registration date	Exp. date
56.	SYPHILIS ANTIBODY IGG	K111G	Treponema pallidum IgG EIA (Cat. Nr K111G)	15-01-03-05-00	other	00127652	DE/CA59/IVD/13/63	00082632	2013-09-10	2025-05-25
57.	SYPHILIS ANTIBODY IGM	K111M	Treponema pallidum IgM EIA (Cat. Nr K111M)	15-01-03-06-00	other	00127653	DE/CA59/IVD/13/62	00082633	2013-09-10	
58.	H. PYLORI ANTIBODY ASSAYS	K119	H.pylori IgG EIA (Cat. Nr K119)	15-01-04-03-00	other	00127654	DE/CA59/IVD/13/61	00082634	2013-09-10	
59.	H. PYLORI ANTIBODY ASSAYS	K119M	H.pylori IgM EIA (Cat. Nr K119M)	15-01-04-03-00	other	00127655	DE/CA59/IVD/13/60	00082635	2013-09-10	
60.	ASPERGILLUS	K121	Aspergillus IgG EIA (Cat. Nr K121)	15-06-01-01-00	other	00127656	DE/CA59/IVD/13/59	00082636	2013-09-10	
61.	OTHER OTHER BACTERIOLOGY IMMUNOASSAY	K126	Ureaplasma IgG EIA (Cat. Nr K126)	15-01-90-90-00	other	00127657	DE/CA59/IVD/13/58	00082637	2013-09-10	
62.	GIARDIA LAMBLIA	K171 K171X	Giardia lamblia Total Ab EIA (Cat. Nr 171); Giardia lamblia IgG/IgM/IgA EIA (Cat. No. K171X)	15-05-10-08-00	other	00127658 changed by 00147228	DE/CA59/IVD/13/57Ä1	00082638 changed by 00082638	2013-09-10 changed 2019-02-27	
63.	OTHER TUMOUR MARKER RAPID TESTS	X220V	XEMAtestOvaScreen (Cat. Nr X220V)	12-70-03-90-00	other	00127659	DE/CA59/IVD/13/56	00082639	2013-09-10	
64.	OTHER TUMOUR MARKER RAPID TESTS	X222	XEMAtestCA125 (Cat. Nr X222)	12-70-03-90-00	other	00127660	DE/CA59/IVD/13/55	00082640	2013-09-10	
65.	OTHER TUMOUR MARKER RAPID TESTS	X239	XEMAtestHE4 (Cat. Nr X239)	12-70-03-90-00	other	00127661	DE/CA59/IVD/13/54	00082641	2013-09-10	
66.	IMMUNOGLOBULIN A IgA	K276	SECRETORY IgA (sIgA) EIA (Cat. No. K276)	12-01-01-01-00	other	00132459	DE/CA59/IVD/13/68	00084857	2014-12-15	
67.	ECHINOCOCCUS	K175	Cestodes IgG EIA (Cat. No. K175)	15-05-10-04-00	other	00137730	DE/CA59/IVD/13/72E	00087715	2016-09-08	
68.	DISTOMATOSIS	K176	Fasciola IgG EIA (Cat. No. K176)	15-05-10-03-00	other	00137731	DE/CA59/IVD/13/71E	00087716	2016-09-08	
69.	TESTOSTERONE (WITH DEHYDRO AND FREE TESTOSTERONE)	K219	Free Testosterone EIA (Cat. No. K219)	12-05-01-10-00	other	00137732	DE/CA59/IVD/13/70E	00087717	2016-09-08	
70.	HUMAN PLACENTAL LACTOGEN HPL	K246	Human Placental Lactogen EIA (Cat. No. K246)	12-05-02-07-00	other	00137733	DE/CA59/IVD/13/69E	00087718	2016-09-08	
71.	CANCER ANTIGEN 242	K243	CA 242 EIA (Cat. No. K243)	12-03-01-08-00	other	00139880	DE/CA59/IVD/13/73	00088906	2017-04-11	
72.	INSULIN	K267N	Insulin EIA (Cat. No. K267N)	12-06-01-03-00	other	00145610	DE/CA59/IVD/13/77	00091667	2018-10-05	
73.	C-PEPTIDE	K267C	C-peptide EIA (Cat. No. K267C)	12-06-01-01-00	other	00145608	DE/CA59/IVD/13/76	00091665	2018-10-05	
74.	OTHER PREGNANCY TESTING HORMONES	K245	AMH EIA (Cat. No. K245)	12-05-02-90-00	other	00145607	DE/CA59/IVD/13/75	00091664	2018-10-05	
75.	SQUAMOUS CELL CARCINOMA ANTIGEN	K237	SCC(A) EIA (Cat. No. K237)	12-03-01-35-00	other	00145606	DE/CA59/IVD/13/74	00091663	2018-10-05	
76.	ASPERGILLUS	K021	GalM Ag EIA (Cat. No. K021)	15-06-01-01-00	other	00147229	DE/CA59/IVD/13/78	00092318	2019-02-27	



Polmed.de, Beata Rozwadowska
Fichtenstr. 12A, 90763 Fürth
Germany email: info@polmed.de

MANAGEMENT SYSTEM CERTIFICATE

Certificate no.:
282710-2019-AQ-MCW-FINAS

Initial certification date:
14 February 2019

Valid:
15 February 2022 – 14 February 2025

This is to certify that the management system of

XEMA Co, LTD

bld. 48, 9-th Parkovaya str., Moscow, Russian Federation, 105264

and the sites as mentioned in the appendix accompanying this certificate

has been found to conform to the Quality Management System standard:

ISO 9001:2015

This certificate is valid for the following scope:

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

Place and date:
Espoo, 14 February 2022



For the issuing office:
DNV - Business Assurance
Keilaranta 1, 02150 Espoo, Finland



Kimmo Haarala
Management Representative

Appendix to Certificate

XEMA Co, LTD

Locations included in the certification are as follows:

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



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

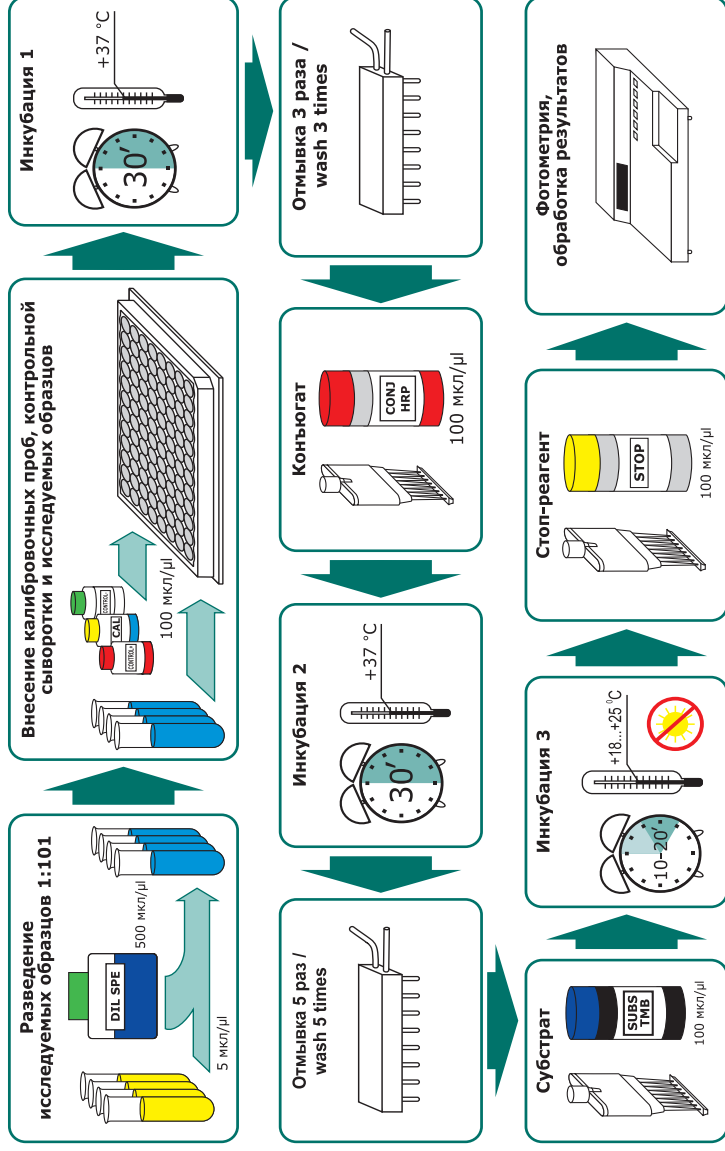


XEMA Co., Ltd.
The 9th Parkovaya str., 48
105264 Moscow, Russia
Tel./fax: +7(495) 510-57-07
e-mail: redkin@xema-medica.com
internet: www.xema-medica.com



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 мышиных 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	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2	CQ104Z	CAL	Калибровочная проба на основе трис-буфера (pH 7.2–7.4), содержащая известное количество IgG антител к антигенам Hepres 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 +	Контрольные сыворотки (отрицательный и положительный контроль) на основе сыворотки крови человека с известным содержанием IgG антител к антигенам Hepres 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	Конъюгат , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость красного цвета
5	S011Z3	DIL SPE	ИФА-Буфер , готов к использованию (50 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость синего цвета
6	R055Z	SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
7	S008Z	BUF WASH 26X	Концентрат отмывочного раствора (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26x-кратный (22 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
8	R050Z	STOP	Стоп-реагент , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
9	N003	-	Бумага для заклеивания планшета	2	шт.	-
10	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 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 «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 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 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	Разбавьте образцы сыворотки (плазмы) крови в 101 раз, используя ИФА-Буфер (S011Z3). Пример: 5 мкл образца + 500 мкл ИФА-Буфера. Не разбавляйте калибровочную пробу и контрольные сыворотки.
3	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. Внесение 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. Инкубируйте планшет в течение 30 минут при температуре +37 °C.
5	По окончании инкубации удалите содержимое лунок аспирацией (например, с помощью водоструйного насоса) или декантированием и отмойте лунки 3 раза . При каждой отмывке добавьте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п.7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок.
6	Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.
7	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте его в течение 30 минут при температуре +37 °C.
8	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз.
9	Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина. Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2–3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °C) в течение 10–20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.
10	Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
11	Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм. Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометраставляйте по воздуху.

12	Рассчитайте содержание IgG антител к антигенам Herpes simplex virus 1 и 2 типа (HSV 1,2) 1. Рассчитайте среднее ОП калибратора; 2. Умножьте это среднее на коэффициент (Q), значение которого указано в Паспорте серии – получите граничное значение оптической плотности (ОПГ); 3. Для каждого образца вычислите коэффициент К, получаемый делением ОП образца на ОПГ. При $K > 1.1$ образец положительный, при $K < 0.9$ – отрицательный. при значении К, лежащем в промежутке от 0.91 до 1.09 – результат в пограничной зоне (+/-).
----	---

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 анамнестическим («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_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	HSV 1,2 IgG EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp.date
2 CAL	Calibrator set, 1.5 ml	1	pcs	blue	2 months
3 CONTROL – CONTROL +	Control sera (1.5 ml)	2	pcs	colourless and red	2 months
4 CONJ HRP	Conjugate, 14 ml	1	pcs	red	until exp.date
5 DIL SPE	EIA buffer 50ml	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 K104I	Instruction HSV 1,2 IgG EIA	1	pcs		N/A
11 K104Q	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). $\text{Cutoff} = \text{OD}(\text{Calibrator}) * Q \text{ value}$ 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, µl	Calculation factor
blood serum or plasma	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	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 serilogy 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
	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 лабораторной
диагностики



RUSSIAN ASSOCIATION
OF MEDICAL LABORATORY
DIAGNOSTICS



РОССИЙСКАЯ АССОЦИАЦИЯ
МЕДИЦИНСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ
ДИАГНОСТИКИ

Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

8 800 505 23 45

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

Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

105043, г. Москва, а/я 58

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

тел.: +7 (495) 510-57 07, 737-39-36;

факс: +7 (495) 737-00-40

e-mail: info@xema.ru

www.xema-medica.com

ФООО «Хема», тел.: +7 (812) 271-24-41

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

e-mail: spb@xema.ru

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

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

литер А, корп. 8/К, офис 416

e-mail: hemma-test@yandex.ru

ТОВ «Хема», тел.: (044) 422-62-16;

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

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com





Instruction for use



**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО
ОПРЕДЕЛЕНИЯ 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 *ин витро* диагностики

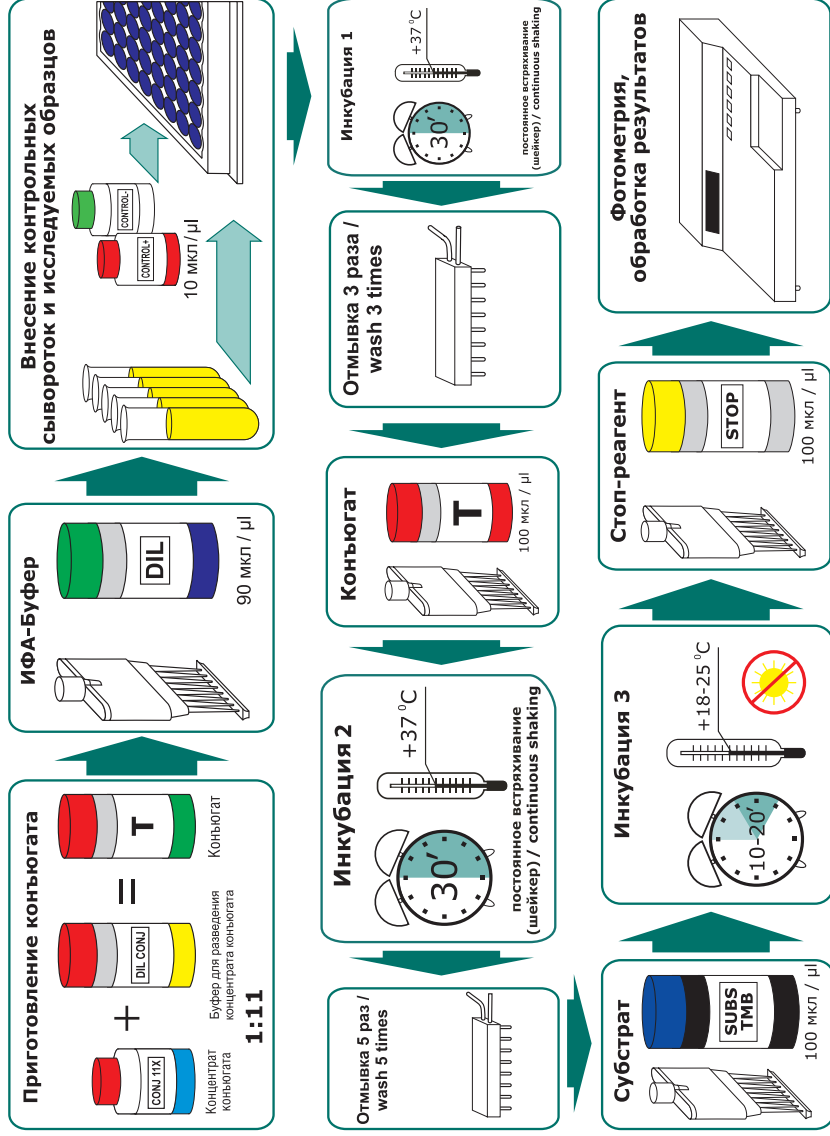


XEMA Co., Ltd.
The 9th Parkovaya str., 48
105264 Moscow, Russia
Tel./fax: +7(495) 510-57-07
e-mail: redkin@xema-medica.com
internet: www.xema-medica.com



Authorized Representative in EU:
Polmed.de
Steinacker 20, D-73773
Aichwald, Germany
e-mail: 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	P10MZ	SORB MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2	CN104MZ CP104MZ	CONTROL – CONTROL+	Контрольные сыворотки (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	T104MXZ	CONJ 11X	Концентрат конъюгата , (1.25 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость синего цвета
4	ST104MZ	DIL CONJ	Буфер для разведения концентрата конъюгата, готов к использованию (12 мл)	1	шт	прозрачная жидкость ярко-желтого цвета
5	S011Z	DIL	ИФА-Буфер , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость синего цвета
6	R055Z	SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
7	S008Z	BUF WASH 26X	Концентрат отмывочного раствора (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26х-кратный (22 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
8	R050Z	STOP	Стоп-реагент , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
9	N003		Бумага для заклеивания планшета	2	шт.	-
10	K104MI		Инструкция по применению Набора реагентов «HSV 1,2 IgM-ИФА»	1	шт.	-
11	K104MQ		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 мышиные 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	Внесите во все лунки планшета по 90 мкл ИФА-Буфера.
3	Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 10 мкл контрольных сывороток . В остальные лунки внесите в дубликатах по 10 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови . 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. Инкубируйте планшет в течение 30 минут при температуре +37°С и постоянном встряхивании 500-600 об/мин.

5	По окончании инкубации удалите содержимое лунок аспирацией (например, с помощью водоструйного насоса) или декантированием и отмойте лунки 3 раза . При каждой отмывке добавьте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п. 7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок.
6	Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.
7	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте его в течение 30 минут при температуре +37 °С и постоянном встряхивании 500-600 об/мин.
8	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз.
9	Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина. Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2–3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °С) в течение 10–20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.
10	Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
11	Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм . Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра выставляйте по воздуху.
12	Рассчитайте содержание IgM антител к антигенам Herpes Simplex Virus 1 и 2 типа (HSV 1,2) в исследуемых образцах. Для этого: 1. Рассчитайте среднее значение ОП Отрицательного контроля: $(CN104MZ)_{Cr} = (ОП1 (CN104MZ) + ОП2 (CN104MZ) + ОП3 (CN104MZ)) / 3;$ Результаты анализа считать достоверными, если: - ОП Положительного контроля не ниже 1 оптических единиц (ОЕ); - ОП Отрицательного контроля не выше 0.15 ОЕ во всех лунках; - ОП каждого значения Отрицательного контроля отличается не более чем в два раза от среднего значения отрицательного контроля, т. е. $ОП (CN104MZ)_{Cr} \times 0.5 < ОПn (CN104MZ) < ОП (CN104MZ)_{Cr} \times 2.0$; если одно из значений Отрицательного контроля выходит за пределы этого интервала, то его значение не участвует в расчете ОП (CN104MZ)Cr. 2. Рассчитайте уровень граничного значения Cut off, для этого к среднему значению ОП Отрицательного контроля прибавьте 0.2 Cut off = ОП (CN104MZ)Cr + 0.2 3. Рассчитайте Индекс Позитивности (ИП, %) для каждого исследуемого образца, для этого ОП образца разделите на значение Cut off ИП = ОПобразца / Cut off

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	Внесите во все лунки планшета по 90 мкл ИФА-Буфера.

продолжение таблицы на стр 8

3	Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 10 мкл контрольных сывороток . В остальные лунки внесите в дубликатах по 10 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови . 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. Инкубируйте планшет в течение 60 минут при температуре +37 °C.
5	По окончании инкубации удалите содержимое лунок аспирацией (например, с помощью водоструйного насоса) или декантированием и отмойте лунки 3 раза . При каждой отмывке добавьте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п. 7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок.
6	Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.
7	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте планшет в течение 30 минут при температуре +37 °C.
8	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз.
9	Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензи-дина . Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2–3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °C) в течение 10–20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.
10	Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
11	Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм . Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра выставляйте по воздуху.
12	Рассчитайте содержание IgM антител к антигенам Herpes Simplex Virus 1 и 2 типа (HSV 1,2) в исследуемых образцах. Для этого: 1. Рассчитайте среднее значение ОП Отрицательного контроля: $(CN104MZ)Cp = (OP1 (CN104MZ) + OP2 (CN104MZ) + OP3 (CN104MZ)) / 3;$ Результаты анализа считать достоверными, если: - ОП Положительного контроля не ниже 1 оптических единиц (OE); - ОП Отрицательного контроля не выше 0.15 OE во всех лунках; - ОП каждого значения Отрицательного контроля отличается не более чем в два раза от среднего значения отрицательного контроля, т. е. $OP (CN104MZ)Cp \times 0.5 < OPn (CN104MZ) < OP (CN104MZ)Cp \times 2.0$; если одно из значений Отрицательного контроля выходит за пределы этого интервала, то его значение не участвует в расчете ОП (CN104MZ)Cp. 2. Рассчитайте уровень граничного значения Cut off, для этого к среднему значению ОП Отрицательного контроля прибавьте 0.2 Cut off = ОП (CN104MZ)Cp + 0.2 3. Рассчитайте Индекс Позитивности (ИП, %) для каждого исследуемого образца, для этого ОП образца разделите на значение Cut off ИП = ОП образца / 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.

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: qsc@xema.ru
интернет: 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_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	HSV 1, 2 IgM EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp.date
2 CONTROL -, CONTROL +	Control sera (0.5 ml and 0.2 ml, resp.) (CONTROL-) dilution of preselected human serum, not containing IgM antibodies to HSV 1, 2 with preservative - 0.01% Bronidox L, 0.01% 2-Methyl-4-isothiazolin-3-one-hydrochloride, colourless; (CONTROL+) dilution of preselected human serum with high content of human IgM antibodies to HSV 1, 2 with preservative - 0.01% Bronidox L, 0.01% 2-Methyl-4-isothiazolin-3-one-hydrochloride; also contains red dye	2	pcs	colourless; red	2 months
3 CONJ 11X	Conjugate concentrate, 1.25 ml	1	pcs	blue	Concentrate - until exp.date Diluted - 1 day at 2-8°C
4 DIL CONJ	Conjugate dilution buffer, 12 ml	1	pcs	bright yellow	until exp.date
5 DIL	EIA buffer 14 ml	1	pcs	blue	until exp.date
6 SUBS TMB	Substrate solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
7 BUF WASH 26X	Washing solution concentrate 26X, 22 ml	1	pcs	colourless	Concentrate - until exp.date Diluted washing solution - 45 days at 2-8 °C or 15 days at RT
8 STOP	Stop solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
9 N003	Plate sealing tape	2	pcs		N/A
10 K104MI	Instruction HSV 1, 2 IgM EIA	1	pcs		N/A
11 K104MQ	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:

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

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
	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
IgG, IgM, IgA АНТИТЕЛ К АНТИГЕНАМ
GIARDIA LAMBLIA В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ**

«антиЛЯМБЛИЯ-ИФА»

**A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY
FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION
OF IgG, IgM, IgA ANTIBODIES TO GIARDIA LAMBLIA
IN HUMAN SERUM OR PLASMA**

anti-Giardia Lamblia-EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF K171**

ТУ № 9398-171-18619450-2012

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
№ ФСР 2012/13633 от 29 июня 2012 г.

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



На 96, 192 или 480 определений



Для *in vitro* диагностики



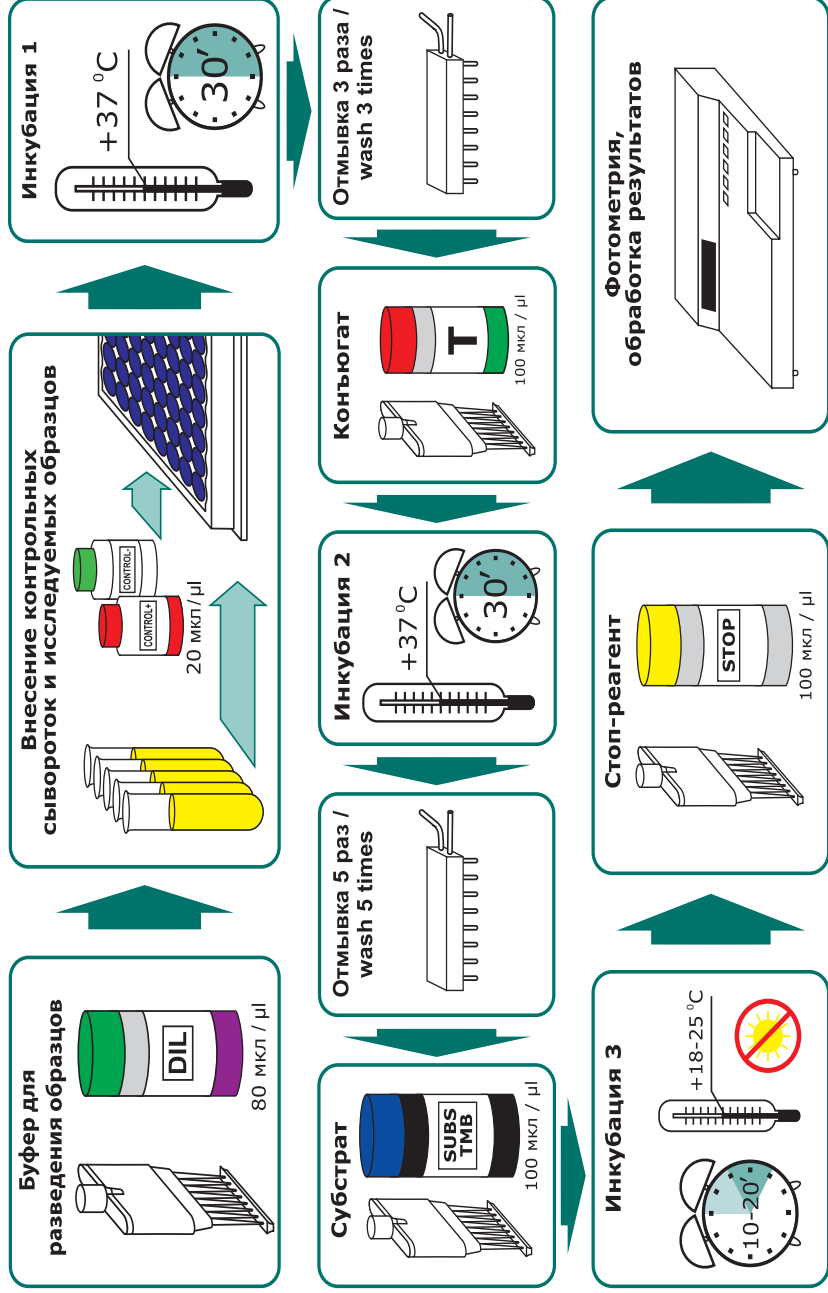
ООО "ХЕМА"

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



K171

СОДЕРЖАНИЕ

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

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

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ IgG, IgM, IgA АНТИТЕЛ К АНТИГЕНАМ *GIARDIA LAMBLIA* В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «антиЛЯМБЛИЯ-ИФА»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «антиЛЯМБЛИЯ-ИФА» предназначен для качественного определения концентрации IgG, IgM, IgA антител к антигенам лямблий в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. *Giardia lamblia* (intestinalis) вызывает гиардиоз (лямблиоз) – паразитарную инвазию, которая протекает в виде латентного паразитоносительства и манифестных формах (нарушение функций кишечника). Возбудитель лямблиоза распространен повсеместно, особенно в регионах с низкой санитарной культурой. Основным механизмом заражения *Giardia lamblia* является фекально-оральный путь. Заболевание распространено среди всех возрастных групп, однако, основной контингент составляют дети дошкольного возраста.

Вегетативные формы паразита существуют только на поверхности слизистой оболочки верхнего отдела тонкой кишки. Это приводит к тому, что лямблии механически блокируют слизистую оболочку и нарушают пристеночное переваривание и двигательную активность тонкой кишки. Лямблии вызывают ухудшение всасывания жиров, углеводов, витаминов С и В12. Стоит заметить, что из-за лабильности к действию желчных кислот *Giardia lamblia* не может непосредственно вызывать заболевания печени и холецистохолангиты, но обуславливает вторичную бактериальную инфекцию (вследствие рефлекторной дискинезии желчных путей).

Симптомами лямблиоза могут быть диарея, усталость, отек, апатия, потеря массы тела, сниженный аппетит, бледность, мышечные судороги. В желудочно-кишечном тракте лямблиоз проявляется главным образом в виде энтероколита с катаральными проявлениями.

Диагностику инфекции, вызванной *Giardia lamblia*, проводят микроскопическим или культуральным методом, а также, путем определения специфических антител в сыворотке крови.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение антител к антигенам лямблий основано на использовании непрямого варианта твердофазного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы антигены *Giardia lamblia*. Антитела из образца связываются с антигеном на поверхности лунки. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата – смеси антивидовых (специфических к антителам классов IgG, IgM, IgA) моноклональных антител 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 антител к антигенам лямблий. Индекс позитивности (ИП, %) антител к антигенам лямблий в исследуемых образцах рассчитывается по формуле, приведенной в инструкции.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность и чувствительность. Чувствительность Набора реагентов «антиЛЯМБЛИЯ-ИФА» оценивали с помощью панели охарактеризованных сывороток, которая состоит из 42 образцов сывороток крови человека, содержащих антитела к *Giardia lamblia*. В Наборе реагентов «антиЛЯМБЛИЯ-ИФА» все сыворотки были определены как положительные. При исследовании 158 отрицательных на антитела к *Giardia lamblia* сывороток показатель специфичности составил более 98%.

3.2. Воспроизводимость.

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

Коэффициент вариации (CV) для образцов, измеренных на двух сериях Набора реагентов «антиЛЯМБЛИЯ-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 «антиЛЯМБЛИЯ-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. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

4.2. 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.

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

Национальный стандарт Российской Федерации. Лаборатории медицинские. Требования безопасности Medical Laboratories, REQUIEREMENTS FOR SAFETY Гост Р52905-2007 (ИСО 15190:2003).

4.4. 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. СОСТАВ НАБОРА

	Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1	P171Z	SORB MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт	-
2	CN171Z CP171Z	CONTROL- CONTROL+	Контрольные сыворотки (отрицательный и положительный контроли) на основе сыворотки крови человека с известным содержанием антител к антигенам лямблий; готовы к использованию (0.5 мл и 0.3 мл соответственно)	2	шт	прозрачная бесцветная жидкость и прозрачная жидкость красного цвета
3	T171Z	CONJ HRP	Конъюгат , готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная жидкость зеленого цвета
4	SP171Z	DIL	Буфер для разведения образцов ; готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная жидкость пурпурного цвета
5	R055Z	SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) ; готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
6	S008Z	BUF WASH 26X	Концентрат отмывочного раствора (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26х-кратный (22 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
7	R050Z	STOP	Стоп-реагент ; готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
8	N003	-	Бумага для заклеивания планшета	2	шт	-
9	K171I	-	Инструкция по применению Набора реагентов «антиЛЯМБЛИЯ-ИФА»	1	шт	-
10	K171Q	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «антиЛЯМБЛИЯ-ИФА»	1	шт	-

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 одноразовые 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 тщательно заклеить Бумагой для заклеивания планшета, чтобы предотвратить воздействие на них влаги, 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 «антиЛЯМБЛИЯ-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, Раствор субстрата ТМБ, 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	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	Внесите во все лунки Планшета по 80 мкл Буфера для разведения образцов.
3	Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 20 мкл Контрольных сывороток. В остальные лунки внесите в дубликатах по 20 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови. Внесение Контрольных сывороток и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
4	ВНИМАНИЕ! 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. Инкубируйте Планшет в течение 30 минут при температуре +37 °С.
6	По окончании инкубации удалите содержимое лунок аспирацией (например, с помощью водоструйного насоса) или декантированием и отмойте лунки 3 раза. При каждой отмывке добавьте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п. 7.3), встряхните Планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок.
7	Внесите во все лунки по 100 мкл Конъюгата.
8	Заклейте Планшет Бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте его в течение 30 минут при температуре +37 °С.
9	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз.
10	Внесите во все лунки по 100 мкл Раствора субстрата тетраметилбензидина (ТМБ). Внесение Раствора субстрата ТМБ в лунки необходимо произвести в течение 2–3 минут. Инкубируйте Планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °С) в течение 10–20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.
11	Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), по 100 мкл Стоп-реагента , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
12	Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм. Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения Стоп-реагента. Бланк фотометра выставляйте по воздуху.
13	Рассчитайте содержание антител к антигенам лямблий в исследуемых образцах. Для этого: 1. Рассчитайте среднее значение ОП Отрицательного контроля: $ОП (CN171Z)_{ср} = (ОП1 (CN171Z) + ОП2 (CN171Z) + ОП3 (CN171Z)) / 3$; Результаты анализа считать достоверными, если: – ОП Положительного контроля не ниже 0.3 оптических единиц (OE); – ОП Отрицательного контроля не выше 0.15 OE во всех лунках; 2. Рассчитайте уровень граничного значения Cut off, для этого к среднему значению ОП Отрицательного контроля прибавьте 0.20 Cut off = ОП (CN171Z)_{ср} + 0.20 3. Рассчитайте Индекс Позитивности (ИП, %) для каждого исследуемого образца, для этого ОП образца разделите на значение Cut off ИП = ОПобразца / 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.

10.2. Интерпретация результатов:

- при $ИП > 1.1$ образец положительный;

- при $ИП < 0.9$ образец 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. Возбудители протозойных инфекций человека // Медицинская микробиология/ Гл. ред. В.И. Покровский, О.К.Позеев – М.: ГЭОТАР Медицина, 1998. – С. 928-940.
2. В.Ф.Лобода, А.О.Луцук, А.Б.Кабакова та ін. Роль лямблій в патології органів травлення у дітей // Інфекційні хвороби. - 1997. - № 2. - С.28-30.
3. Шабалов Н.П., Староверов Ю.И. Лямблиоз у детей // Новый медицинский журнал. - 1998.- №3.- С. 22-26.

По вопросам, касающимся качества Набора **«антиЛЯМБЛИЯ-ИФА»**,
следует обращаться в ООО «ХЕМА» по адресу:

105043, г. Москва, а/я 58

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

тел/факс (495) 737-39-36, 737-00-40, 510-57-07 (многоканальный)

электронная почта: info@xema.ru; rqs@xema.ru

интернет: www.xema.ru; www.xema-medica.com

Руководитель службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА»,

к. б. н. Д. С. Кострикин

Символ / Symbol	Значение символа / Symbolize
	Производитель / Manufacturer
	Дата производства / Date of manufacture
REF	Номер по каталогу / Catalogue number
LOT	Номер серии / Batch code
 YYYY-MM	Использовать до (год-месяц) / Use By
	Ограничение температуры / Temperature limitation
IVD	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
SORB MTP	Планшет / EIA strips
CAL	Калибровочные пробы / Calibrator set
CONTROL	Контрольная сыворотка / Control sera
CONJ HRP	Конъюгат / Conjugate
SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) / Substrate solution
BUF WASH 26X	Концентрат отмывочного раствора / Washing solution concentrate
STOP	Стоп-реагент / Stop solution
DIL	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 лабораторной
диагностики



RUSSIAN ASSOCIATION
OF MEDICAL LABORATORY
DIAGNOSTICS



РОССИЙСКАЯ АССОЦИАЦИЯ
МЕДИЦИНСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ
ДИАГНОСТИКИ

Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

8 800 505 23 45

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

Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

105043, г. Москва, а/я 58

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

тел.: +7 (495) 510-57 07, 737-39-36;

факс: +7 (495) 737-00-40

e-mail: info@xema.ru

www.xema-medica.com

ФООО «Хема», тел.: +7 (812) 271-24-41

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

e-mail: spb@xema.ru

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

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

литер А, корп. 8/К, офис 416

e-mail: hemma-test@yandex.ru

ТОВ «Хема», тел.: (044) 422-62-16;

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

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com





Instruction for use



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

«ТЕСТОСТЕРОН-ИФА»

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

Testosterone EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF K209**

ТУ № 9398-039-18619450-2007

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
№ ФСР 2008/02859 от 2 октября 2013 года



For 96 determinations/На 96 определений



Для *in vitro* диагностики

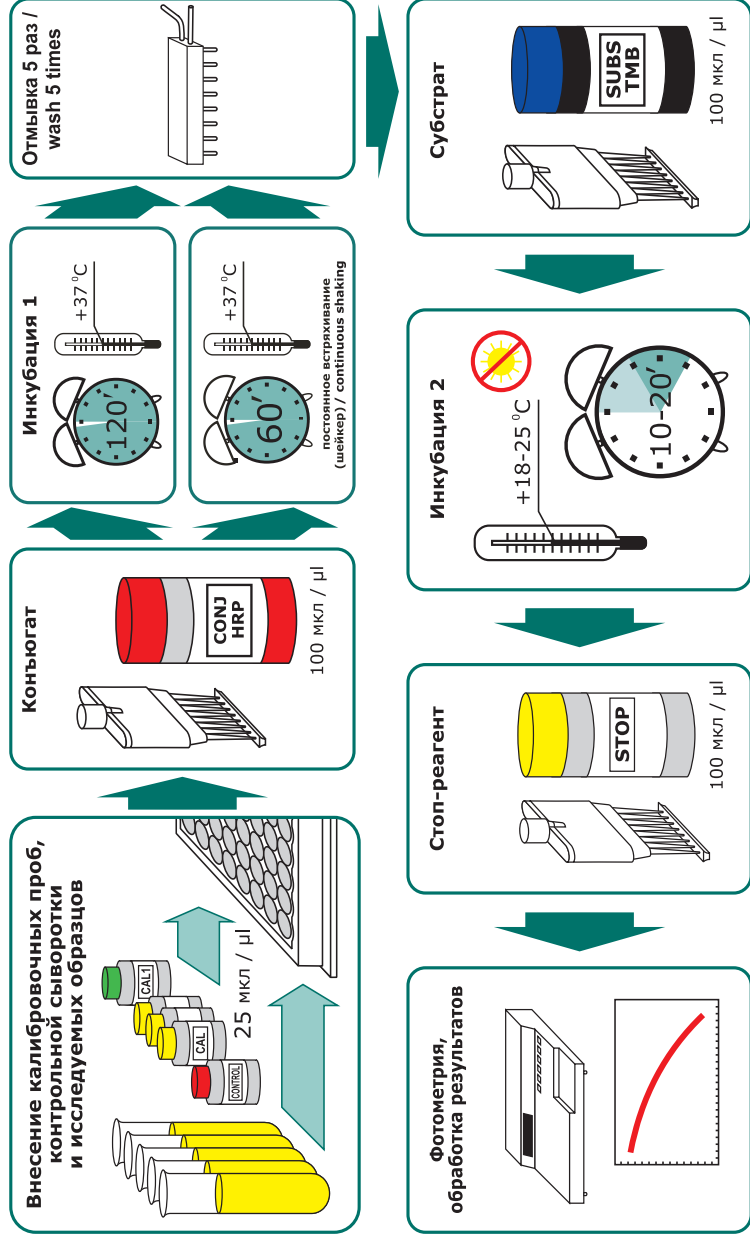


XEMA Co., Ltd.
The 9th Parkovaya str., 48
105264 Moscow, Russia
Tel./fax: +7(495) 510-57-07
e-mail: redkin@xema-medica.com
internet: www.xema-medica.com



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	8

CONTENT

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

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

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

1. НАЗНАЧЕНИЕ

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

1.2. Тестостерон – стероид с молекулярной массой 288.4 Да. Основным местом образования тестостерона в семенниках являются клетки Лейдига (интерстициальная ткань). У женщин тестостерон синтезируется в надпочечниках, а контроль за его продукцией осуществляет лютеинизирующий гормон. Тестостерон стимулирует развитие мужских половых органов и вторичных половых признаков. Секреция тестостерона имеет определенный циркадный ритм. Наивысший уровень гормона отмечается в 6 часов утра, наименьший – в 20 часов. У женщин продукция тестостерона зависит от фазы менструального цикла: максимальное образование гормона происходит в лютеиновой фазе и в период овуляции. При опухолях из клеток Лейдига избыток тестостерона вызывает у мальчиков симптом «младенца-Геракла». Повышенная концентрация тестостерона в плазме служит определяющим фактором маскулинизации у женщин. У девочек избыток тестостерона в организме всегда является следствием нарушения функции надпочечников, а у женщин может быть связан также с заболеваниями яичников. При этом может прекратиться овуляция и проявится типичное для мужчин строение тела. Недостаточность тестостерона у мужчин ведет к развитию женского типа телосложения. При этом у мальчиков наблюдается недоразвитие половых органов. В целях дифференциальной диагностики первичного и вторичного гипогонадизма концентрацию тестостерона необходимо определять в комплексе с исследованиями ЛГ и ФСГ. Повышенные уровни тестостерона отмечаются при: синдроме Штейна-Левенталя; у мужчин с кариотипом XYY; преждевременном созревании у мальчиков; опухолях коры надпочечников; приеме лекарственных препаратов (барбитуратов, кломифена, эстрогенов, гонадотропина, пероральных контрацептивов); идиопатическом гирсутизме. Снижение уровня тестостерона отмечается при уремии; миотонической дистрофии; печеночной недостаточности; синдроме Клайнфелтера; крипторхизме; первичном и вторичном гипогонадизме; синдроме Каллмана; приеме андрогенов, дексаметазона, дигоксина, этанола, галотана.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение тестостерона основано на использовании конкурентного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы мышинные моноклональные антитела к тестостерону. Тестостерон из образца конкурирует с конъюгированным тестостероном за связывание с антителами на поверхности лунки. В результате образуется связанный с пластиком «сэндвич», содержащий пероксидазу. Во время инкубации с раствором субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) происходит окрашивание растворов в лунках. Интенсивность окраски обратно пропорциональна концентрации тестостерона в исследуемом образце. Концентрацию тестостерона в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания тестостерона в калибровочных пробах.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Перекрестная реакция мышинных моноклональных антител к тестостерону с другими анализитами приведена в таблице:

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

3.2. Воспроизводимость.

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

3.3. Линейность.

Зависимость концентрации тестостерона в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей тестостерон, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 1.0–40 нмоль/л и составляет $\pm 10.0\%$.

3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации тестостерона предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 5 нмоль/л. Процент «открытия» составляет 90–110%.

3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «ТЕСТОСТЕРОН-ИФА» концентрация тестостерона в сыворотке (плазме) крови не превышает 0.15 нмоль/л.

4. СОСТАВ НАБОРА

	Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1	P209Z	SORB MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2	C209Z	CAL 1-6	Калибровочные пробы на основе сыворотки крови человека, содержащие известные количества тестостерона – 0; 1; 3; 10; 30; 100 нмоль/л , готовы к использованию (по 0.8 мл каждая)	6	шт.	прозрачные жидкости синего цвета (калибровочная проба 0 – прозрачная, бесцветная жидкость)
3	Q209Z	CONTROL CONTROL 2	Контрольные сыворотки на основе сыворотки крови человека с известным содержанием тестостерона, готовы к использованию (0.8 мл)	2	шт.	прозрачная жидкость пурпурного цвета и прозрачная жидкость пурпурного цвета
4	T209Z	CONJ HRP	Конъюгат , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость зеленого цвета
5	R055Z	SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
6	S008Z	BUF WASH 26X	Концентрат отмывочного раствора (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26х-кратный (22 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
7	R050Z	STOP	Стоп-реагент , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
8	N003	-	Бумага для заклеивания планшета	2	шт.	-
9	K209I	-	Инструкция по применению Набора реагентов «ТЕСТОСТЕРОН-ИФА»	1	шт.	-
10	K209Q	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «ТЕСТОСТЕРОН-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 «ТЕСТОСТЕРОН-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 40 исследуемых образцов, 6 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;
- конъюгат, субстрат, стоп-реагент после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- калибровочные пробы и контрольную сыворотку после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °С не более 2 месяцев;
- оставшийся неиспользованным концентрат отмывочного раствора следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- приготовленный отмывочный раствор следует хранить при комнатной температуре (+18...+25 °С) не более 15 суток или при температуре +2...+8 °С не более 45 суток.

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

8.4. Для проведения анализа не следует использовать гемолизированную, мутную сыворотку (плазму) крови, а также сыворотку (плазму) крови, содержащую азид натрия. Если анализ производится не в день взятия крови, сыворотку (плазму) следует хранить при температуре -20 °С. Повторное замораживание-оттаивание образцов сыворотки (плазмы) крови не допускается.

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

8.6. При использовании Набора для проведения нескольких независимых серий анализов следует иметь в виду, что для каждого независимого определения необходимо построение нового калибровочного графика; кроме этого, рекомендуется определение концентрации тестостерона в контрольной сыворотке.

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

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

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов – исследуемые образцы в 2 повторах и 16 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки.
2	Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 25 мкл калибровочной пробы и контрольной сыворотки. В остальных лунки внесите в дубликатах по 25 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови. Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
3	Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.
4	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте его в течение 120 минут при температуре +37 °С. Альтернативная инкубация: 37 °С при постоянном встряхивании 600 об\мин в течение 60 минут.
5	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз. При каждой отмывке добавляйте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п. 7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок постукиванием планшета в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.
6	Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина. Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2–3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25°С) в течение 10–20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.
7	Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
8	Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм. Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра выставьте по воздуху.
9	Постройте в полулогарифмических координатах калибровочный график: ось абсцисс (х) – десятичный логарифм концентрации тестостерона 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 тестостерона в исследуемых образцах.

10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ

10.1. Основываясь на результатах исследований, проведенных ООО «ХЕМА», рекомендуем пользоваться нормами, приведенными ниже. Вместе с тем, в соответствии с правилами GLP (Хорошей лабораторной практики), каждая лаборатория должна сама определить параметры нормы, характерные для обследуемой популяции.

Примечание. Значения концентраций тестостерона в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0.15 нмоль/л), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (100 нмоль/л) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация тестостерона ниже 0.15 нмоль/л или выше 100 нмоль/л.

10.2. В Наборе «ТЕСТОСТЕРОН-ИФА» значения концентраций калибровочных проб выражены в нмоль/л. Для пересчета концентраций в нг/мл, полученное значение концентрации в нмоль/л следует умножить на 0.29.

1 нмоль/л = 0.29 нг/мл

Исследуемая группа	Единицы, нмоль/л		Единицы доп., нг/мл	
	Нижний предел	Верхний предел	Нижний предел	Верхний предел
Мужчины				
20-39 лет	9.0	38	2.6	11
40-55 лет	6.9	21	2.0	6.1
старше 55 лет	5.9	18.1	1.7	5.2
Женщины	-	4.6	-	1.3

11. ЛИТЕРАТУРА

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

По вопросам, касающимся качества Набора «ТЕСТОСТЕРОН-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 TESTOSTERONE IN HUMAN SERUM OR PLASMA

1. INTENDED USE

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

This kit is designed for measurement of testosterone in blood serum or plasma. For possibility of use with other sample types, please, refer to Application Notes (on request). The kit contains reagents sufficient for 96 determinations and allows to analyze 40 unknown samples in duplicates.

2. SUMMARY AND EXPLANATION

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

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

Leydig cell tumours producing high levels of serum testosterone in young boys lead to development of "little Hercules" syndrome. Elevated testosterone level in women causes the clinical signs of masculinization.

In men, decreased Testosterone levels may lead to female habitus or underdevelopment of male genital organs in boys. To differentiate between primary and secondary hypogonadism, Testosterone should be assayed in conjunction with LH and FSH.

3. PRINCIPLE OF THE TEST

This test is based on competition enzyme immunoassay principle. Tested specimen is placed into the microwells coated by specific murine monoclonal to testosterone-antibodies simultaneously with conjugated Testosterone-peroxidase. Testosterone from the specimen competes with the conjugated Testosterone for coating antibodies. After washing procedure, the remaining enzymatic activity bound to the microwell surface is detected and quantified by addition of chromogen-substrate mixture, stop solution and photometry at 450 nm. Optical density in the microwell is inversely related to the quantity of the measured analyte in the specimen.

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

4.1. For professional use only.

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

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

4.4. Avoid contact with stop solution containing 5.0% 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	Testosterone EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp.date
2 CAL 1-6	Calibrator set, 0.8 ml each. The set contains 6 calibrators: 0; 1; 3; 10; 30, 100 nmol/l	6	pcs	blue (C1 – colourless)	2 months
3 CONTROL CONTROL 2	Control sera (0.8 ml)	2	pcs	purple and purple	2 months
4 CONJ HRP	Conjugate, 14 ml	1	pcs	green	until exp.date
5 SUBS TMB	Substrate solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
6 BUF WASH 26X	Washing solution concentrate 26X, 22 ml	1	pcs	colourless	Concentrate – until exp.date Diluted washing solution – 45 days at 2-8 °C or 15 days at RT
7 STOP	Stop solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
8 N003	Plate sealing tape	2	pcs		N/A
9 K209I	Instruction Testosterone EIA	1	pcs		N/A
10 K209Q	QC data sheet Testosterone 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.

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

7.3. Alternative units:

1 nmol/l = 0.29 ng/ml

7.4. Assay procedure

1	Put the desired number of microstrips into the frame; allocate 16 wells for the calibrators CAL 1–6 and control samples CONTROL, CONTROL 2 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, CONTROL 2 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 600 rpm, 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

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

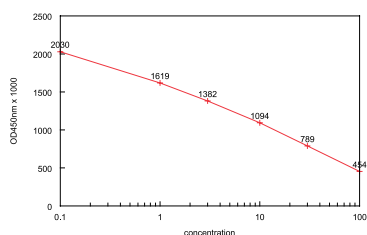
9.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

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

9.3. Determine the corresponding concentration of testosterone in unknown samples from the calibration curve. Manual or computerized data reduction is applicable on this stage. Point-by-point or linear data reduction is recommended due to non-linear shape of curve.

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

Calibrators	Value	Absorbance Units (450 nm) x 1000
CAL 1	0 nmol/l	2030
CAL 2	1 nmol/l	1619
CAL 3	3 nmol/l	1282
CAL 4	10 nmol/l	1094
CAL 5	30 nmol/l	889
CAL 6	100 nmol/l	554



10. EXPECTED VALUES

Therapeutical consequences should not be based on results of IVD methods alone – all available clinical and laboratory findings should be used by a physician to elaborate therapeutically measures. Each laboratory should establish its own normal range for Testosterone. Based on data obtained by XEMA, the following normal range is recommended (see below). 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, ng/ml	
	Lower limit	Upper limit	Lower limit	Upper limit
Males				
20-39 yrs	9.0	38	2.6	11
40-55 yrs	6.9	21	2.0	6.1
>55 yrs	5.9	18.1	1.7	5.2
Females	-	4.6	-	1.3

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

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

11.2. Analytical sensitivity

Sensitivity of the assay was assessed as being 0.15 nmol/l.

11.3. Linearity

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

11.4. Recovery

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

12. LITERATURE

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

Символ / Symbol	Значение символа / Symbolize
	Производитель / Manufacturer
	Дата производства / Date of manufacture
REF	Номер по каталогу / Catalogue number
LOT	Номер серии / Batch code
 YYYY-MM	Использовать до (год-месяц) / Use By
	Ограничение температуры / Temperature limitation
IVD	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
SORB MTP	Планшет / EIA strips
CAL	Калибровочные пробы / Calibrator set
CONTROL	Контрольная сыворотка / Control sera
CONJ HRP	Конъюгат / Conjugate
SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) / Substrate solution
BUF WASH 26X	Концентрат отмывочного раствора / Washing solution concentrate
STOP	Стоп-реагент / Stop solution
DIL	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 лабораторной
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;

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

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com





Instruction for use



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

«ДЭАС-ИФА»

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

DHEAS EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF K215**

ТУ № 9398-037-18619450-2007

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



For 96 determinations/На 96 определений



Для *ин vitro* диагностики

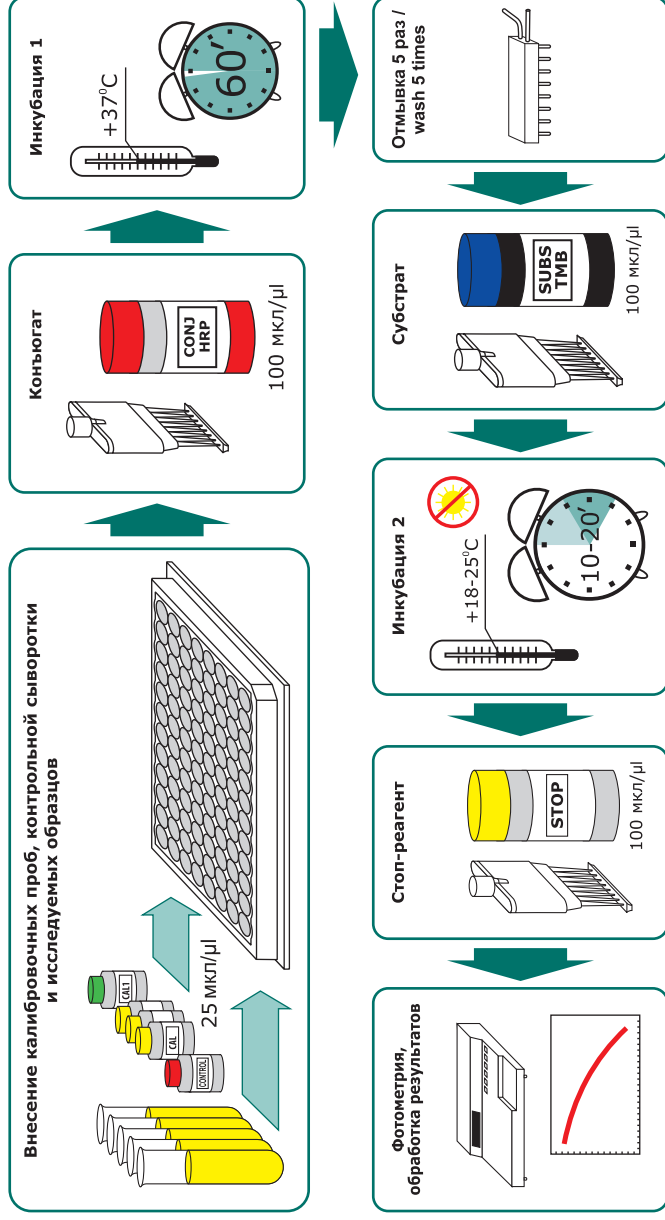


XEMA Co., Ltd.
The 9th Parkovaya str., 48
105264 Moscow, Russia
Tel./fax: +7(495) 510-57-07
e-mail: redkin@xema-medica.com
internet: www.xema-medica.com



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

Схема проведения анализа / Test procedure



K210, K214, K215

СОДЕРЖАНИЕ

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

CONTENT

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

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

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДЕГИДРОЭПИАНДРОСТЕРОН-СУЛЬФАТА В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «ДЭАС-ИФА»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

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

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

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение дегидроэпиандростерон-сульфата основано на использовании конкурентного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы кроличьи поликлональные антитела к ДЭАС. Дегидроэпиандростерон-сульфат из образца конкурирует с конъюгированным ДЭАС за связывание с антителами на поверхности лунки. В результате образуется связанный с пластиком «сэндвич», содержащий пероксидазу. Во время инкубации с раствором субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) происходит окрашивание растворов в лунках. Интенсивность окраски обратно пропорциональна концентрации дегидроэпиандростерон-сульфата в исследуемом образце. Концентрацию дегидроэпиандростерон-сульфата в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания дегидроэпиандростерон-сульфата в калибровочных пробах.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

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

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

3.2. Воспроизводимость.

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

3.3. Линейность.

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

3.4. Точность.

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

3.5. Чувствительность.

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

4. СОСТАВ НАБОРА

	Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1	P215Z	SORB MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стриптированный, готов к использованию	1	шт.	-
2	C215Z	CAL 1-6	Калибровочные пробы на основе сыворотки крови человека, содержащие известные количества дегидроэпиандростерон-сульфата – 0; 0.1; 0.3; 1; 3; 10 мкг/мл , готовы к использованию (по 0.8 мл каждая)	6	шт.	прозрачные жидкости синего цвета (калибровочная проба 0 – прозрачная бесцветная жидкость)
3	Q215Z	CONTROL	Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием дегидроэпиандростерон-сульфата, готова к использованию (0.8 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
4	T215Z	CONJ HRP	Конъюгат , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость пурпурного цвета
5	R055Z	SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
6	S008Z	BUF WASH 26X	Концентрат отмывочного раствора (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26х-кратный (22 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
7	R050Z	STOP	Стоп-реагент , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
8	N003	-	Бумага для заклеивания планшета	2	шт.	-
9	K215I	-	Инструкция по применению Набора реагентов «ДЭАС-ИФА»	1	шт.	-
10	K215Q	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «ДЭАС-ИФА»	1	шт.	-

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

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

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

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

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

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность содержимого лунок планшета при длине волны 450 нм;
- термостат, поддерживающий температуру $+37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$;
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы в диапазоне 25–250 мкл;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- бумага фильтровальная.

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

7.1. Перед проведением анализа компоненты Набора и исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови следует выдержать при комнатной температуре ($+18\text{--}25\text{ }^{\circ}\text{C}$) не менее 30 мин.

7.2. Приготовление планшета.

Вскрыть пакет с планшетом и установить на рамку необходимое количество стрипов. Оставшиеся неиспользованными стрипы, чтобы предотвратить воздействие на них влаги, тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре $+2\text{--}8\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности Набора.

7.3. Приготовление отмывочного раствора.

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

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

8.1. Набор реагентов «ДЭАС-ИФА» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2-8 °С в течение всего срока годности, указанного на упаковке Набора.

Допускается хранение (транспортировка) Набора при температуре до +25 °С не более 15 суток. Не допускается замораживание целого набора.

Допускается однократное замораживание (-20 °С) калибровочных проб и контрольной сыворотки в аликвотах.

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

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

- оставшиеся неиспользованными стрипы необходимо тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре +2-8 °С в течение всего срока годности Набора;
- конъюгат, субстрат, стоп-реагент после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2-8 °С в течение всего срока годности Набора;
- калибровочные пробы и контрольную сыворотку после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2-8 °С не более 2 месяцев;
- оставшийся неиспользованным концентрат отмывочного раствора следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора. Приготовленный отмывочный раствор следует хранить при комнатной температуре (+18...+25 °С) не более 15 суток или при температуре +2...+8 °С не более 45 суток.

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

8.4. Для проведения анализа не следует использовать гемолизированную, мутную сыворотку (плазму) крови, а также сыворотку (плазму) крови, содержащую азид натрия. Если анализ производится не в день взятия крови, сыворотку (плазму) следует хранить при температуре -20 °С. Повторное замораживание-оттаивание образцов сыворотки (плазмы) крови не допускается.

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

8.6. При использовании Набора для проведения нескольких независимых серий анализов следует иметь в виду, что для каждого независимого определения необходимо построение нового калибровочного графика; кроме этого, рекомендуется определение концентрации дегидроэпиандростерон-сульфата в контрольной сыворотке.

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

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

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов – исследуемые образцы в 2 повторах и 14 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки.
2	Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 25 мкл калибровочной пробы и контрольной сыворотки. В остальные лунки внесите в дубликатах по 25 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови. Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
3	Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.
4	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте его в течение 60 минут при температуре +37 °С.
5	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз. При каждой отмывке добавьте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п. 7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок постукиванием планшета в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.
6	Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина. Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2-3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18-25°С) в течение 10-20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.
7	Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
8	Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм. Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра выставляйте по воздуху.
9	Постройте в полулогарифмических координатах калибровочный график: ось абсцисс (х) – десятичный логарифм концентрации ДЭАС в калибровочных пробах (мкг/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. Приравняйте концентрацию калибровочной пробы 0 мкг/мл к несущественно малой величине, например, 0.001 мкг/мл
10	Определите по калибровочному графику содержание ДЭАС в исследуемых образцах.

10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ

10.1. Основываясь на результатах исследований, проведенных ООО «ХЕМА», рекомендуем пользоваться нормами, приведенными ниже. Вместе с тем, в соответствии с правилами *GLP* (Хорошей лабораторной практики), каждая лаборатория должна сама определить параметры нормы, характерные для обследуемой популяции.

Примечание. Значения концентраций ДЭАС в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0.025 мкг/мл), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (10 мкг/мл) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация ДЭАС ниже 0.025 мкг/мл или выше 10 мкг/мл.

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

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

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

11. ЛИТЕРАТУРА

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

По вопросам, касающимся качества Набора **«ДЭАС-ИФА»**,
следует обращаться в ООО «ХЕМА» по адресу:
105043, г. Москва, а/я 58
105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1-й под., 5 этаж,
тел/факс (495) 737-39-36, 737-00-40, 510-57-07 (многоканальный)

электронная почта: info@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

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

1. INTENDED USE

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

This kit is designed for measurement of dehydroepiandrosterone sulfate in blood serum or plasma. For possibility of use with other sample types, please, refer to Application Notes (on request). The kit contains reagents sufficient for 96 determinations and allows to analyze 41 unknown samples in duplicates.

2. SUMMARY AND EXPLANATION

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

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

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

3. PRINCIPLE OF THE TEST

This test is based on competition enzyme immunoassay principle. Tested specimen is placed into the microwells coated by specific rabbit polyclonal to DHEAS-antibodies simultaneously with conjugated DHEAS-peroxidase. DHEAS from the specimen competes with the conjugated DHEAS for coating antibodies. After washing procedure, the remaining enzymatic activity bound to the microwell surface is detected and quantified by addition of chromogen-substrate mixture, stop solution and photometry at 450 nm. Optical density in the microwell is inversely related to the quantity of the measured analyte in the specimen.

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

4.1. For professional use only.

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

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

4.4. Avoid contact with stop solution containing 5.0% 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	DHEAS 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; 10 µg/ml	6	pcs	blue (C1 – colourless)	2 months
3 CONTROL	Control serum (0.8 ml)	1	pcs	colourless	2 months
4 CONJ HRP	Conjugate, 14 ml	1	pcs	purple	until exp.date
5 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 K215I	Instruction DHEAS EIA	1	pcs		N/A
10 K215Q	QC data sheet DHEAS EIA	1	pcs		N/A

5.2. Equipment and material required but not provided

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

5.3. Storage and stability of the Kit

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

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

6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

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

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

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

- All reagents (including unsealed microstrips) should be allowed to reach room temperature (+18 to +25 °C) before use.
- All reagents should be mixed by gentle inversion or vortexing prior to use. Avoid foam formation.
- It is recommended to spin down shortly the tubes with calibrators on low speed centrifuge.
- Prepare washing solution from the concentrate BUF WASH 26X by 26 dilutions in distilled water.

7.2. Procedural Note:

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

7.3. Assay flowchart

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

7.4. Alternative units:

1 µg/ml = 2.6 µMol/l

7.5. Assay procedure

1	Put the desired number of microstrips into the frame; allocate 14 wells for the calibrators CAL 1–6 and control samples CONTROL and two wells for each unknown sample. DO NOT REMOVE ADHESIVE SEALING TAPE FROM UNUSED STRIPS.
2	Pipet 25 µl of calibrators CAL 1–6, control samples CONTROL and unknown samples into the wells.
3	Dispense 100 µl of CONJ HRP into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape (included into the kit).
4	Incubate 60 minutes at 37 °C.
5	Prepare washing solution by 26X dilution of washing solution concentrate (BUF WASH 26X) by distilled water. Wash the strips 5 times.
6	Dispense 100 µl of SUBS TMB into the wells.
7	Incubate 10–20 minutes at 18–25 °C.
8	Dispense 100 µl of STOP into the wells.
9	Measure OD (optical density) at 450 nm.
10	Set photometer blank on air.
11	Apply lin-log method for data reduction.

7.6. Handling notes

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

8. QUALITY CONTROL

It is recommended to use control samples according to state and federal regulations. The use of control samples is advised to assure the day to day validity of results.

The test must be performed exactly as per the manufacturer's instructions for use. Moreover the user must strictly adhere to the rules of GLP (Good Laboratory Practice) or other applicable federal, state, and local standards and/or laws. This is especially relevant for the use of control reagents. It is important to always include, within the test procedure, a sufficient number of controls for validating the accuracy and precision of the test.

The test results are valid only if all controls are within the specified ranges and if all other test parameters are also within the given assay specifications.

9. CALCULATION OF RESULTS

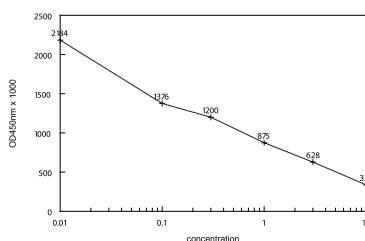
9.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

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

9.3. Determine the corresponding concentration of dehydroepiandrosterone sulfate in unknown samples from the calibration curve. Manual or computerized data reduction is applicable on this stage. Point-by-point or linear data reduction is recommended due to non-linear shape of curve.

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

Calibrators	Value	Absorbance Units (450 nm) x 1000
CAL 1	0 µg/ml	2184
CAL 2	0.1 µg/ml	1376
CAL 3	0.3 µg/ml	1200
CAL 4	1 µg/ml	875
CAL 5	3 µg/ml	628
CAL 6	10 µg/ml	337



10. EXPECTED VALUES

Therapeutical consequences should not be based on results of IVD methods alone – all available clinical and laboratory findings should be used by a physician to elaborate therapeutically measures. Each laboratory should establish its own normal range for DHEAS. Based on data obtained by XEMA, the following normal range is recommended (see below). NOTE: the patients that have received murine monoclonal antibodies for radioimaging or immunotherapy develop high titered anti-mouse antibodies (HAMA). The presence of these antibodies may cause false results in the present assay. Sera from HAMA positive patients should be treated with depleting adsorbents before assaying.

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

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

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

11.2. Analytical sensitivity

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

11.3. Linearity

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

11.4. Recovery

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

12. LITERATURE

Look page 9.

Символ / Symbol	Значение символа / Symbolize
	Производитель / Manufacturer
	Дата производства / Date of manufacture
REF	Номер по каталогу / Catalogue number
LOT	Номер серии / Batch code
 YYYY-MM	Использовать до (год-месяц) / Use By
	Ограничение температуры / Temperature limitation
IVD	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
SORB MTP	Планшет / EIA strips
CAL	Калибровочные пробы / Calibrator set
CONTROL	Контрольная сыворотка / Control sera
CONJ HRP	Конъюгат / Conjugate
SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) / Substrate solution
BUF WASH 26X	Концентрат отмывочного раствора / Washing solution concentrate
STOP	Стоп-реагент / Stop solution
DIL	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;

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
17-ОН-ПРОГЕСТЕРОНА
В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ**

«17-ОН-ПРОГЕСТЕРОН-ИФА»

**A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY
FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION
OF 17-OH-PROGESTERONE IN HUMAN
SERUM OR PLASMA**

17-OH-PROGESTERONE EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ REF **K217**

ТУ № 9398-067-18619450-2008

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
№ ФСР2009/04164 от 4 сентября 2013 года



For 96 determinations/На 96 определений



Для *ин витро* диагностики

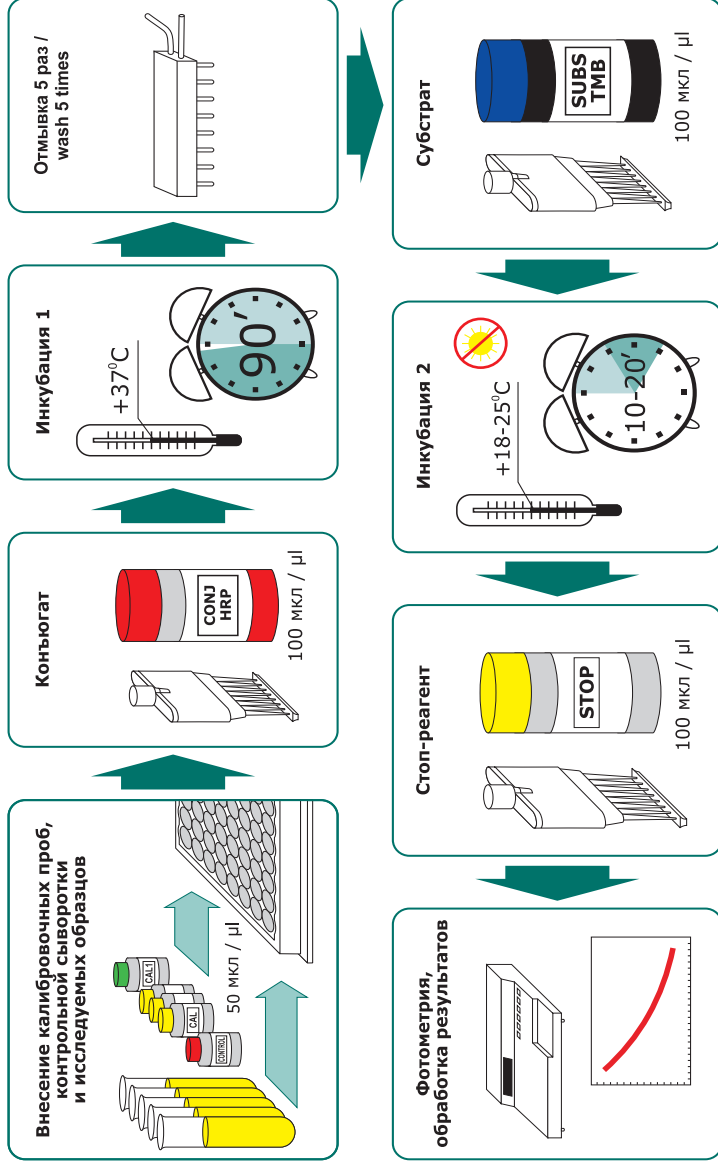


XEMA Co., Ltd.
The 9th Parkovaya str., 48
105264 Moscow, Russia
Tel./fax: +7(495) 510-57-07
e-mail: redkin@xema-medica.com
internet: www.xema-medica.com



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

Схема проведения анализа / Test procedure



K217

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 17-ОН-ПРОГЕСТЕРОНА В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «17-ОН-ПРОГЕСТЕРОН-ИФА»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «17-ОН-ПРОГЕСТЕРОН-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации 17-ОН-Прогестерона в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. 17-ОН-прогестерон (17-ОН-Р) – промежуточный продукт в биосинтезе глюкокортикоидов, эстрогенов и андрогенов с молекулярной массой 330 Да. 17-ОН-Р секретируется корой надпочечников, яичниками и семенниками посредством синтеза из прогестерона с помощью фермента 21-гидроксилазы. 17-ОН-Р вырабатывается яичниками во время фолликулярной фазы в небольшом количестве, после чего его концентрация немного увеличивается и остается постоянной до конца лютеиновой фазы. Уровень 17-ОН-Р уменьшается, если оплодотворения не произошло. В случае имплантации желтое тело продолжает секретировать 17-ОН-Р. В клинике анализ 17-ОН-Р важен для диагностики врожденной гиперплазии надпочечников, которая приводит к активации синтеза андрогенов и приводит к развитию аденогенитального синдрома (АГС). При АГС основной путь метаболизма стероидов блокируется из-за дефицита 21-гидроксилазы, в результате чего концентрация 17-ОН-Р возрастает в 5 и более раз. В зрелом возрасте при частично или поздно проявившемся дефиците фермента концентрация 17-ОН-Р может быть в норме или повышенной.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение 17-ОН-Прогестерона основано на использовании конкурентного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы кроличьи поликлональные антитела к 17-ОН-Прогестерону. 17-ОН-Прогестерон из образца конкурирует с конъюгированным 17-ОН-Прогестероном 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 17-ОН-Прогестерона в исследуемом образце. Концентрацию 17-ОН-Прогестерона в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания 17-ОН-Прогестерона в калибровочных пробах.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Перекрестная реакция кроличьих поликлональных антител к 17-ОН-Р с другими аналитами приведена в таблице:

Аналит	Перекрестная реакция, %
17-ОН-Р	100%
11-Дезоксикортизол	2.3%
Прогестерон	<1.0%
Другие родственные стероиды	<0.1%

3.2. Воспроизводимость.

Коэффициент вариации результатов определения содержания 17-ОН-Прогестерона в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «17-ОН-ПРОГЕСТЕРОН-ИФА» не превышает 8.0%.

3.3. Линейность.

Зависимость концентрации 17-ОН-Прогестерона в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей 17-ОН-Прогестерон, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 0.5–100 нмоль/л и составляет $\pm 10.0\%$.

3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации 17-ОН-Прогестерона предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 1,5 нмоль/л. Процент «открытия» составляет 90–110%.

3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «17-ОН-ПРОГЕСТЕРОН-ИФА» концентрация 17-ОН-Прогестерона в сыворотке (плазме) крови не превышает 0.12 нмоль/л.

4. СОСТАВ НАБОРА

	Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1	P217Z	SORB MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2	C217Z	CAL 1-6	Калибровочные пробы на основе сыворотки крови человека, содержащие известные количества 17-ОН-Прогестерона – 0; 0.5; 1.5; 5; 20; 100 нмоль/л , готовы к использованию (по 0.8 мл каждая)	6	шт.	прозрачные жидкости пурпурного цвета (калибровочная проба 0 – прозрачная бесцветная жидкость)
3	Q217Z	CONTROL	Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием 17-ОН-Прогестерона, готова к использованию (0.8 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
4	T217Z	CONJ HRP	Конъюгат , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость пурпурного цвета
5	R055Z	SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
6	S008Z	BUF WASH 26X	Концентрат отмывочного раствора (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26х-кратный (22 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
7	R050Z	STOP	Стоп-реагент , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
8	N003	-	Бумага для заклеивания планшета	2	шт.	-
9	K217I	-	Инструкция по применению Набора реагентов «17-ОН-ПРОГЕСТЕРОН-ИФА»	1	шт.	-
10	K217Q	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «17-ОН-ПРОГЕСТЕРОН-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 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 «17-ОН-ПРОГЕСТЕРОН-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 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 мышиные 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 17-ОН-Прогестерона в контрольной сыворотке.

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

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

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов – исследуемые образцы в 2 повторах и 14 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки.
2	Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 50 мкл калибровочной пробы и контрольной сыворотки. В остальные лунки внесите в дубликатах по 50 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови. Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
3	Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.
4	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте его в течение 90 минут при температуре +37 °C.
5	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз . При каждой отмывке добавляйте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п. 7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок постукиванием планшета в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.
6	Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина. Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2–3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25°C) в течение 10–20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.
7	Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
8	Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм . Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра выставьте по воздуху.
9	Постройте в полулогарифмических координатах калибровочный график: ось абсцисс (x) – десятичный логарифм концентрации 17-ОН-Прогестерона в калибровочных пробах (нмоль/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. Приравняйте концентрацию калибровочной пробы 0 нмоль/л к несущественно малой величине, например, 0.001 нмоль/л
10	Определите по калибровочному графику содержание 17-ОН-Прогестерона 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 17-ОН-Прогестерона в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0.12 нмоль/л), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (100 нмоль/л) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация 17-ОН-Прогестерона ниже 0.12 нмоль/л или выше 100 нмоль/л.

10.2. В Наборе «17-ОН-ПРОГЕСТЕРОН-ИФА» значения концентраций калибровочных проб выражены в нмоль/л. Для пересчета концентраций в нг/мл, полученное значение концентрации в нмоль/л следует умножить на 0.32.

$$1 \text{ нмоль/л} = 0.32 \text{ нг/мл}$$

Исследуемая группа	Единицы, нмоль/л		Единицы доп., нг/мл	
	Нижний предел	Верхний предел	Нижний предел	Верхний предел
новорожденные	0.7	2.3	0.23	0.75
дети	0.1	2.7	0.03	0.89
Мужчины				
пубертат	0.2	5.3	0.07	1.74
постпубертат	0.9	6.0	0.30	1.97
Женщины				
пубертат	0.1	7.0	0.03	2.30
постпубертат	0.2	8.7	0.07	2.85
Беременные:	2.0	12	0.66	3.93
Фазы цикла:				
фолликулярная	0.2	2.4	0.07	0.79
лютеиновая	0.9	8.7	0.30	2.85
менопауза	0.12	7.0	0.04	2.30

11. ЛИТЕРАТУРА

1. Abraham, G.E., R.S. Swerdloff, D. Tulchinsky et al: Radioimmunoassay of plasma 17- hydroxyprogesterone. J. Clin. Endocrinol. Metab. 33:42, 1971
2. Chrousos, G.P., D. L. Loriaux, D.L. Mann, et al: Late onset 21- hydroxylase deficiency mimicking idiopathic hirsutism or polycystic ovarian disease. Annals Intern. Med. 96:143, 1982.
3. Buster, J.E., R.J. Chang, D.L. Preston, et al: Interrelationships of circulating maternal steroids; progesterone, 16ahydroxyprogesterone, 17a-hydroxyprogesterone, 20a-dihydroprogesterone, gamma-5-pregnenolone, gamma-5-pregnenolone-sulfate, gamma-5-pregnenolone-sulfate and 17-hydroxy gamma-5-pregnenolone, J. Clin. Endocrinol. Metab. 48:133, 1979.
4. New, M.I., B. Dupont, S. Pang, et al: An update on congenital adrenal hyperplasia. Recent Progress in Hormone Research, 37:105, 1981.
5. Pang S., J. Hotchkiss, A. Drash, et al: Micro filter paper method for 17ahydroxyprogesterone radioimmunoassay: Its application for rapid screening for congenital adrenal hyperplasia. J. Clin. Endocrinol. Metab., 45:1003, 1977.
6. Lobo, R.A., U. Goebelsmann: Adult manifestation of congenital adrenal hyperplasia due to incomplete 21-hydroxylase deficiency mimicking polycystic ovarian disease. Am. J. Obstet. Gynecol., 138:720, 1980.
7. Urban, M.D., P.A. Lee and C.J. Migeon: Adult high infertility in men with congenital adrenalized hyperplasia. N. Engl. J. Med. 299:1392, 1978.
8. Meikle, A.W., R.J. Worley and C.D. West: Adrenal corticoid hyper-response in hirsute women. Fertil. Steril. 41:575, 1984

По вопросам, касающимся качества Набора **«17-ОН-ПРОГЕСТЕРОН-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 17-OH-PROGESTERONE
IN HUMAN SERUM OR PLASMA**

1. INTENDED USE

A solid-phase enzyme immunoassay for the quantitative determination of 17-OH-progesterone in blood serum or plasma.

This kit is designed for measurement of 17-OH-progesterone 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

17-OH-progesterone (17-OH-P) is a steroid with molecular weight 330 Da, an intermediate precursor in biosynthesis of glucocorticosteroids, estrogens and androgens.

17-OH-P is secreted by adrenals, ovaries and testicles by the enzyme 21-hydroxylase. 17-OH-P is secreted by ovaries during follicular phase; its serum level remains stable by the end of luteal phase. In case of non-fertile cycle, the serum level of 17-OH-P decreases; in case of fertilization, this hormone is secreted by corpus luteum.

The determination of 17-OH-P is important for diagnosis of inborn adrenal hyperplasia which causes elevated secretion of androgens and the development of adrenogenital syndrome (AGS). In AGS, the deficient 21-hydroxylase activity causes blocked steroid synthetic pathway and correspondent dramatic increase in serum 17-OH-P level. If the deficiency of 21-hydroxylase is acquired in mature age, or in case of delayed inborn defect, the serum 17-OH-P may remain normal.

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 17-OH-progesterone-antibodies simultaneously with conjugated 17-OH-progesterone-peroxidase. 17-OH-progesterone from the specimen competes with the conjugated 17-OH-progesterone 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_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	17-OH-progesterone EIA strips, 8x12wells	1	pcs		until exp. date
2 CAL 1-6	Calibrator set, 0.8 ml each. The set contains 6 calibrators: 0; 0.5; 1.5; 5; 20; 100 nmol/l	6	pcs	purple (C1 – colourless)	2 months
3 CONTROL	Control serum (0.8 ml)	1	pcs	colourless	2 months
4 CONJ HRP	Conjugate, 14 ml	1	pcs	purple	until exp. date
5 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, 14ml	1	pcs	colourless	until exp. date
8 N003	Plate sealing tape	2	pcs		N/A
9 K2171	Instruction 17-OH-progesterone EIA	1	pcs		N/A
10 K217Q	QC datasheet 17-OH-progesterone 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 nmol/l = 0.32 ng/ml

7.5. Assay procedure

1	Put the desired number of microstrips into the frame; allocate 14 wells for the calibrators CAL 1–6 and control samples CONTROL and two wells for each unknown sample. DO NOT REMOVE ADHESIVE SEALING TAPE FROM UNUSED STRIPS.
2	Pipet 50 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 90 minutes at 37 °C.
5	Prepare washing solution by 26X dilution of washing solution concentrate (BUF WASH 26X) by distilled water. Wash the strips 5 times.
6	Dispense 100 µl of SUBS TMB into the wells
7	Incubate 10–20 minutes at +18...+25 °C
8	Dispense 100 µl of STOP into the wells.
9	Measure OD (optical density) at 450 nm.
10	Set photometer blank on air
11	Apply lin-log method for data reduction.

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

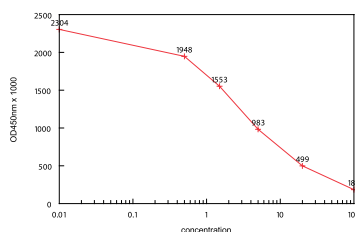
9.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

9.2. Plot a calibration curve on graph paper: OD versus 17-OH-progesterone concentration.

9.3. Determine the corresponding concentration of 17-OH-progesterone in unknown samples from the calibration curve. Manual or computerized data reduction is applicable on this stage. Point-by-point or linear data reduction is recommended due to non-linear shape of curve.

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

Calibrators	Value	Absorbance Units (450 nm) x 1000
CAL 1	0 nmol/l	2304
CAL 2	0.5 nmol/l	1948
CAL 3	1.5 nmol/l	1553
CAL 4	5 nmol/l	983
CAL 5	20 nmol/l	499
CAL 6	100 nmol/l	185



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 17-OH-progesterone. 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, ng/ml	
	Lower limit	Upper limit	Lower limit	Upper limit
newborn	0.7	2.3	0.23	0.75
Children	0.1	2.7	0.03	0.89
Males				
Puberty	0.2	5.3	0.07	1.74
Postpuberty	0.9	6.0	0.30	1.97
Females				
Puberty	0.1	7.0	0.03	2.30
Postpuberty	0.2	8.7	0.07	2.85
Pregnancy week:	2.0	12	0.66	3.93
Menstrual cycle:				
follicular phase	0.2	2.4	0.07	0.79
luteinic phase	0.9	8.7	0.30	2.85
post menopausal	0.12	7.0	0.04	2.30

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

Analyte	Cross-reactivity, % wt/wt
17-OH-P	100%
11-Deoxycortisol	2.3%
Progesterone	<1.0%
other steroids	<0.1%

11.2. Analytical sensitivity.

Sensitivity of the assay was assessed as being 0.12 nmol/l.

11.3. Linearity. Linearity was checked by assaying dilution series of 5 samples with different 17-OH-progesterone concentrations. Linearity percentages obtained ranged within 90 to 110%.

11.4. Recovery. Recovery was estimated by assaying 5 mixed samples with known 17-OH-progesterone concentrations. The recovery percentages ranged from 90 to 110%.

12. LITERATURE

1. Abraham, G.E., R.S. Swerdloff, D. Tulchinsky et al: Radioimmunoassay of plasma 17- hydroxyprogesterone. J. Clin. Endocrinol. Metab. 33:42, 1971
2. Chrousos, G.P., D. L. Loriaux, D.L. Mann, et al: Late onset 21- hydroxylase deficiency mimicking idiopathic hirsutism or polycystic ovarian disease. Annals Intern. Med. 96:143, 1982.
3. Buster, J.E., R.J. Chang, D.L. Preston, et al: Interrelationships of circulating maternal steroids; progesterone, 16ahydroxyprogesterone, 17a-hydroxyprogesterone, 20a-dihydroprogesterone, gamma-5-pregnenolone, gamma-5-pregnenolone-sulfate, gamma-5-pregnenolone-sulfate and 17-hydroxy gamma-5-pregnenolone, J. Clin. Endocrinol. Metab. 48:133, 1979.
4. New, M.I., B. Dupont, S. Pang, et al: An update on congenital adrenal hyperplasia. Recent Progress in Hormone Research, 37:105, 1981.
5. Pang S., J. Hotchkiss, A. Drash, et al: Micro filter paper method for 17ahydroxyprogesterone radioimmunoassay: Its application for rapid screening for congenital adrenal hyperplasia. J. Clin. Endocrinol. Metab., 45:1003, 1977.
6. Lobo, R.A., U. Goebelsmann: Adult manifestation of congenital adrenal hyperplasia due to incomplete 21-hydroxylase deficiency mimicking polycystic ovarian disease. Am. J. Obstet. Gynecol., 138:720, 1980.
7. Urban, M.D., P.A. Lee and C.J. Migeon: Adult high infertility in men with congenital adrenalized hyperplasia. N. Engl. J. Med. 299:1392, 1978.
8. Meikle, A.W., R.J. Worley and C.D. West: Adrenal corticoid hyper-response in hirsute women. Fertil. Steril. 41:575, 1984

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



Академия наук
и медицинский институт
инфекционных заболеваний



RUSSIAN ASSOCIATION
OF MEDICAL LABORATORY
DIAGNOSTICS



РОССИЙСКАЯ АССОЦИАЦИЯ
МЕДИЦИНСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ
ДИАГНОСТИКИ

Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

8 800 505 23 45

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

Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

105043, г. Москва, а/я 58

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

тел.: +7 (495) 510-57 07, 737-39-36;

факс: +7 (495) 737-00-40

e-mail: info@xema.ru

www.xema-medica.com

ФООО «Хема», тел.: +7 (812) 271-24-41

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

e-mail: spb@xema.ru

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

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

литер А, корп. 8/К, офис 416

e-mail: hemma-test@yandex.ru

ТОВ «Хема», тел.: (044) 422-62-16;

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

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com





Instruction for use



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

«свТЕСТОСТЕРОН-ИФА»

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

free Testosterone EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ REF **K219**

ТУ № 9398-219-18619450-2016

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



For 96 determinations/На 96 определений



ТОЛЬКО для *in vitro* диагностики

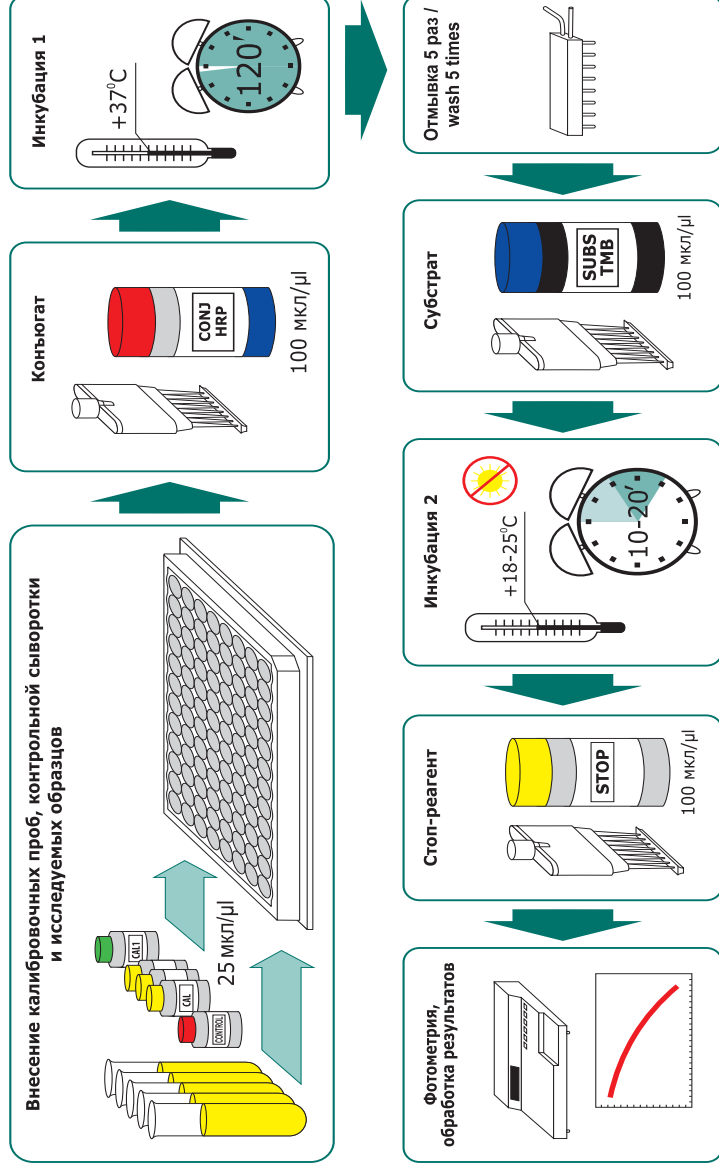


XEMA Co., Ltd.
The 9th Parkovaya str., 48
105264 Moscow, Russia
Tel./fax: +7(495) 510-57-07
e-mail: redkin@xema-medica.com
internet: www.xema-medica.com



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

Схема проведения анализа / Test procedure



K219

СОДЕРЖАНИЕ

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

CONTENT

1. INTENDED USE	9
2. SUMMARY AND EXPLANATION	9
3. PRINCIPLE OF THE TEST	9
4. WARNINGS AND PRECAUTIONS	10
5. KIT COMPONENTS	11
6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE	12
7. TEST PROCEDURE	12
8. QUALITY CONTROL	14
9. CALCULATION OF RESULTS	14
10. EXPECTED VALUES	15
11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS	15
12. LITERATURE	16

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

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

1. НАЗНАЧЕНИЕ

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

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

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

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение тестостерона основано на использовании конкурентного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы антитела к свободному тестостерону. Тестостерон из образца конкурирует с конъюгированным тестостероном за связывание с антителами на поверхности лунки. В результате образуется связанный с пластиком «сэндвич», содержащий пероксидазу. Во время инкубации с раствором субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) происходит окрашивание растворов в лунках. Интенсивность окраски обратнопропорциональна концентрации свободного тестостерона в исследуемом образце. Концентрацию свободного тестостерона в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания свободного тестостерона в калибровочных пробах.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

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

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

3.2. Воспроизводимость.

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

3.3. Линейность.

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

3.4. Точность.

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

3.5. Чувствительность.

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

4. СОСТАВ НАБОРА

	Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1	P219Z	SORB MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт	
2	C219Z	CAL 1 - 6	Калибровочные пробы на основе сыворотки крови человека, содержащие известные количества свободного тестостерона - 0; 0.2; 1; 4; 20; 100 пг/мл , готовы к использованию (по 0.8 мл каждая)	6	шт	прозрачные жидкости красного цвета (калибровочная проба 0 - прозрачная бесцветная жидкость)
3	Q219Z	CONTROL	Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием свободного тестостерона, готова к использованию (по 0.8 мл каждая)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
4	T219Z	CONJ HRP	Конъюгат , готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная жидкость синего цвета
5	R055Z	SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
6	S008Z	BUF WASH 26X	Концентрат отмывочного раствора (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой) 26х-кратный (22 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
7	R050Z	STOP	Стоп-реагент , готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
8	N003		Бумага для заклеивания планшета	2	шт	—
9	K219I		Инструкция по применению Набора реагентов «свТЕСТОСТЕРОН-ИФА»	1	шт	—
10	K219Q		Паспорт контроля качества Набора реагентов «свТЕСТОСТЕРОН-ИФА»	1	шт	—

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

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

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

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

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

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность содержимого лунок планшета при длине волны 450 нм;
- термостат, поддерживающий температуру $+37 \pm 0.1$ °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 ($+18...+25$ °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 $+2...+8$ °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 «свТЕСТОСТЕРОН-ИФА» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности, указанного на упаковке Набора.

Допускается хранение (транспортировка) Набора при температуре до +25 °С не более 15 суток. Не допускается замораживание целого набора.

Допускается однократное замораживание (-20 °С) калибровочных проб и контрольной сыворотки в аликвотах.

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

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

- оставшиеся неиспользованными стрипы необходимо тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- конъюгат, субстрат, стоп-реагент после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- калибровочные пробы и контрольную сыворотку после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °С не более 2 месяцев;
- оставшийся неиспользованным концентрат отмывочного раствора следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора. Приготовленный отмывочный раствор следует хранить при комнатной температуре (+18...+25 °С) не более 15 суток или при температуре +2...+8 °С не более 45 суток.

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

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

Если анализ производится не в день взятия крови, сыворотку (плазму) следует хранить при температуре -20 °С. Повторное замораживание-оттаивание образцов сыворотки (плазмы) крови не допускается.

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

8.6. При использовании Набора для проведения нескольких независимых серий анализов следует иметь в виду, что для каждого независимого определения необходимо построение нового калибровочного графика; кроме этого, рекомендуется определение концентрации тестостерона в контрольной сыворотке.

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

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

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов - исследуемые образцы в 2 повторах и 14 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки.
2	Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 25 мкл калибровочной пробы и контрольной сыворотки. В остальные лунки внесите в дубликатах по 25 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови. Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
3	Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.
4	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте его в течение 120 минут при температуре +37 °C .
5	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз. При каждой отмывке добавляйте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п.7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок постукиванием планшета в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.
6	Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина. Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2-3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °C) в течение 10-20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.
7	Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента , при этом содержимое лунок окрашивается в яркий желтый цвет.
8	Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм. Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра выставьте по воздуху.
9	Постройте в полулогарифмических координатах калибровочный график: ось абсцисс (х) - десятичный логарифм концентрации тестостерона в калибровочных пробах (пг/мл), ось ординат (у) - оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма обчета (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод. Приравняйте концентрацию калибровочной пробы 0 пг/мл к несущественно малой величине, например, 0.001 пг/мл.
10	Определите по калибровочному графику содержание свободного тестостерона в исследуемых образцах.

10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ

10.1. Основываясь на результатах исследований, проведенных ООО «ХЕМА», рекомендуем пользоваться нормами, приведенными ниже. Вместе с тем, в соответствии с правилами GLP (Хорошей лабораторной практики), каждая лаборатория должна сама определить параметры нормы, характерные для обследуемой популяции.

Примечание. Значения концентраций тестостерона в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0.06 пг/мл), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (100 пг/мл) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация тестостерона ниже 0.06 пг/мл или выше 100 пг/мл.

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

11. ЛИТЕРАТУРА

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

По вопросам, касающимся качества Набора **«свТЕСТОСТЕРОН-ИФА»**, следует обращаться в ООО «ХЕМА» по адресу:

105043, г. Москва, а/я 58

105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1-й под., 5 этаж,
тел/факс (495) 737-39-36, 737-00-40, 510-57-07 (многоканальный)

электронная почта: info@xema.ru;

интернет: www.xema.ru; www.xema-medica.com

Руководитель службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА», к. б. н. Д. С. Кострикин

Instruction for use

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

1. INTENDED USE

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

This kit is designed for measurement of free testosterone in blood serum or plasma. For possibility of use with other sample types, please, refer to Application Notes (on request). The kit contains reagents sufficient for 96 determinations and allows to analyze 41 unknown samples in duplicates.

2. SUMMARY AND EXPLANATION

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

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

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

3. PRINCIPLE OF THE TEST

This test is based on competition enzyme immunoassay principle. Tested specimen is placed into the microwells coated by specific to free testosterone-antibodies simultaneously with conjugated Testosterone-peroxidase. Free testosterone from the specimen competes with the conjugated testosterone for coating antibodies. After washing procedure, the remaining enzymatic activity bound to the microwell surface is detected and quantified by addition of chromogen-substrate mixture, stop solution and photometry at 450 nm. Optical density in the microwell is inversely related to the quantity of the measured analyte in the specimen.

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

4.1. For professional use only.

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

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

4.4. Avoid contact with stop solution containing 5.0% 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	Free testosterone EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp.date
2 CAL 1 - 6	Calibrator set, 0.8 ml each. The set contains 6 calibrators: 0;0.2; 1; 4, 20; 100 pg/ml	6	pcs	red(C1 - colourless)	2 months
3 CONTROL	Control serum (0.8 ml)	1	pcs	colourless	2 months
4 CONJ HRP	Conjugate, 14 ml	1	pcs	blue	until exp.date
5 SUBS TMB	Substrate solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
6 BUF WASH 26X	Washing solution concentrate 26x, 22 ml	1	pcs	colourless	Concentrate - until exp.date Diluted washing solution - 45 days at 2-8 °C or 15 days at RT
7 STOP	Stop solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
8 N003	Plate sealing tape	2	pcs		N/A
9 K209I	Instruction Free testosterone EIA	1	pcs		N/A
10 K209Q	QC data sheet Free testosterone EIA	1	pcs		N/A

Equipment and material required but not provided

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

5.2. Storage and stability of the Kit

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

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

6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE.

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

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

7. TEST PROCEDURE

7.1. Reagent Preparation

- All reagents (including unsealed microstrips) should be allowed to reach room temperature (+18 to +25 °C) before use.
- All reagents should be mixed by gentle inversion or vortexing prior to use. Avoid foam formation.
- It is recommended to spin down shortly the tubes with calibrators on low speed centrifuge.
- Prepare washing solution from the concentrate BUF WASH 26X by 26 dilutions in distilled water.

7.2. Procedural Note:

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

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

7.3. Assay procedure

1	Put the desired number of microstrips into the frame; allocate 14 wells for the calibrators CAL 1 - 6 and control samples CONTROL and two wells for each unknown sample. DO NOT REMOVE ADHESIVE SEALING TAPE FROM UNUSED STRIPS.
2	Pipet 25 µl of calibrators CAL 1 - 6, control samples CONTROL and unknown samples into the wells.
3	Dispense 100 µl of CONJ HRP into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape (included into the kit).
4	Incubate 120 minutes at 37 °C.
5	Prepare washing solution by 26x dilution of washing solution concentrate (BUF WASH 26X) by distilled water. Wash the strips 5 times.
6	Dispense 100 µl of SUBS TMB into the wells.
7	Incubate 10–20 minutes at +18...+25 °C.
8	Dispense 100 µl of STOP into the wells.
9	Measure OD (optical density) at 450 nm.
10	Set photometer blank on air.
11	Apply lin-log method for data reduction.

7.4. Handling notes

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

8. QUALITY CONTROL

It is recommended to use control samples according to state and federal regulations. The use of control samples is advised to assure the day to day validity of results.

The test must be performed exactly as per the manufacturer's instructions for use. Moreover the user must strictly adhere to the rules of GLP (Good Laboratory Practice) or other applicable federal, state, and local standards and/or laws. This is especially relevant for the use of control reagents. It is important to always include, within the test procedure, a sufficient number of controls for validating the accuracy and precision of the test.

The test results are valid only if all controls are within the specified ranges and if all other test parameters are also within the given assay specifications.

9. CALCULATION OF RESULTS

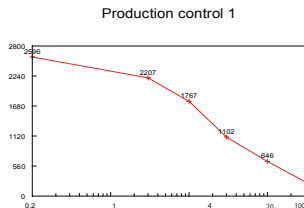
9.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

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

9.3. Determine the corresponding concentration of free testosterone in unknown samples from the calibration curve. Manual or computerized data reduction is applicable on this stage. Point-by-point or linear data reduction is recommended due to non-linear shape of curve.

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

Calibrators	Value	AbsorbanceUnits (450 nm) x 1000
CAL 1	0 pg/ml	2.596
CAL 2	0.2 pg/ml	2.207
CAL 3	1 pg/ml	1.767
CAL 4	4 pg/ml	1.102
CAL 5	20 pg/ml	0.646
CAL 6	100 pg/ml	0.271



10. EXPECTED VALUES

Therapeutical consequences should not be based on results of IVD methods alone – all available clinical and laboratory findings should be used by a physician to elaborate therapeutically measures. Each laboratory should establish its own normal range for Testosterone. Based on data obtained by XEMA, the following normal range is recommended (see below).

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

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

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

11.2. Analytical sensitivity

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

11.3. Linearity

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

11.4. Recovery

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

12. LITERATURE

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

Символ / Symbol	Значение символа / Symbolize
	Производитель / Manufacturer
	Дата производства / Date of manufacture
REF	Номер по каталогу / Catalogue number
LOT	Номер серии / Batch code
 YYYY-MM	Использовать до (год-месяц) / Use By
	Ограничение температуры / Temperature limitation
IVD	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
SORB MTP	Планшет / EIA strips
CAL	Калибровочные пробы / Calibrator set
CONTROL	Контрольная сыворотка / Control sera
CONJ HRP	Конъюгат / Conjugate
SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) / Substrate solution
BUF WASH 26X	Концентрат отмывочного раствора / Washing solution concentrate
STOP	Стоп-реагент / Stop solution
DIL	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



Академия наук
президентской академии наук
инфекционных заболеваний



RUSSIAN ASSOCIATION
OF MEDICAL LABORATORY
DIAGNOSTICS



РОССИЙСКАЯ АССОЦИАЦИЯ
МЕДИЦИНСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ
ДИАГНОСТИКИ

Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

8 800 505 23 45

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

Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

105043, г. Москва, а/я 58

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

тел.: +7 (495) 510-57 07, 737-39-36;

факс: +7 (495) 737-00-40

e-mail: info@xema.ru

www.xema-medica.com

ФООО «Хема», тел.: +7 (812) 271-24-41

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

e-mail: spb@xema.ru

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

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

литер А, корп. 8/К, офис 416

e-mail: hemma-test@yandex.ru

ТОВ «Хема», тел.: (044) 422-62-16;

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

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com

