

# Certificate

## Of Marketing Authorization of Medical Product

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

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

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

**Manufacturer:**  
Hersteller

**Xema Co., Ltd.**

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

**Product name:**  
Produkt

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

**Product Classification:**  
Produktklassifizierung

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

**Category:**  
Kategorie

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

**Conformity Module:**  
Konformitätsmodul

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

**Lead Competent Authority:**  
Zuständige Behörde

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

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

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

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

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

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



Polmed.de

**Annex to the Certificate No.:**

Anhang zum Zertifikat Nr.:

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

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

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

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

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

**Annex to the Certificate No.:**

Anhang zum Zertifikat Nr.:

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

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

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

	<b>Nomenclature term Nomenklaturbezeichnung</b>	<b>Catalog No. Katalog-Nr.</b>	<b>Name of device Produktbezeichnung</b>	<b>DIMDI Registration number Registriernummer</b>
26.	ALPHAFETOPROTEIN	K225	AFP EIA Cat. Nr K225	DE/CA37/IVD/13/19
27.	CANCER ANTIGEN 15-3	K226	M12 (CA 15.3 ) EIA Cat. NrK226	DE/CA37/IVD/13/18
28.	OTHER CANCER ANTIGENS	K227 K228	MUC11 M22 EIA Cat. Nr K227; MUC11 M20 EIA Cat. Nr K228	DE/CA37/IVD/13/17
29.	OTHER OTHER TUMOUR MARKERS	K232	Thyroglobulin EIA Cat. Nr K232	DE/CA37/IVD/13/16
30.	β HUMAN CHORIONIC GONADOTROPIN (INCL. SUBUNIT)	K235	Free beta HCG EIA Cat. Nr K235	DE/CA37/IVD/13/15
31.	PREGNANCY ASSOCIATED PLASMA PROTEIN - A (DOWNS)	K238	PAPP-A EIA Cat. Nr K238	DE/CA37/IVD/13/14
32.	OTHER OTHER PLASMA PROTEINS	K240	Alveomucin EIA Cat. Nr K240	DE/CA37/IVD/13/13
33.	C-REACTIVE PROTEIN	K250	CRP EIA Cat. Nr K250	DE/CA37/IVD/13/12
34.	SEX HORMONE BINDING GLOBULIN	K268	SHBG EIA Cat. Nr K268	DE/CA37/IVD/13/11
35.	TROPONIN (T + I)	K291	Troponin I EIA Cat. Nr K291	DE/CA37/IVD/13/10
36.	IMMUNOGLOBULIN G	K271	Total IgG EIA Cat. Nr K271	DE/CA37/IVD/13/9
37.	IMMUNOGLOBULIN G SUBCLASS REAGENTS	K272 K274	IgG2 EIA Cat. Nr K272; IgG4 EIA Cat. Nr K274	DE/CA37/IVD/13/8
38.	IMMUNOGLOBULIN A	K275	Total IgA EIA Cat. Nr K275	DE/CA37/IVD/13/7
39.	IMMUNOGLOBULIN M	K277	Total IgM EIA Cat. Nr K277	DE/CA37/IVD/13/6
40.	RHEUMATOID/AUTOIMMUNE CONTROLS	KQ13 KQ14 KQ15	AutoQon AT immunoassay control set Cat. Nr KQ13; AutoQon ANA/ENA immunoassay control set Cat. Nr KQ14; AutoQon ACL immunoassay control set Cat. Nr KQ15	DE/CA37/IVD/13/5
41.	HORMONE CONTROLS	KQ21	HormoQon immunoassay control set Cat. Nr KQ21	DE/CA37/IVD/13/4
42.	TUMOUR MARKER CONTROLS	KQ22	OmaQon immunoassay control set Cat. Nr KQ22	DE/CA37/IVD/13/3
43.	CYFRA 21-1	K236	CYFRA 21-1 EIA	DE/CA37/IVD/13/45
44.	CANCER ANTIGEN 72-4	K244	CA 72-4 EIA	DE/CA37/IVD/13/46
45.	NEONATAL THYROID STIMULATING HORMONE	K201N	TSH-Neo EIA	DE/CA37/IVD/13/47
46.	ESTRIOL	K218	Free Estriol EIA	DE/CA37/IVD/13/48
47.	IMMUNOGLOBULIN E - MONOTEST/MONORESULT - MULTI AG	K200S	Specific IgE EIA	DE/CA37/IVD/13/49
48.	KAPPA AND LAMBDA CHAIN	K279K K279L	Free kappa Igg light chain EIA, Free lambda Igg light chain EIA	DE/CA37/IVD/13/50
49.	TRYPsin NEONATAL	K242	Neonatal IRT EIA Cat. Nr K242	DE/CA37/IVD/13/51
50.	NEURON SPECIFIC ENOLASE	K234	NSE EIA Cat. Nr K234	DE/CA37/IVD/13/52

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

**Annex to the Certificate No.:**

Anhang zum Zertifikat Nr.:

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

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

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

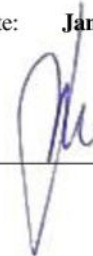
	Nomenclature term Nomenklaturbezeichnung	Catalog No. Katalog-Nr.	Name of device Produktbezeichnung	DIMDI Registration number Registriernummer
50.	NEURON SPECIFIC ENOLASE	K234	NSE EIA Cat. Nr K234	DE/CA37/IVD/13/52
51.	OTHER OTHER TUMOUR MARKERS	K239	HE – 4 EIA Cat. Nr K239	DE/CA37/IVD/13/53
52.	HSV IgG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

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

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



Date: January 01, 2020



Polmed.de

# MANAGEMENT SYSTEM CERTIFICATE

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

Initial certification date:  
14 February 2019

Valid:  
14 February 2019 - 14 February 2022

This is to certify that the management system of

## **XEMA Co, LTD**

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

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

This certificate is valid for the following scope:

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

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



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

*S. Groubine*

**Serguei Groubine**  
Management Representative

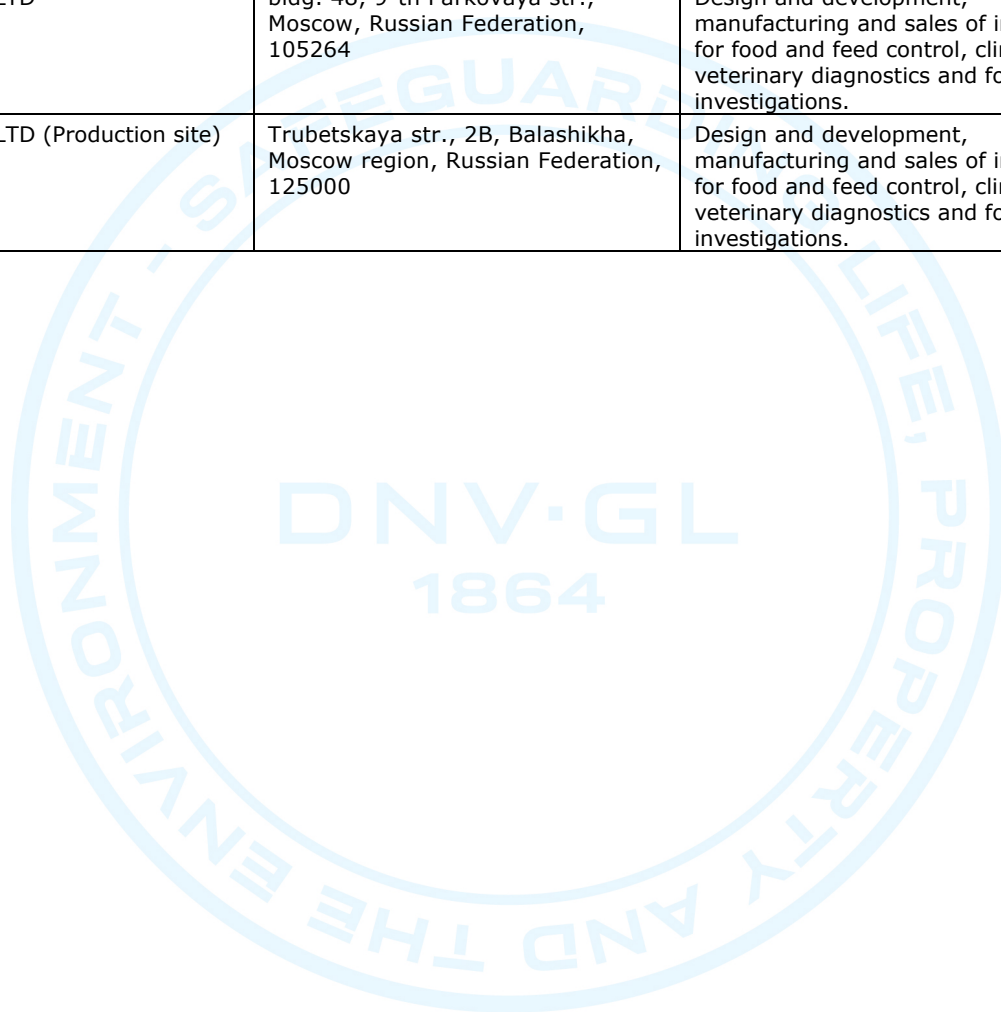
Certificate No: 282710-2019-AQ-MCW-FINAS  
 Place and date: Moscow, 14 February 2019

## Appendix to Certificate

### XEMA Co, LTD

Locations included in the certification are as follows:

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



# MANAGEMENT SYSTEM CERTIFICATE

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

Initial certification date:  
22 May 2009

Valid:  
22 January 2019 - 30 April 2021

This is to certify that the management system of

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

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

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

This certificate is valid for the following scope:

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

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



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

*S. Groubine*

**Serguei Groubine**  
Management Representative

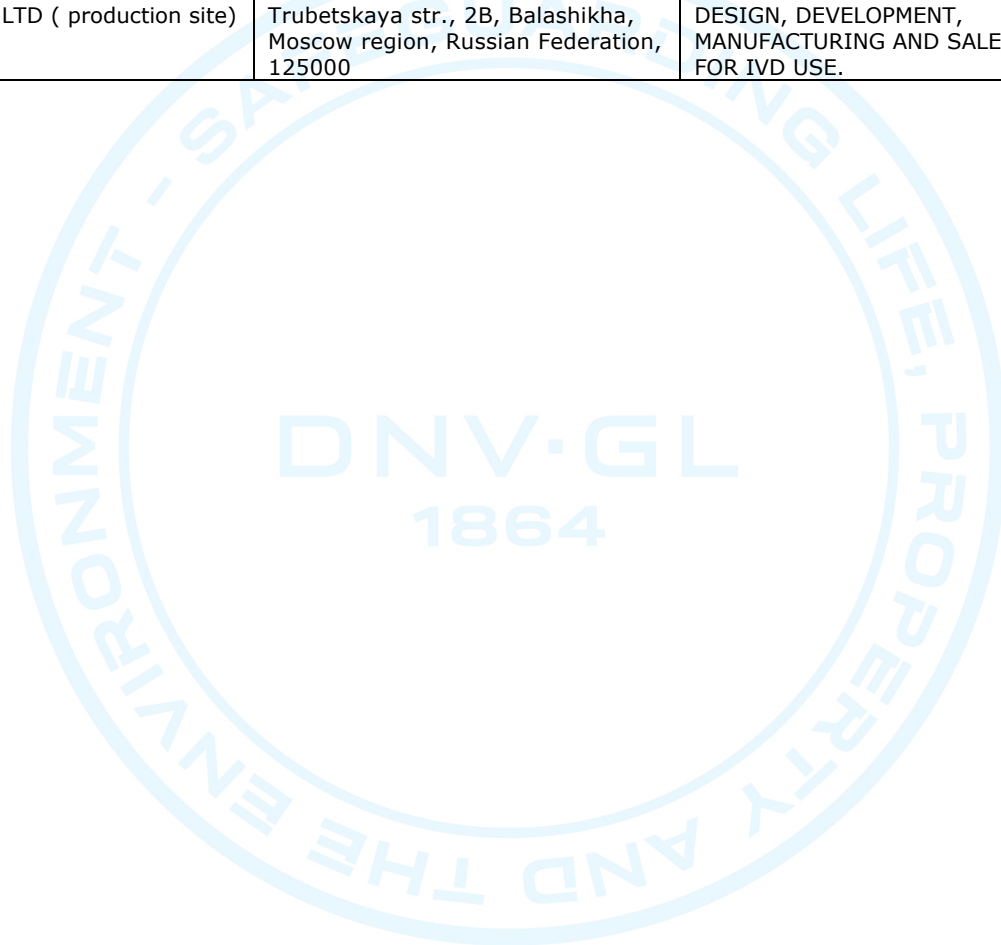
Certificate No: 53899-2009-AQ-MCW-FINAS  
Place and date: Moscow, 22 January 2019

## Appendix to Certificate

### XEMA CO., LTD.

Locations included in the certification are as follows:

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







Instruction for use



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

**«Cytomegalovirus IgG-ИФА»**

**A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY  
FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION  
OF IgG ANTIBODIES TO CYTOMEGALOVIRUS  
IN HUMAN SERUM OR PLASMA**

**Cytomegalovirus IgG EIA**

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ REF **K103**

ТУ № 9398-103-18619450-2009

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ  
№ ФСР 2010/07034 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

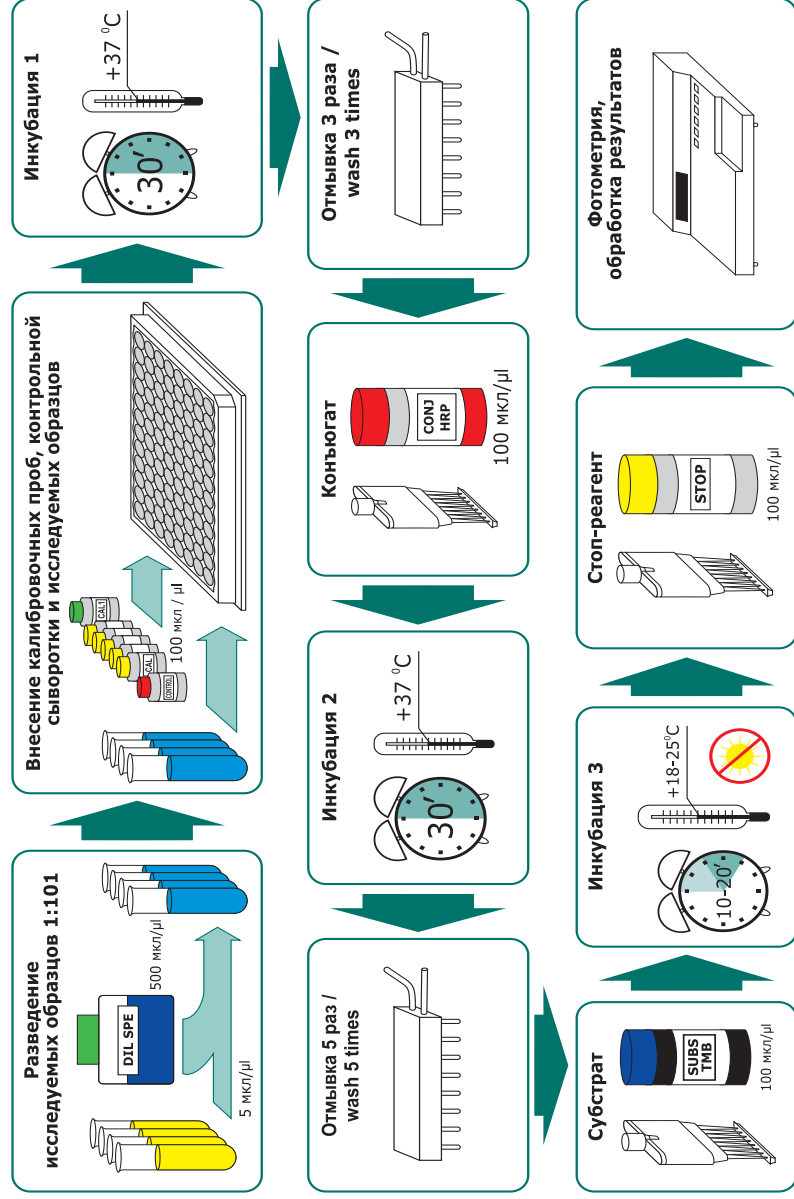
105264 Moscow, Russia

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

e-mail: redkin@xema-medica.com

internet: www.xema-medica.com

# Схема проведения анализа / Test procedure



**K101, K102, K103**

**СОДЕРЖАНИЕ**

1. НАЗНАЧЕНИЕ	2
2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА	3
3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	3
4. СОСТАВ НАБОРА	4
5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	5
6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ	5
7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА	5
8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА	6
9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА	7
10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ	9
11. ЛИТЕРАТУРА	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	16
9. CALCULATION OF RESULTS	16
10. EXPECTED VALUES	16
11. LITERATURE	16

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 ЦЫТОМЕГАЛОВИРУС  
В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ  
«Cytomegalovirus IgG-ИФА»**

**1. НАЗНАЧЕНИЕ**

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

**1.2.** Cytomegalovirus (ЦМВ) относится к семейству герпесвирусов и может вызывать клинически малозначимые острые воспалительные реакции у детей и взрослых. ЦМВ может передаваться через слюну, мочу, стул, сперму, шеечный секрет и молоко, а также проникать через плаценту. Высокая зараженность встречается у детей, посещающих детские сады, школы. Среди населения инфицированность увеличивается с возрастом, в целом от 60 до 90% всех индивидов инфицированы ЦМВ и серопозитивны (т.е. имеют специфические IgG-антитела в сыворотке крови). Данные антитела не защищают от реактивации латентного вируса, но могут служить косвенным показателем активности ЦМВ в организме человека. Инфицирование ЦМВ наиболее опасно в первый триместр беременности. Поэтому ведение беременности у серонегативных женщин требует особых мер (ограничение контактов) и определение статуса иммунитета к ЦМВ (IgG-антител) выполняется для оценки иммунного статуса женщин до и в первые недели беременности. Острая цитомегаловирусная инфекция у серонегативной беременной женщины (не имеющей специфических IgG-антител) может привести к проникновению ЦМВ через плаценту и тяжелым фетальным дефектам (поражения ЦНС и печени). У больных с иммунодефицитами реактивация ЦМВ, часто сопровождающаяся резким ростом титра специфических IgG-антител, может привести к тяжелым и иногда смертельным осложнениям, включающим поражения легких, желудочно-кишечного тракта, ЦНС, почек. Выявление серонегативных индивидов также важно в трансплантологии, так как пересадка органов от серопозитивных доноров серонегативным реципиентам не допускается.

## 2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение IgG антител к антигенам Cytomegalovirus основано на использовании непрямого варианта твердофазного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизован антиген - CMV. Антитела из образца связываются с антигеном на поверхности лунки. 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 Cytomegalovirus.

## 3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

**3.1. Специфичность.** Использование высокоочищенного препарата позволяет достичь высокой специфичности анализа. Для определения количественных характеристик Набора реагентов использован международный стандартный образец, полученный из Института Пауля Эрлиха (Германия), PEI-St.

### **3.2. Воспроизводимость.**

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

### **3.3. Линейность.**

Зависимость концентрации IgG антител к антигенам Cytomegalovirus в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей IgG антитела к антигенам Cytomegalovirus, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 0.5-6 Ед/мл и составляет  $\pm 10.0\%$ .

## 4. СОСТАВ НАБОРА

Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1 P103Z	SORB MTP	<b>Планшет</b> 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2 C103Z	CAL 1-5	<b>Калибровочные пробы</b> на основе трис-буфера (рН 7.2-7.4), содержащие известное количество IgG антител к антигенам <i>Sytopegalovirus</i> - 0; 0.5; 1.5; 3; 6 Ед/мл, готовы к использованию (по 1.5 мл каждая)	5	шт.	прозрачные жидкости синего цвета (калибровочная проба 0 - прозрачная бесцветная жидкость)
3 Q103Z	CONTROL	<b>Контрольная сыворотка</b> на основе сыворотки крови человека с известным содержанием IgG антител к антигенам <i>Sytopegalovirus</i> , готова к использованию (1.5 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
4 T103Z	CONJ HRP	<b>Конъюгат</b> , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость красного цвета
5 S011Z3	DIL SPE	<b>ИФА-Буфер</b> , готов к использованию (50 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость синего цвета
6 R055Z	SUBS TMB	<b>Раствор субстрата тетраметилбензидина</b> (ТМБ), готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
7 S008Z	BUF WASH 26X	<b>Концентрат отмывочного раствора</b> (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26х-кратный (22 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
8 R050Z	STOP	<b>Стоп-реагент</b> , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
9 N003	-	Бумага для заклеивания планшета	2	шт.	-
10 K103I	-	Инструкция по применению Набора реагентов « <i>Sytopegalovirus</i> IgG-ИФА»	1	шт.	-
11 K103Q	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов « <i>Sytopegalovirus</i> 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, противозидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

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

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

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность содержимого лунок планшета при длине волны 450 нм;
- термостат, поддерживающий температуру  $+37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы в диапазоне 5–250 мкл;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- бумага фильтровальная.

## 7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

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

### 7.2. Приготовление планшета.

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

### 7.3. Приготовление отмывочного раствора.

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

## 8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

**8.1.** Набор реагентов «Cytomegalovirus IgG-ИФА» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности, указанного на упаковке Набора. Допускается хранение (транспортировка) Набора при температуре до +25 °С не более 15 суток. Не допускается замораживание целого набора.

**8.2.** Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 42 исследуемых образцов, 5 калибровочных проб и 1 пробы контрольной сыворотки (всего 96 определений).

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

- оставшиеся неиспользованными стрипы необходимо тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- ИФА-Буфер, конъюгат, субстрат, стоп-реагент после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- калибровочные пробы и контрольную сыворотку после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °С не более 2 месяцев;
- оставшийся неиспользованным концентрат отмывочного раствора следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- 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 флякона. 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 Cytomegalovirus в контрольной сыворотке.

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

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



## 9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов – исследуемые образцы в 2 повторах и 12 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки.
2	<b>Разбавьте образцы сыворотки (плазмы) крови в 101 раз, используя ИФА-Буфер (S011Z3).</b> Пример: 5 мкл образца + 500 мкл ИФА-Буфера. Не разбавляйте калибровочные пробы и контрольную сыворотку.
3	<b>При количественном учете результатов: внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 100 мкл каждой калибровочной пробы и контрольной сыворотки. В остальные лунки внесите в дубликатах по 100 мкл разбавленных исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови.</b> Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
4	<b>При качественном учете результатов: внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 100 мкл калибровочных проб CAL1, CAL2 и CAL5. В остальные лунки внесите в дубликатах по 100 мкл разбавленных исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови.</b> Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
5	Аккуратно перемешайте содержимое планшета круговыми движениями по горизонтальной поверхности, заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета. <b>Инкубируйте планшет в течение 30 минут при температуре +37 °С.</b>
6	По окончании инкубации удалите содержимое лунки аспирацией (например, с помощью водоструйного насоса) или декантированием и <b>отмойте лунки 3 раза.</b> При каждой отмывке добавляйте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п. 7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок.
7	<b>Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.</b>
8	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и <b>инкубируйте его в течение 30 минут при температуре +37 °С</b>
9	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и <b>отмойте лунки 5 раз.</b>
10	<b>Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина.</b> Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2–3 мин. <b>Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °С) в течение 10–20 минут</b> в зависимости от степени развития синего окрашивания.
11	<b>Внесите во все лунки</b> с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, <b>по 100 мкл стол-реагента</b> , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.

12	<b>Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре</b> вертикального сканирования <b>при длине волны 450 нм</b> . Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стол-реагента. Бланк фотометра выставляйте по воздуху.
13	<b>При количественном учете результатов: постройте в линейных координатах калибровочный график: ось абсцисс (X) - концентрация IgG антител к антигенам Cytomegalovirus в калибровочных пробах (Ед/мл), ось ординат (Y) - оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм).</b> Для алгоритма обсчета (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод.
14	Определите по калибровочному графику содержание IgG антител к антигенам Cytomegalovirus в исследуемых образцах.
15	<b>При качественном учете результатов:</b> 1. Рассчитайте среднее ОП калибровочной пробы CAL2 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 K, получаемый делением ОП образца на ОПГ. При $K > 1.1$ образец положительный, при $K < 0.9$ - отрицательный. При значении K, 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 мес-3 года и старше 3 лет приведены в таблице ожидаемых значений.

Если значение лежит в интервале от 0.6 Ед/мл (К 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.

Если концентрация в исследуемом образце, превышает значение верхней калибровочной пробы (6.0 Ед\мл), его следует дополнительно развести Буфером для разведения образцов в 10 раз и более. При расчете концентрации необходимо умножить полученный результат на Фактор разведения.

Исследуемая группа	Единицы, Ед/мл		Единицы доп., К	
	Нижний предел	Верхний предел	Нижний предел	Верхний предел
Серонегативные	<0.1	0.5	<0.1	0.9
Серопозитивные старше 3 лет	0.6	2.7	1.1	4.9
Новорожденные*	<0.1	0.9	<0.1	1.7
до 8 месяцев*	<0.1	1.9	<0.1	3.5
8 месяцев – 3 года	<0.1	3.1	<0.1	5.5

\*материнские антитела

## 11. ЛИТЕРАТУРА

1. Ершов Ф. И., Касьянова Н. В. Цитомегаловирусная инфекция (современные данные об эпидемиологии, клинике, диагностике и терапии) // Инфекции и антимикробная терапия. – 2002 – т.4 – №4
2. Revello M. G., Gema G. Diagnosis and management of human cytomegalovirus infection in the mother, fetus and newborn infant // Clin. Microbiol. Rev. – 2002- v.15, no.4 – p.680-715
3. Pass R. F. Cytomegalovirus infection // Pediatrics in Reviews – 2002 – v.23, no.5 – p.25-29
4. Plachter B., Weiczorek L., Scholl B.C. et al. Detection of cytomegalovirus antibodies by an enzyme-linked immunosorbent assay using recombinant polypeptides of large phosphorylated tegument protein pp150 // J. Clin. Microbiol. – 1992 – v.30, no.1 – p.201-206
5. Vomhagen R., Plachter B., Hinderer W. et al. Early serodiagnosis of acute human cytomegalovirus infection by enzyme-linked immunosorbent assay using recombinant antigens // J. Clin. Microbiol. – 1994 – v.32, no.4 – p.981-986

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

105043, г. Москва, а/я 58

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

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

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

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

Руководитель службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА»,

к. б. н. Д. С. Кострикин

*Instruction for use*

## **A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF IGG ANTIBODIES TO CYTOMEGALOVIRUS IN HUMAN SERUM OR PLASMA**

### **1. INTENDED USE**

A solid-phase enzyme immunoassay for the quantitative determination of IgG antibodies to Cytomegalovirus in blood serum or plasma.

This kit is designed for measurement of IgG antibodies to Cytomegalovirus 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**

Cytomegalovirus (CMV) belongs to herpesviruses and often causes clinically asymptomatic or mild infection, mostly in young children. It can be transmitted via stool, saliva, and breast milk. CMV can also be transmitted via the placenta and cause severe fetal malformations. Specific IgG-antibodies to CMV are evaluated in women before or during pregnancy to assess and manage the risk of transplacental fetus involvement.

In immunocompromised hosts, CMV reactivation or primary infection may have serious and even life-threatening consequences. Therefore, the absence of specific IgG-antibodies to CMV (seronegativity) in organ transplant recipients requires the seronegativity of the donor.

Specific IgG-antibodies to CMV do not protect from virus reactivation, and usually raise in titer during reactivation caused by decrease of immune system capacity to control the virus replication.

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

This test is based on indirect enzyme immunoassay principle. Tested specimen is placed into the microwells coated by the antigen. Antibodies from the specimen bind coated antigen on the microwell surface. Unbound material is removed by washing procedure. Second antibodies directed towards species specific Ig, labelled with peroxidase enzyme, are then added into the microwells. After subsequent washing procedure, the remaining enzymatic activity bound to the microwell surface is detected and quantified by addition of chromogen-substrate mixture, stop solution and photometry at 450 nm. Optical density in the microwell is directly related to the quantity of the measured analyte in the specimen.

#### 4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

**4.1.** For professional use only.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## 5.1. Contents of the Kit

## 5. KIT COMPONENTS

Symbol	Description	Qty	Units	Colour code	Stability of opened/diluted components
1	cytomegalovirus IgG EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp. date
2	Calibrator set, 1.5 ml each. The set contains 5 calibrators: 0; 0.5; 1.5; 3; 6 U/ml	5	pcs	blue(C1 - colourless)	2 months
3	Control serum (1.5 ml)	1	pcs	colourless	2 months
4	Conjugate, 14 ml	1	pcs	red	until exp. date
5	EIA buffer, 50 ml	1	pcs	blue	until exp. date
6	Substrate solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp. date
7	Washing solution concentrate 26x, 22 ml	1	pcs	colourless	Concentrate - until exp date Diluted washing solution - 45 days at 2-8 °C or 15 days at RT
8	Stop solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp. date
9	Plate sealing tape	2	pcs		N/A
10	Instruction Cytomegalovirus IgG EIA	1	pcs		N/A
11	QC data sheet Cytomegalovirus IgG EIA	1	pcs		N/A

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

- Distilled or deionized water;
- Automatic or semiautomatic multichannel micropipettes, 100–250 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 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:**



**7.4. Assay procedure**

1	Put the desired number of microstrips into the frame; allocate 12 wells for the calibrators CAL 1 - 5 and control samples CONTROL and two wells for each unknown sample. DO NOT REMOVE ADHESIVE SEALING TAPE FROM UNUSED STRIPS.
2	Dilute 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 sample 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 point-by-point method for data reduction.

**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













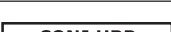


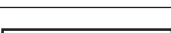
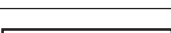
Therapeutical consequences should not be based on results of IVD methods alone – all available clinical and laboratory findings should be used by a physician to elaborate therapeutically measures. Each laboratory should establish its own normal range for CMV IgG. Based on data obtained by XEMA, the following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

Sex, age	Units, U/ml	
	Lower limit	Upper limit
Seronegative	<0.1	0.5
Seropositive > 3 years	0.6	2.7
newborn*	<0.1	0.9
under 8 months*	<0.1	1.9
8 months – 3 years	<0.1	3.1

\*antibodies of maternal origin

## 11. LITERATURE

1. Ershov F. I., Kasjanova N. V. Cytomegalovirus infection (current knowledge about epidemiology, clinical picture, diagnostics and therapy). Ingfektsii i antimicrobnaya terapiya. – 2002 – v.4 – #4.
2. Revello M. G., Gema G. Diagnosis and management of human cytomegalovirus infection in the mother, fetus and newborn infant // Clin. Microbiol. Rev. – 2002- v.15, no.4 – p.680-715
3. Pass R.F. Cytomegalovirus infection // Pediatrics in Reviews – 2002 – v.23, no.5 – p.25-29
4. Plachter B., Weiczorek L., Scholl B. C. et al. Detection of cytomegalovirus antibodies by an enzyme-linked immunosorbent assay using recombinant polypeptides of large phosphorylated tegument protein pp150 // J. Clin. Microbiol. – 1992 – v.30, no.1 – p.201-206
5. Vomhagen R., Plachter B., Hinderer W. et al. Early serodiagnosis of acute human cytomegalovirus infection by enzyme-linked immunosorbent assay using recombinant antigens // J. Clin. Microbiol. – 1994 – v.32, no.4 – p.981-986

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

### Уважаемый Клиент!

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

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

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

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



Russian Diagnostic  
Manufacturers Association



Классический российский  
профессиональный союз клинических  
лабораторных диагностов



RUSSIAN ASSOCIATION  
OF MEDICAL LABORATORY  
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  
АУТОАНТИТЕЛ К ТИРЕОПЕРОКСИДАЗЕ В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ)  
КРОВИ**

**«АТ - ТПО - ИФА»**

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

**aTPO EIA**

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ REF **K131**

ТУ № 9398-131-18619450-2010

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ  
№ ФСР 2009/04489 от 11 июня 2010 года

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



For 96 determinations /На 96 определений



Для *in vitro* диагностики

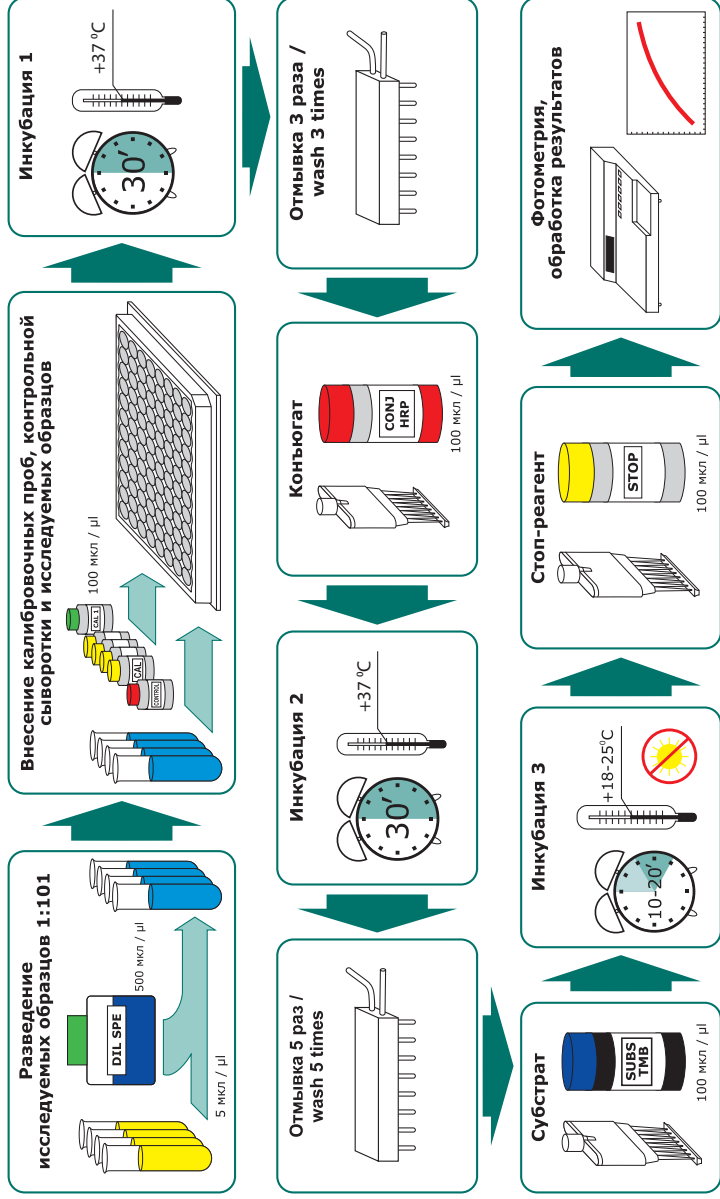


XEMA Co., Ltd.  
The 9th Parkovaya str., 48  
105264 Moscow, Russia  
Telephone/fax: +7(495) 737-39-36; 737-00-40  
e-mail: redkin@xema-medica.com  
internet: www.xema-medica.com



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

## Схема проведения анализа / Test procedure



**K131**

**СОДЕРЖАНИЕ**

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

**CONTENT**

1. INTENDED USE	10
2. SUMMARY AND EXPLANATION	10
3. PRINCIPLE OF THE TEST	10
4. WARNINGS AND PRECAUTIONS	11
5. KIT COMPONENTS	12
6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE	13
7. TEST PROCEDURE	13
8. QUALITY CONTROL	15
9. CALCULATION OF RESULTS	15
10. EXPECTED VALUES	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 АУТОАНТИТЕЛ К ТИРЕОПЕРОКСИДАЗЕ В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «АТ-ТПО-ИФА»**

### **1. НАЗНАЧЕНИЕ**

**1.1.** Набор реагентов «АТ-ТПО-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации аутоантител к тиреопероксидазе в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

**1.2.** Тироидные микросомальные антитела – это циркулирующие иммуноглобулины против компонента гладкого эндоплазматического ретикулума клеток щитовидной железы. Основным компонентом этого микросомального антигена является фермент тиреопероксидаза (ТПО). Эти антитела преимущественно принадлежат к классу IgG. При аутоиммунных заболеваниях щитовидной железы желателно определять одновременно антитела к ТПО и антитела к ТГ. Антитела к ТГ и/или аТПО определяются в высоких концентрациях при болезни Грейвса, тиреоидите Хашимото и его разновидностях: ювенильном лимфоцитарном тиреоидите, хроническом фиброзном варианте тиреоидита, идеопатической микседеме, атрофическом асимптоматическом тиреоидите и синдроме Шмитта. Поскольку у пациентов в зависимости от этапа заболевания может наблюдаться гипо-, гипер- или эутиреоидная стадия, определение данных антител является более точным диагностическим признаком при постановке диагноза аутоиммунного поражения щитовидной железы и определения степени поражения, чем проведение классических гормональных тестов. Постановка данных тестов особенно важна при диагностике следующих состояний:

- клинических проявлениях болезни Грейвса без признаков экзофтальма и увеличения щитовидной железы;
- определение гипотиреоза у подростков.

Определение повышенных значений аТПО у женщин во время первых месяцев беременности является фактором риска тиреоидита в послеродовом периоде. Высокий уровень аТПО может определяться при лечении амиодароном. Это лекарство назначается при сердечной аритмии и содержит 37.2% йода, который достаточно быстро выводится из организма. Известно, что это лекарство вызывает гипотиреоз у 20% пациентов в регионах с пониженным потреблением йода. Было найдено, что у пациентов с гипотиреозом, вызванным приемом этого лекарства, имеются циркулирующие антитела к ТПО. Таким образом, перед назначением лечения у данных пациентов, наряду с определением ТЗ, Т4 и ТТГ, необходимо проводить и этот тест.



## 2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение аутоантител к тиреопероксидазе основано на использовании непрямого варианта твердофазного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизован антиген – ТПО. Антитела из образца связываются с антигеном на поверхности лунки. 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 аутоантител к тиреопероксидазе. Концентрацию аутоантител к тиреопероксидазе в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания аутоантител к тиреопероксидазе в калибровочных пробах.

## 3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

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

**3.2. Воспроизводимость.**

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

**3.3. Линейность.**

Зависимость концентрации АТ-ТПО в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей АТ-ТПО, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 30–1000 МЕ/мл и составляет  $\pm 10.0\%$ .

**3.4. Точность.**

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации АТ-ТПО предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 100 МЕ/мл. Процент «открытия» составляет 90–110%.

**3.5. Чувствительность.**

Минимальная достоверно определяемая Набором «АТ-ТПО-ИФА» концентрация АТ-ТПО в сыворотке (плазме) крови не превышает 2.5 МЕ/мл.

## 4. СОСТАВ НАБОРА

Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1 P131Z	SORB MTP	<b>Планшет</b> 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2 C131Z	CAL 1-5	<b>Калибровочные пробы</b> на основе фосфатного буфера (pH 7.2-7.4), содержащие известные количества аутоантител к тиреопероксидазе – <b>0; 30; 100; 300; 1000 МЕ/мл</b> , готовы к использованию (по 1.1 мл каждая)	5	шт.	прозрачные жидкости красного цвета (калибровочная проба 0 – прозрачная бесцветная жидкость)
3 Q131Z	CONTROL	<b>Контрольная сыворотка</b> на основе сыворотки крови человека с известным содержанием аутоантител к тиреопероксидазе, готова к использованию (1.1 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
4 T131Z	CONJ HRP	<b>Конъюгат</b> , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость красного цвета
5 S011Z3	DIL SPE	<b>ИФА-Буфер</b> , готов к использованию (50 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость синего цвета
6 R055Z	SUBS TMB	<b>Раствор субстрата тетраметилбензидина</b> (ТМБ), готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
7 S008Z	BUF WASH 26X	<b>Концентрат</b> отмывочного раствора (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26x-кратный (22 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
8 R050Z	STOP	<b>Стоп-реагент</b> , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
9 N003	-	Бумага для заклеивания планшета	2	шт.	-
10 K131I	-	Инструкция по применению Набора реагентов «АТ-ТПО-ИФА»	1	шт.	-
11 K131Q	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «АТ-ТПО-ИФА»	1	шт.	-

## 5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

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

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

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

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

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

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность содержимого лунок планшета при длине волны 450 нм;
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы в диапазоне 5–250 мкл;
- термостат, поддерживающий температуру  $+37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- бумага фильтровальная.

## 7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

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

### 7.2. Приготовление планшета.

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

### 7.3. Приготовление отмывочного раствора.

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

## 8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

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

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

**8.2.** Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 42 исследуемых образцов, 5 калибровочных проб и 1 пробы контрольной сыворотки (всего 96 определений).

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

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

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

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

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

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

## 9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов – исследуемые образцы в 2 повторах и 12 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки.
2	<b>Разбавьте образцы сыворотки (плазмы) крови в 101 раз, используя ИФА-Буфер (S011Z3).</b> Пример: 5 мкл образца + 500 мкл ИФА-Буфера. Не разбавляйте калибровочные пробы и контрольную сыворотку.
3	Если предполагаемая концентрация АТ-ТПО в исследуемом образце превышает 1000 МЕ/мл, его следует дополнительно развести, используя ИФА-Буфер (S011Z3). Использование других буферов и реагентов для разбавления образцов может исказить результаты определения! Примечание. Для получения надежных результатов рекомендуется использовать несколько последовательных разведений исследуемого образца сыворотки (плазмы) крови.
4	<b>Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 100 мкл калибровочной пробы и контрольной сыворотки. В остальные лунки внесите в дубликатах по 100 мкл разбавленных исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови.</b> Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
5	Аккуратно перемешайте содержимое планшета круговыми движениями по горизонтальной поверхности, закройте планшет бумагой для заклеивания планшета. <b>Инкубируйте планшет в течение 30 минут при температуре +37 °С.</b>
6	По окончании инкубации удалите содержимое лунок аспирацией (например, с помощью водоструйного насоса) или декантированием и <b>отмойте лунки 3 раза.</b> При каждой отмывке добавляйте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п.7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок.
7	<b>Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.</b>
8	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и <b>инкубируйте его в течение 30 минут при температуре +37 °С.</b>
9	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и <b>отмойте лунки 5 раз.</b>
10	<b>Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина.</b> Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2–3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25°С) в течение 10-20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.
11	<b>Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента,</b> при этом содержащее лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.

Продолжение таблицы на стр. 8

12	<b>Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре</b> вертикального сканирования <b>при длине волны 450 нм</b> . Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реактанта. Бланк фотометра выставьте по калибровочной пробе С1.
13	Постройте в линейных координатах калибровочный график: ось абсцисс (х) – концентрация АТ-ТПО в калибровочных пробах (МЕ/мл), ось ординат (у) – оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма обстега (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод.
14	Определите по калибровочному графику содержание АТ-ТПО в исследуемых образцах. Если исследуемый образец предразводили (см. п. 3), умножьте полученный результат на фактор разведения.
15	<b>Набор «АТ-ТПО-ИФА» может быть использован для скрининга.</b> Для этого необходимо внести в 2 лунки планшета по 100 мкл калибровочной пробы 0 МЕ/мл, в 2 другие лунки – по 100 мкл калибровочной пробы 30 МЕ/мл, в остальные лунки – по 100 мкл разведенных исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови. Сравните значение ОП каждого исследуемого образца сыворотки (плазмы) крови с ОП калибровочной пробы 30 МЕ/мл (ОПК). Если значение ОП исследуемого образца выше, чем величина ОПК (+10,0%), то этот результат следует считать положительным (более 30 МЕ/мл АТ-ТПО). Если значение ОП исследуемого образца ниже, чем величина ОПК (-10,0%), то этот результат следует считать отрицательным. Если значение ОП исследуемого образца находится в пределах $\pm 10,0\%$ , то этот результат следует считать сомнительным.

**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.

**Примечание.** Значения концентраций АТ-ТПО в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (2.5 МЕ/мл), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (1000 МЕ/мл) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация АТ-ТПО ниже 2.5 МЕ/мл или выше 1000 МЕ/мл.

Исследуемая группа	Единицы, МЕ/мл	
	Нижний предел	Верхний предел
Мужчины	-	30
Женщины	-	30
Женщины старше 50 лет	-	50

## 11. ЛИТЕРАТУРА

1. Amino N., Mosi H., Iwatani W., Tanizawa O., Kawashima M., Tsuge I., Ibiragi K., Kumahara Y., Miyai K. – High prevalence of transient postpartum thyrotoxicosis and hypothyroidism. *New Engl.J.Med.*, 1982, 306:84.
2. Bastenie P., Neve P., Bonnyns M., Van Haelts L., Chailly M. – Clinical and pathological significance of atrophic thyroiditis. *Lancet*, 1967, 1:915.
3. Bonnyns M., Van Haelts L., Bastenie P. – Asymptomatic atrophic thyroiditis. *Horm. Res.* 1982, 16:338.
4. Buchanan W., Alexander W., Crooks J., Koutras D., Wayne E., Anderson J.R., Goudie R. – Association of thyrotoxicosis and autoimmune thyroiditis. *Brit.Med. J.*, 1961, 1:843.
5. Czarnocka B., Ruf J., Ferrand M., Carayon P. – Parenté antigénique entre la peroxydase thyroïdienne et l'antigène microsimal impliqué dans les affections auto-immunes de la thyroïde. *C.R. Acad.Sc.Paris*, 1985, t.300, Série II, No. 15:577.
6. Czarnocka B., Ruf J., Ferrand M., Carayon P., Lissitzky S. – Purification of the human thyroid peroxidase and its identification as the microsomal antigen involved in autoimmune thyroid disease. *FEBS*, 1985, 190:147.

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

электронная почта: [info@xema.ru](mailto:info@xema.ru); [rqc@xema.ru](mailto:rqc@xema.ru)  
интернет: [www.xema.ru](http://www.xema.ru); [www.xema-medica.com](http://www.xema-medica.com)

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

## **A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF THYROID MICROSOMAL ANTIBODIES IN HUMAN SERUM OR PLASMA**

### **1. INTENDED USE**

A solid-phase enzyme immunoassay for the quantitative determination of thyroid microsomal antibodies in serum or plasma.

This kit is designed for measurement of thyroid microsomal antibodies 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 42 unknown samples in duplicates.

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

Anti-TPO antibodies (formerly – thyroid microsomal antibodies) are directed against a target protein – thyroid peroxidase (TPO) – located in the smooth endoplasmic reticulum of thyroid cells. The presence of anti-TPO antibodies in serum is associated with thyroid autoimmune diseases (Graves' disease and Hashimoto's thyroiditis). Anti-TPO antibodies mostly belong to the IgG class.

Low to moderate levels of serum anti-TPO antibodies can be found in some other autoimmune pathology (eg systemic lupus erythematosus or Sjogren syndrom) and, rarely, in apparently healthy subjects (especially elderly women). Anti-TPO antibodies are more sensitive in diagnosis of thyroid autoimmune diseases than anti-thyroglobulin (anti-TG) antibodies. However, in some cases anti-TG positive sera may be negative for anti-TPO. Therefore, combined determination of both types of anti-thyroid antibodies (anti-TPO + anti-TG) provides a more sensitive laboratory diagnostic tool for thyroid autoimmunity.

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

This test is based on indirect enzyme immunoassay principle. Tested specimen is placed into the microwells coated by the antigen. Antibodies from the specimen bind coated antigen on the microwell surface. Unbound material is removed by washing procedure. Second antibodies directed towards species specific Ig, labelled with peroxidase enzyme, are then added into the microwells. After subsequent washing procedure, the remaining enzymatic activity bound to the microwell surface is detected and quantified by addition of chromogen-substrate mixture, stop solution and photometry at 450 nm. Optical density in the microwell is directly related to the quantity of the measured analyte in the specimen.



#### 4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

**4.1.** For professional use only.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## 5.1. Contents of the Kit

## 5. KIT COMPONENTS

Symbol	Description	Qty	Units	Colour code	Stability of opened/diluted components
1 SORB MTP	aTPO EIA strips 8x12 wells	1	pcs		until exp.date
2 CAL 1-5	Calibrator set, 1.1 ml each. The set contains 5 calibrators: 0: 30; 100; 300; 1000 IU/ml	5	pcs	red (CI – colourless)	2 months
3 CONTROL	Control serum (1.1 ml)	1	pcs	colourless	2 months
4 CONJ HRP	Conjugate, 14 ml	1	pcs	red	until exp.date
5 DIL SPE	EIA buffer 50 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 K131I	Instruction aTPO EIA	1	pcs		N/A
11 K131Q	QC data sheet aTPO 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;
- Dry thermostat for 37 °C ±0.1 °C;
- Calibrated micropipettes with variable volume, range volume 5–250 µl;
- Calibrated microplate photometer with 450 nm wavelength and OD measuring range 0–3.0.

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

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

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

**6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE**

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

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

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

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

**7.2.** Procedural Note:

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

**7.3.** Assay flowchart

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

**7.4. Assay procedure**

1	Put the desired number of microstrips into the frame; allocate 12 wells for the calibrators CAL 1-5 and control samples CONTROL and two wells for each unknown sample. DO NOT REMOVE ADHESIVE SEALING TAPE FROM UNUSED STRIPS.
2	Dilute 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	If suggested analyte concentration in the sample exceeds the highest calibrator, additionally dilute this sample accordingly, using DIL SPE (EIA buffer). Use of other buffers or reagents for sample dilution may lead to incorrect measurement.
4	Pipet 100 µl of calibrators CAL 1-5, control sample CONTROL and unknown samples into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape (included into the kit).
5	Incubate 30 minutes at +37 °C.
6	Prepare washing solution by 26X dilution of washing solution concentrate BUF WASH 26X by distilled water. Minimal quantity of washing solution should be 250 µl per well. Wash strips 3 times.
7	Dispense 100 µl of CONJ HRP into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape (included into the kit).
8	Incubate 30 minutes at +37 °C.
9	Wash the strips 5 times.
10	Dispense 100 µl of SUBS TMB into the wells.
11	Incubate 10-20 minutes at +18...+25 °C.
12	Dispense 100 µl of STOP into the wells.
13	Measure OD (optical density) at 450 nm.
14	Set photometer blank on first calibrator.
15	Apply point-by-point method for data reduction.

**7.5. Sample processing**

Material type	Notes on material collection, storage and handling	Sample dilution example	Sample into the well, µl	Calculation factor
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

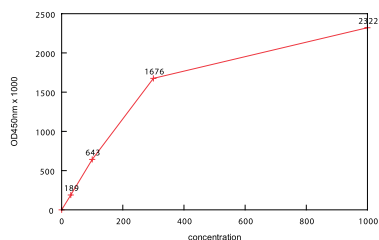
**9.1.** Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

**9.2.** Plot a calibration curve on graph paper: OD versus thyroid microsomal antibodies concentration.

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

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

Calibrators	Value	Absorbance Units (450 nm)
CAL 1	0 IU/ml	0.04
CAL 2	30 IU/ml	0.23
CAL 3	100 IU/ml	0.68
CAL 4	300 IU/ml	1.72
CAL 5	1000 IU/ml	2.36



## 10. EXPECTED VALUES

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

Sex, age	Units, IU/ml	
	Lower limit	Upper limit
Males	-	30
Females	-	30
Females >50 yrs	-	50

## 11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

### 11.1. Analytical sensitivity

Sensitivity of the assay was assessed as being 2.5 IU/ml.

### 11.2. Linearity


















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

### 11.3. Recovery

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

## 12. LITERATURE

1. Amino N., Mosi H., Iwatani W., Tanizawa O., Kawashima M., Tsuge I., Ibiragi K., Kumahara Y., Miyai K. – High prevalence of transient postpartum thyrotoxicosis and hypothyroidism. *New Engl.J.Med.*, 1982, 306:84.
2. Bastenie P., Neve P., Bonnyns M., Van Haelts L., Chailly M. – Clinical and pathological significance of atrophic thyroiditis. *Lancet*, 1967, 1:915.
3. Bonnyns M., Van Haelts L., Bastenie P. – Asymptomatic atrophic thyroiditis. *Horm. Res.* 1982, 16:338.
4. Buchanan W., Alexander W., Crooks J., Koutras D., Wayne E., Anderson J.R., Goudie R. - Association of thyrotoxicosis and autoimmune thyroiditis. *Brit.Med. J.*, 1961, 1:843.
- 5 Czarnocka B., Ruf J., Ferrand M., Carayon P. – Parenté antigénique entre la peroxydase thyroïdienne et l'antigène microsomal impliqué dans les affections auto-immunes de la thyroïde. *C.R. Acad.Sc.Paris*, 1985, t.300, Série II, No. 15:577.
6. Czarnocka B., Ruf J., Ferrand M., Carayon P., Lissitzky S. – Purification of the human thyroid peroxidase and its identification as the microsomal antigen involved in autoimmune thyroid disease. *FEBS*, 1985, 190:147.

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

### Уважаемый Клиент!

Если в процессе работы с нашими Наборами Вам понадобились пластиковые ванночки для жидких реагентов, одноразовые наконечники для дозаторов или дополнительные объемы реагентов (концентрат отмывочного раствора, ИФА-Буфер, раствор субстрата тетраметилбензидаина (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 иммунохимической  
лабораторной диагностики



Russian Association  
of Medical Laboratory  
Diagnosticians



Российская Ассоциация  
Медицинской Лабораторной  
Диагностики

### Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

**8 800 505 23 45**

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

### Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

#### Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

105043, г. Москва, а/я 58

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

тел.: +7 (495) 510-57 07, 737-39-36;

факс: +7 (495) 737-00-40

e-mail: info@xema.ru

www.xema-medica.com

ФООО «Хема», тел.: +7 (812) 271-24-41

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

e-mail: spb@xema.ru

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

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

литер А, корп. 8/К, офис 416

e-mail: hemma-test@yandex.ru

ТОВ «Хема», тел.: (044) 422-62-16;

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

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com







Instruction for use



**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ  
НАБОРА РЕАГЕНТОВ  
ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ  
АУТОАНТИТЕЛ К ТИРЕОГЛОБУЛИНУ В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ  
«АТ-ТГ-ИФА»**

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

**aTG EIA**

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF** **K132**

ТУ № 9398-132-18619450-2010

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ  
№ ФСР 2008/03115 от 11 июня 2010 года

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



For 96 determinations / На 96 определений



Для *in vitro* диагностики



XEMA Co., Ltd.

The 9th Parkovaya str., 48

105264 Moscow, Russia

Telephone/fax: +7(495) 737-39-36; 737-00-40

e-mail: redkin@xema-medica.com

internet: www.xema-medica.com



Authorized Representative in EU:

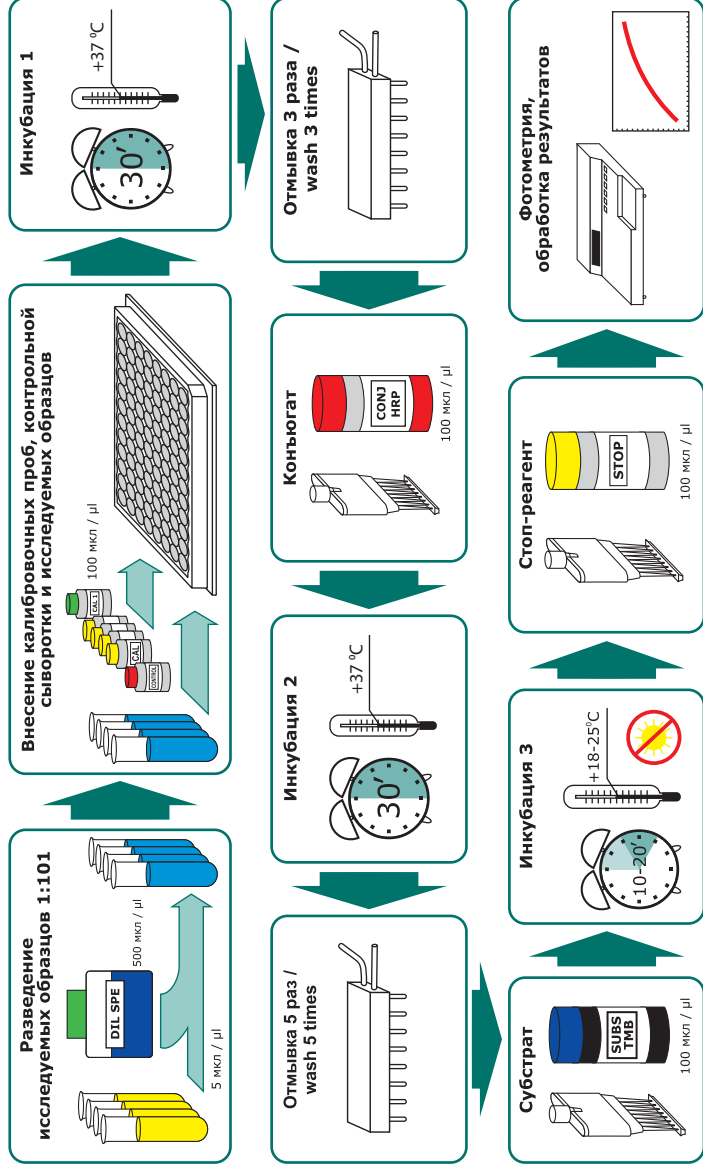
Polmed.de

Steinacker 20, D-73773

Aichwald, Germany

e-mail: info@polmed.de

## Схема проведения анализа / Test procedure



**K131; K132**

**СОДЕРЖАНИЕ**

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

**CONTENT**

1. INTENDED USE	10
2. SUMMARY AND EXPLANATION	10
3. PRINCIPLE OF THE TEST	10
4. WARNINGS AND PRECAUTIONS	11
5. KIT COMPONENTS	12
6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE	13
7. TEST PROCEDURE	13
8. QUALITY CONTROL	15
9. CALCULATION OF RESULTS	15
10. EXPECTED VALUES	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 АУТОАНТИТЕЛ К ТИРЕОГЛОБУЛИНУ В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «АТ-ТГ-ИФА»**

### **1. НАЗНАЧЕНИЕ**

**1.1.** Набор реагентов «АТ-ТГ-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации аутоантител к тиреоглобулину в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

**1.2.** Антитела к тиреоглобулину (АТГ)- это циркулирующие иммуноглобулины против различных эпитопов молекулы тиреоглобулина (ТГ) человека. Присутствие антител к ТГ в сыворотке связано с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы (ЩЖ), в том числе с болезнью Грейвса и тиреоидитом Хашимото, и с дифференцированным раком щитовидной железы. Эти антитела преимущественно принадлежат к классу IgG и являются гетерогенными: из около 40 потенциальных антигенных участков на молекуле ТГ, только 4-6 распознаются антителами, циркулирующими в сыворотке крови при аутоиммунных заболеваниях. При раке щитовидной железы распознаются другие эпитопы. Определение уровня антител к ТГ в сыворотке крови можно использовать как диагностический критерий при определении риска перерождения при дифференцированном раке щитовидной железы. При аутоиммунных заболеваниях ЩЖ АТГ желательнее определять вместе с антителами к тиреопероксидазе («АТ-ТПО-ИФА», набор ООО «ХЕМА», кат.№ K131). АТГ и/или АТПО определяются в высоких концентрациях при болезни Грейвса, тиреоидите Хашимото и его разновидностях: ювенильном лимфоцитарном тиреоидите, хроническом фиброзном варианте тиреоидита, идеопатической миксидеме, атрофическом асимптоматическом тиреоидите и синдроме Шмитта. Поскольку у пациентов в зависимости от этапа заболевания может наблюдаться гипо-, гипер- или эутиреоидная стадия, определение данных антител является более точным диагностическим признаком при постановке диагноза аутоиммунного поражения ЩЖ и определения степени поражения, чем проведение классических гормональных тестов. Постановка данных особенно важна при диагностике следующих состояний:

- при клинических проявлениях болезни Грейвса без признаков экзофтальма и увеличения ЩЖ;
- определение причин гипотиреоза у взрослых с или без изменения размеров ЩЖ;

Достаточно часто встречается увеличение уровня АТГ и АТПО, но нельзя забывать, что появление данных антител не связано между собой, и у одних пациентов может встречаться повышение только уровня АТГ, а у других – только уровня АТПО. Определение уровня АТГ и/или АТПО при определении

эффективности лечения и нормализации функций ЩЖ наиболее результативно совместно с определением уровня ТЗ, Т4 и ТТГ. Однако при лечении тиреозита Хашимото признаком результативности является понижение уровня АТГ (АТПО понижается намного быстрее). При болезни Грейвса титр антител падает после субтотальной тиреоидэктомии или антитиреодной терапии, но слегка увеличивается при использовании йода-131. Низкие концентрации АТГ наблюдаются у здоровых людей, особенно у женщин. Диагностическая и прогностическая значимость данного критерия пока мало изучена.

## 2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение аутоантител к тиреоглобулину основано на использовании непрямого варианта твердофазного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизован антиген – Thyroglobulin. Антитела из образца связываются с антигеном на поверхности лунки. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата мышинных моноклональных антител к IgG человека с пероксидазой хрена. В результате образуется связанный с пластиком «сэндвич», содержащий пероксидазу. Во время инкубации с раствором субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) происходит окрашивание растворов в лунках. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации специфических аутоантител к тиреоглобулину. Концентрацию аутоантител к тиреоглобулину в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания аутоантител к тиреоглобулину в калибровочных пробах.

## 3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

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

### 3.2. Воспроизводимость.

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

### 3.3. Линейность.

Зависимость концентрации АТ-ТГ в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей АТ-ТГ, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 100–3000 МЕ/мл и составляет  $\pm 10.0\%$ .

### 3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации АТ-ТГ предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 300 МЕ/мл. Процент «открытия» составляет 90–110%.

### 3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «АТ-ТГ-ИФА» концентрация АТ-ТГ в сыворотке (плазме) крови не превышает 5.0 МЕ/мл.

## 4. СОСТАВ НАБОРА

Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1	P132Z	SORB MTP <b>Планшет</b> 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2	S132Z	CAL 1-5 <b>Калибровочные пробы</b> на основе фосфатного буфера (pH 7.2-7.4), содержащие известные количества аутоантител к тиреоглобулину – <b>0; 100; 300; 1000; 3000 МЕ/мл</b> , готовы к использованию (по 1.1 мл каждая)	5	шт.	прозрачные жидкости синего цвета (калибровочная проба 0 – прозрачная бесцветная жидкость)
3	Q132Z	CONTROL <b>Контрольная сыворотка</b> на основе сыворотки крови человека с известным содержанием аутоантител к тиреоглобулину, готова к использованию (1.1 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
4	T132Z	CONJ HRP <b>Конъюгат</b> , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость пурпурного цвета
5	S011Z3	DIL SPE <b>ИФА-Буфер</b> , готов к использованию (50 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость синего цвета
6	R055Z	SUBS TMB <b>Раствор субстрата тетраметилбензидина</b> (ТМБ), готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
7	S008Z	BUF WASH 26X <b>Концентрат отмывочного раствора</b> (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26х-кратный (22 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
8	R050Z	STOP <b>Стоп-реагент</b> , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
9	N003	- Бумага для заклеивания планшета	2	шт.	-
10	K132I	- Инструкция по применению Набора реагентов «АТ-ТПО-ИФА»	1	шт.	-
11	K132Q	- Паспорт контроля качества Набора реагентов «АТ-ТПО-ИФА»	1	шт.	-

## 5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

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

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

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

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

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

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность содержимого лунок планшета при длине волны 450 нм;
- 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 °С) не менее 30 мин.

### 7.2. Приготовление планшета.

Вскрыть пакет с планшетом и установить на рамку необходимое количество стрипов. Оставшиеся неиспользованными стрипы, чтобы предотвратить воздействие на них влаги, тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора.

### 7.3. Приготовление отмывочного раствора.

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

## 8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

**8.1.** Набор реагентов «АТ-ТГ-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 42 исследуемых образцов, 5 калибровочных проб и 1 пробы контрольной сыворотки (всего 96 определений).

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

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

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

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

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

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



## 9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов – исследуемые образцы в 2 повторах и 12 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки.
2	<b>Разбавьте образцы сыворотки (плазмы) крови в 101 раз, используя ИФА-Буфер (S011Z3).</b> Пример: 5 мкл образца + 500 мкл ИФА-Буфера. Не разбавляйте калибровочные пробы и контрольную сыворотку.
3	Если предполагаемая концентрация АТ-ПГ в исследуемом образце превышает 3000 МЕ/мл, его следует дополнительно развести, используя ИФА-Буфер (S011Z3). Использование других буферов и реагентов для разбавления образцов может исказить результаты определения! Примечание. Для получения надежных результатов рекомендуется использовать несколько последовательных разведений исследуемого образца сыворотки (плазмы) крови.
4	<b>Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 100 мкл калибровочной пробы и контрольной сыворотки. В остальные лунки внесите в дубликатах по 100 мкл разбавленных исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови.</b> Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
5	Аккуратно перемешайте содержимое планшета круговыми движениями по горизонтальной поверхности, закройте планшет бумагой для заклеивания планшета. <b>Инкубируйте планшет в течение 30 минут при температуре +37 °С.</b>
6	По окончании инкубации удалите содержимое лунок аспирацией (например, с помощью водоструйного насоса) или декантированием и <b>отмойте лунки 3 раза.</b> При каждой отмывке добавляйте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п. 7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок.
7	<b>Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.</b>
8	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и <b>инкубируйте его в течение 30 минут при температуре +37 °С.</b>
9	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и <b>отмойте лунки 5 раз.</b>
10	<b>Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина.</b> Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2–3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °С) в течение 10–20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.
11	<b>Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента,</b> при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.

Продолжение таблицы на стр. 8

12	<b>Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре</b> вертикального сканирования <b>при длине волны 450 нм</b> . Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реактента. Бланк фотометра выставляйте по калибровочной пробе С1.
13	Постройте в линейных координатах калибровочный график: ось абсцисс (X) – концентрация АТ-ТГ в калибровочных пробах (МЕ/мл), ось ординат (Y) – оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма обсчета (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод.
14	Определите по калибровочному графику содержание АТ-ТГ в исследуемых образцах. . Если исследуемый образец предразводили (см. п. 3), умножьте полученный результат на фактор разведения.

**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.

**Примечание.** Значения концентраций АТ-ТГ в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (5.0 МЕ/мл), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (3000 МЕ/мл) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация АТ-ТГ ниже 5.0 МЕ/мл или выше 3000 МЕ/мл.

Исследуемая группа	Единицы, МЕ/мл	
	Нижний предел	Верхний предел
Мужчины	-	100
Женщины	-	100
старше 50 лет	-	150

## 11. ЛИТЕРАТУРА

1. U Feldt-Rasmussen – Analytical and clinical performance goals for testing autoantibodies to thyroperoxidase, thyroglobulin, and thyrotropin receptor. Clin. Chem., Jan 1996; 42: 160 – 163.
2. PW Ladenson – Optimal laboratory testing for diagnosis and monitoring of thyroid nodules, goiter, and thyroid cancer. Clin. Chem., Jan 1996; 42: 183 – 187.
3. Anthony P. Weetman – Graves' Disease. N. Engl. J. Med., Oct 2000; 343: 1236 – 1248.

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

электронная почта: [info@xema.ru](mailto:info@xema.ru); [rqs@xema.ru](mailto:rqs@xema.ru)  
интернет: [www.xema.ru](http://www.xema.ru); [www.xema-medica.com](http://www.xema-medica.com)

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

*Instruction for use*

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

### **1. INTENDED USE**

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

This kit is designed for measurement of autoantibodies to thyroglobulin 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 42 unknown samples in duplicates.

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

Thyroglobulin (TG) is a well known target for autoantibodies occurring in thyroid autoimmunity (Graves' disease and Hashimoto's thyroiditis). Anti-TG antibodies mostly belong to the IgG class. Low to moderate levels of anti-TG antibodies can be found in sera of other autoimmune patients (eg systemic lupus erythematosus or Sjogren syndrome). In some cases anti-TG positive sera may show negativity for other type of anti-thyroid antibodies – anti-TPO. Therefore, combined determination of both types of anti-thyroid antibodies (anti-TPO + anti-TG) provides most sensitive laboratory diagnostic tool for thyroid autoimmunity. Separately from autoimmunity, anti-TG antibodies may develop in patients suffering from thyroid cancer. High level of anti-TG in such patients may interfere with correct determination of serum thyroglobulin which serves as tumour marker for therapy control in this group of patients.

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

This test is based on indirect enzyme immunoassay principle. Tested specimen is placed into the microwells coated by the antigen. Antibodies from the specimen bind coated antigen on the microwell surface. Unbound material is removed by washing procedure. Second antibodies directed towards species specific Ig, labelled with peroxidase enzyme, are then added into the microwells. After subsequent washing procedure, the remaining enzymatic activity bound to the microwell surface is detected and quantified by addition of chromogen-substrate mixture, stop solution and photometry at 450 nm. Optical density in the microwell is directly related to the quantity of the measured analyte in the specimen.

#### 4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

**4.1.** For professional use only.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## 5.1. Contents of the Kit

## 5. KIT COMPONENTS

Symbol	Description	Qty	Units	Colour code	Stability of opened/diluted components
1 SORB MTP	aTG EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp.date
2 CAL 1-5	Calibrator set, 1.1 ml each. The set contains 5 callibrators: 0; 100; 300; 1000; 3000 IU/ml	5	pcs	blue (C1 – colourless)	2 months
3 CONTROL	Control serum (1.1 ml)	1	pcs	colourless	2 months
4 CONJ HRP	Conjugate, 14 ml	1	pcs	purple	until exp.date
5 DIL SPE	EIA buffer 50 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 K132I	Instruction aTG EIA	1	pcs		N/A
11 K132Q	QC data sheet aTG 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.

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

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

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

**6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE**

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

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

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

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

**7.2.** Procedural Note:

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

**7.3.** Assay flowchart

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

#### 7.4. Assay procedure

1	Put the desired number of microstrips into the frame; allocate 12 wells for the calibrators CAL 1-5 and control samples CONTROL and two wells for each unknown sample. DO NOT REMOVE ADHESIVE SEALING TAPE FROM UNUSED STRIPS.
2	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	If suggested analyte concentration in the sample exceeds the highest calibrator, additionally dilute this sample accordingly, using DIL SPE (EIA buffer). Use of other buffers or reagents for sample dilution may lead to incorrect measurement.
4	Pipet 100 µl of calibrators CAL 1-5, control sample CONTROL and unknown samples into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape (included into the kit).
5	Incubate 30 minutes at +37 °C.
6	Prepare washing solution by 26X dilution of washing solution concentrate BUF WASH 26X by distilled water. Minimal quantity of washing solution should be 250 µl per well. Wash strips 3 times.
7	Dispense 100 µl of CONJ HRP into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape.
8	Incubate 30 minutes at +37 °C.
9	Wash the strips 5 times.
10	Dispense 100 µl of SUBS TMB into the wells.
11	Incubate 10-20 minutes at +18...+25 °C.
12	Dispense 100 µl of STOP into the wells.
13	Measure OD (optical density) at 450 nm.
14	Set photometer blank on first calibrator.
15	Apply point-by-point method for data reduction.

#### 7.5. Sample processing

Material type	Notes on material collection, storage and handling	Sample dilution example	Sample into the well, µl	Calculation factor
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

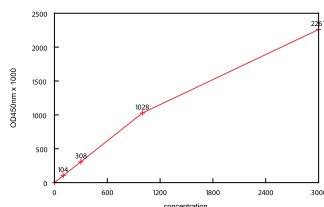
**9.1.** Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

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

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

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

Calibrators	Value	Absorbance Units (450 nm)
CAL 1	0 IU/ml	0.04
CAL 2	100 IU/ml	0.15
CAL 3	300 IU/ml	0.35
CAL 4	1000 IU/ml	1.07
CAL 5	3000 IU/ml	2.30



## 10. EXPECTED VALUES

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

Sex, age	Units, IU/ml	
	Lower limit	Upper limit
Males	-	100
Females	-	100
>50 yrs	-	150

**11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS****11.1. Analytical sensitivity**

Sensitivity of the assay was assessed as being 5.0 IU/ml.

**11.2. Linearity**


















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

**11.3. Recovery**

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

**12. LITERATURE**

1. U Feldt-Rasmussen – Analytical and clinical performance goals for testing autoantibodies to thyroperoxidase, thyroglobulin, and thyrotropin receptor. Clin. Chem., Jan 1996; 42: 160 – 163.
2. PW Ladenson – Optimal laboratory testing for diagnosis and monitoring of thyroid nodules, goiter, and thyroid cancer. Clin. Chem., Jan 1996; 42: 183 – 187.
3. Anthony P. Weetman – Graves' Disease. N. Engl. J. Med., Oct 2000; 343: 1236 – 1248.

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

### Уважаемый Клиент!

Если в процессе работы с нашими Наборами Вам понадобились пластиковые ванночки для жидких реагентов, одноразовые наконечники для дозаторов или дополнительные объемы реагентов (концентрат отмывочного раствора, ИФА-Буфер, раствор субстрата тетраметилбензидаина (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 иммунохимической  
лабораторной диагностики



Russian Association  
of Medical Laboratory  
Diagnosticians



Российская ассоциация  
медицинской лабораторной  
диагностики

### Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

**8 800 505 23 45**

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

### Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

#### Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

105043, г. Москва, а/я 58

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

тел.: +7 (495) 510-57 07, 737-39-36;

факс: +7 (495) 737-00-40

e-mail: info@xema.ru

www.xema-medica.com

ФООО «Хема», тел.: +7 (812) 271-24-41

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

e-mail: spb@xema.ru

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

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

литер А, корп. 8/К, офис 416

e-mail: hemma-test@yandex.ru

ТОВ «Хема», тел.: (044) 422-62-16;

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

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com





Instruction for use



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

**«ТТГ-ИФА»**

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

**TSH EIA**

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ REF **K201**

ТУ № 9398-201-18619450-2010

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

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



For 96 determinations/На 96 определений



Для *ин vitro* диагностики



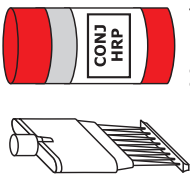
XEMA Co., Ltd.  
The 9th Parkovaya str., 48  
105264 Moscow, Russia  
Telephone/fax: +7(495) 737-39-36; 737-00-40  
e-mail: redkin@xema-medica.com  
internet: www.xema-medica.com



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

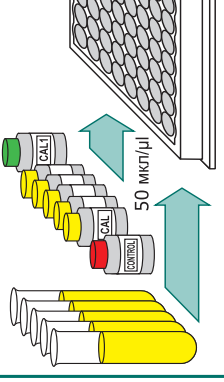
# Схема проведения анализа / Test procedure

**Конъюгат**



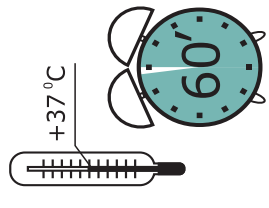
100 мкл/μl

Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов



50 мкл/μl

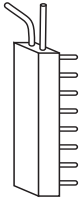
**Инкубация 1**



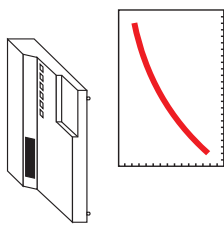
+37 °C

60'

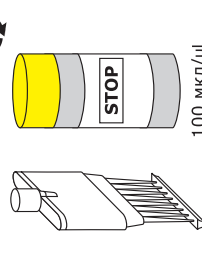
Отмывка 5 раз / wash 5 times



**Фотометрия, обработка результатов**

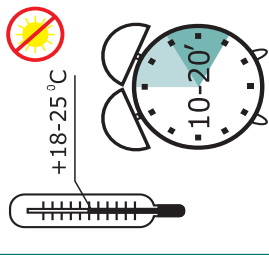


**Стоп-реагент**



100 мкл/μl

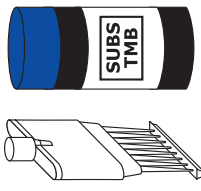
**Инкубация 2**



+18-25 °C

10-20'

**Субстрат**



100 мкл/μl

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

**СОДЕРЖАНИЕ**

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

**CONTENT**

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

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

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

### **1. НАЗНАЧЕНИЕ**

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

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

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

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



## 2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

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

## 3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

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

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

### 3.2. Воспроизводимость.

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

### 3.3. Линейность.

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

### 3.4. Точность.

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

### 3.5. Чувствительность.

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

## 4. СОСТАВ НАБОРА

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

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

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

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

## 5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

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

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

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

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

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

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность содержимого лунок планшета при длине волны 450 нм;
- термостат, поддерживающий температуру +37 °С ±3 °С;
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы в диапазоне 25–250 мкл;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- бумага фильтровальная.

## 7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

**7.1.** Перед проведением анализа компоненты Набора и исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови следует выдержать при комнатной температуре (+18...+25 °С) не менее 30 мин.

### 7.2. Приготовление планшета.

Вскрыть пакет с планшетом и установить на рамку необходимое количество стрипов. Оставшиеся неиспользованными стрипы, чтобы предотвратить воздействие на них влаги, тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора.

### 7.3. Приготовление отмывочного раствора.

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

## 8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

**8.1.** Набор реагентов «ТТГ-ИФА» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности, указанного на упаковке Набора. Допускается хранение (транспортировка) Набора при температуре до +25 °С не более 15 суток. Не допускается замораживание целого набора. **Допускается однократное замораживание (-20 °С) калибровочных проб и контрольной сыворотки в аликвотах.**

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## 9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов – исследуемые образцы в 2 повторах и 14 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки.
2	Если предполагаемая концентрация ТТГ в исследуемом образце превышает 20 мМЕ/л, его следует дополнительно развести, используя калибровочную пробу 0. Использование других буферов и реагентов для разбавления образцов может искажать результаты определения! Примечание. Для получения надежных результатов рекомендуется использовать несколько последовательных разведений исследуемого образца сыворотки (плазмы) крови.
3	<b>Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.</b>
4	<b>Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 50 мкл калибровочной пробы и контрольной сыворотки. В остальные лунки внесите в дубликатах по 50 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови.</b> Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
5	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и <b>инкубируйте его в течение 60 минут при температуре +37 °С.</b>
6	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и <b>отмойте лунки 5 раз.</b> При каждой отмывке добавьте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п. 7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок постукиванием планшета в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.
7	<b>Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидаина.</b> Внесение раствора субстрата тетраметилбензидаина в лунки необходимо произвести в течение 2–3 минут. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °С) в течение 10–20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.
8	<b>Внесите во все лунки</b> с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидаина, <b>по 100 мкл стоп-реагента</b> , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
9	<b>Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре</b> вертикального сканирования <b>при длине волны 450 нм.</b> Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра выставляйте по калибровочной пробе С1.
10	Постройте в линейных координатах калибровочный график: ось абсцисс (х) – концентрация ТТГ в калибровочных пробах (мМЕ/л), ось ординат (у) – оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма подсчета (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод.
11	Определите по калибровочному графику содержание ТТГ в исследуемых образцах. Если исследуемый образец предразводили (см. п.2), умножьте полученный результат на фактор разведения.

## 10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ

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

**Примечание.** Значения концентраций ТТГ в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0.04 мМЕ/л), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (20.0 мМЕ/л) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация ТТГ ниже 0.04 мМЕ/л или выше 20.0 мМЕ/л.

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

## 11. ЛИТЕРАТУРА

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

*Instruction for use*

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

### **1. INTENDED USE**

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

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

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

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

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

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

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

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

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

### 3. PRINCIPLE OF THE TEST

This test is based on two-site sandwich enzyme immunoassay principle. Tested specimen is placed into the microwells coated by specific murine monoclonal to  $\beta$  chain human TSH-antibodies. Antigen from the specimen is captured by the antibodies coated onto the microwell surface. Second antibodies – murine monoclonal to (Fab2)-fragment of  $\beta$  chain human TSH, labelled with peroxidase enzyme, are then added into the microwells. After washing procedure, the remaining enzymatic activity bound to the microwell surface is detected and quantified by addition of chromogen-substrate mixture, stop solution and photometry at 450 nm. Optical density in the microwell is directly related to the quantity of the measured analyte in the specimen.

### 4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

**4.1.** For professional use only.

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

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

**4.4.** Avoid contact with stop solution containing 5.0%  $H_2SO_4$ . It may cause skin irritation and burns.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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



## 5.1. Contents of the Kit

## 5. KIT COMPONENTS

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

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

- Distilled or deionized water;
- Automatic or semiautomatic multichannel micropipettes, 100–250 µl, is useful but not essential;
- Calibrated micropipettes with variable volume, range volume 25–250 µl;
- Dry thermostat for 37 °C ±3 °C;
- Calibrated microplate photometer with 450 nm wavelength and OD measuring range 0–3.0.

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

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

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

**6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE**

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

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

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

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

**7.2. Procedural Note:**

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

**7.3. Assay flowchart**

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

#### 7.4. Assay procedure

1	Put the desired number of microstrips into the frame; allocate 14 wells for the calibrators CAL 1-6 and control samples CONTROL and two wells for each unknown sample. DO NOT REMOVE ADHESIVE SEALING TAPE FROM UNUSED STRIPS.
2	If suggested analyte concentration in the sample exceeds the highest calibrator, additionally dilute this sample accordingly, using (zero calibrator). Use of other buffers or reagents for sample dilution may lead to incorrect measurement.
3	Dispense 100 µl of CONJ HRP into the wells.
4	Pipet 50 µl of calibrators CAL 1-6, control samples CONTROL and unknown samples into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape (included into the kit).
5	Incubate 60 minutes at 37 °C.
6	Prepare washing solution by 26X dilution of washing solution concentrate (BUF WASH 26X) by distilled water. Wash the strips 5 times.
7	Dispense 100 µl of SUBS TMB into the wells.
8	Incubate 10-20 minutes at +18...+25 °C.
9	Dispense 100 µl of STOP into the wells.
10	Measure OD (optical density) at 450 nm.
11	Set photometer blank on first calibrator.
12	Apply point-by-point method for data reduction.

#### 7.5. Handling notes

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

## 8. QUALITY CONTROL

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

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

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

## 9. CALCULATION OF RESULTS

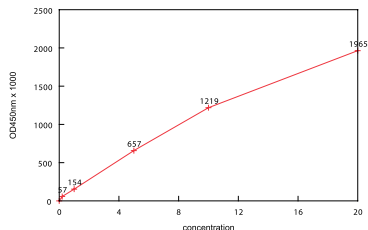
**9.1.** Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

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

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

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

Calibrators	Value	Absorbance Units (450 nm)
CAL 1	0 mIU/l	0.08
CAL 2	0.2 mIU/l	0.13
CAL 3	1 mIU/l	0.23
CAL 4	5 mIU/l	0.73
CAL 5	10 mIU/l	1.30
CAL 6	20 mIU/l	2.04



## 10. EXPECTED VALUES

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

Sex, age	Units, mIU/l	
	Lower limit	Upper limit
Healthy donors	0.3	4.0

## 11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

### 11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

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

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

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

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

## 12. LITERATURE

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

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

#### ИНСТРУКЦИЯ

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

#### «ТТГ-ИФА»

##### 1. НАЗНАЧЕНИЕ.

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

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

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

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

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

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

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

##### 1.3. Диагностическая значимость определения.

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

1.4. Область применения – клиническая лабораторная диагностика.

#### 2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

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

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

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

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

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

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

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

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

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

3.6. Клиническая проверка. Нормальные значения.

Исследуемая группа	Нижний предел	Верхний предел
Здоровые доноры	0.3	4.0

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

#### 4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

4.2. Меры предосторожности-соблюдение «Правил устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

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

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность раствора в лунках при длине волны 450 нм;
- термостат, поддерживающий температуру  $+37 \pm 0.1$  °С;
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости в диапазоне 5.0-250 мкл;
- цилиндр мерный вместимостью 500 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- бумага фильтровальная.

## 6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА.

6.1. Перед проведением анализа компоненты Набора и исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови следует выдерживать при комнатной температуре (+18-25 °С) не менее 30 мин.

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

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

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

### 6.5. Приготовление планшета.

Вскрыть пакет с планшетом и установить на рамку необходимое количество стрипов. Вскрытые стрипы следует использовать в течение 1 ч, длительному хранению не подлежат. Оставшиеся неиспользованными стрипы, чтобы предотвратить воздействие на них влаги, необходимо тщательно заклеить липкой лентой для заклеивания планшета и хранить в упаковке при температуре +2-8 °С в течение всего срока годности Набора.

### 6.6. Приготовление отмывочного раствора.

Содержимое флакона с концентратом отмывочного раствора перенести в мерный цилиндр вместимостью 500 мл, добавить 440 мл дистиллированной воды и тщательно перемешать.

В случае дробного использования Набора следует отобрать необходимое количество концентрата отмывочного раствора и развести дистиллированной водой в 21 раз (1 объем концентрата + 20 объемов дистиллированной воды).

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

## 7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

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

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

7.2. Внести во все лунки по 100 мкл конъюгата.

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

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

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

7.5. По окончании инкубации удалить содержимое лунок аспирацией (например, с помощью водоструйного насоса) или декантированием и промыть лунки планшета 5 раз путем добавления во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора. Перемешать содержимое планшета круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок постукиванием планшета в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.

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

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

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

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

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

## 8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

8.1. Измерить величину оптической плотности (ОП) в лунках планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм. Измерение ОП растворов в лунках планшета необходимо производить в течение времени не более 15 мин после внесения стоп-реагента.

## 9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

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



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

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

#### 10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

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

Допускается хранение (транспортировка) Набора при температуре до +25 °С не более 5 сут.

10.2. Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 41 неизвестного образца, 6 калибровочных проб и 1 пробы контрольной сыворотки - всего 96 определений при использовании всего комплекта стрипов.

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

- вскрытые стрипы следует использовать в течение 1 ч, длительному хранению не подлежат;

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


















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

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

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

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

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

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

### Уважаемый Клиент!

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

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

### Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

**8 800 505 23 45**

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

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

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

#### Вопросы сотрудничества на рынках РФ:

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

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

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

#### Отдел клиентского сервиса:

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



Russian Diagnostic  
Manufacturers Association



Ассоциация российских  
производителей оборудования  
лабораторий диагностики



RUSSIAN ASSOCIATION  
OF MEDICAL LABORATORY  
TECHNOLOGISTS



РОССИЙСКАЯ АССОЦИАЦИЯ  
МЕДИЦИНСКИХ ЛАБОРАТОРИЙ



xemahelp



xemahelp@gmail.com





Instruction for use

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

**«ТЗ-ИФА»**



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

**T3 EIA**

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF** K211

ТУ № 9398-211-18619450-2010

№ ФСТ 2010/07150 от 17 марта 2010 года



**For 96 determinations/На 96 определений**



**Для ин витро диагностики**

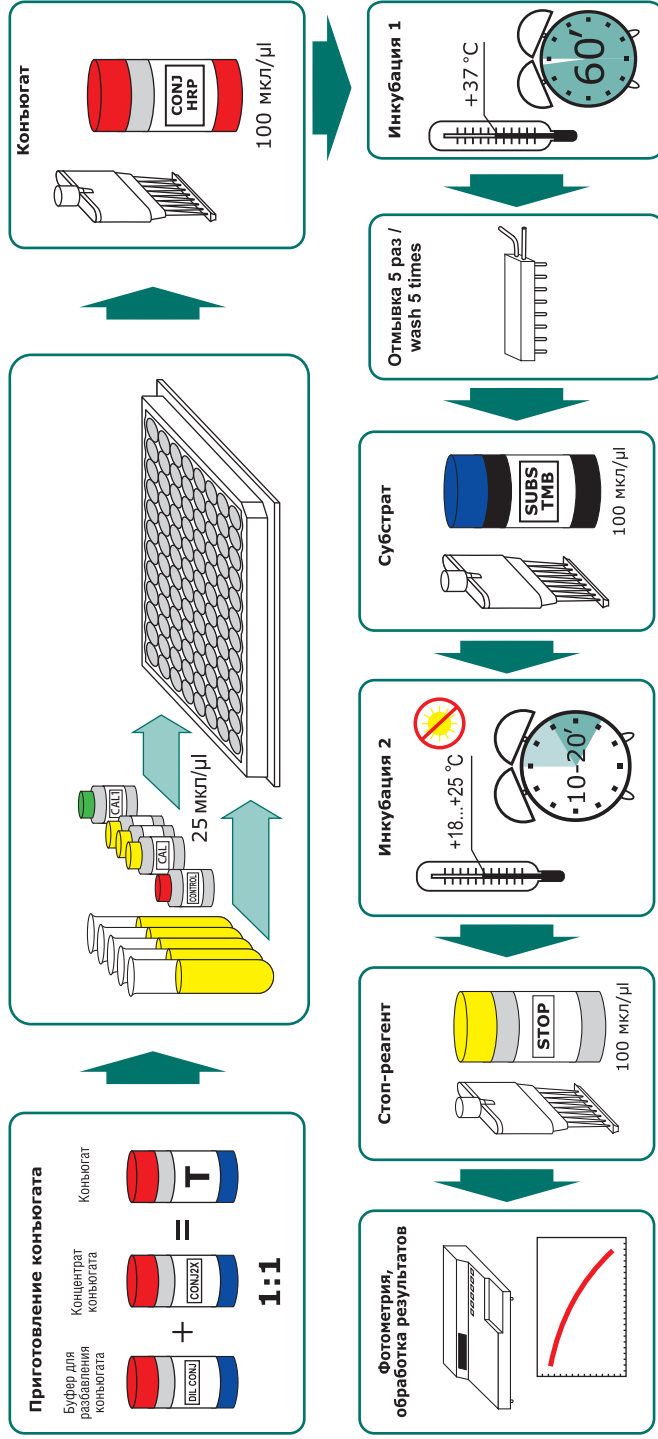


**XEMA Co., Ltd.**  
The 9th Parkovaya, 48  
105264 Moscow, Russia  
Telephone/fax +7(495) 737-39-36; 737-00-40  
e-mail: redkin@xema.ru  
Internet: www.xema-medica.com



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

## Схема проведения анализа / Test procedure



DIL CONJ 25 100 60 100R

«УТВЕРЖДАЮ»  
 Руководитель Департамента государственного  
 контроля лекарственных средств и медицинской техники Минздрава РФ  
 В.Е. Акимочкин  
 09 июля 2002 г.

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

### **1. НАЗНАЧЕНИЕ**

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

**1.2.** Трийодтиронин (ТЗ)- гормон с молекулярной массой 651 дальтон, 58% которого составляет йод. Тироксин (Т4) и 3,5,3'-трийодтиронин (Т3) - гормоны, вырабатываемые щитовидной железой и циркулирующие в крови как в свободной, так и в связанной форме – в основном, с тироксинсвязывающим глобулином (ТСГ). Гормональной активностью обладают только свободные ТЗ и Т4, однако их доля очень мала: 0.03% от общего содержания для Т4 и 0.3% - для ТЗ. Концентрация ТЗ ниже, чем Т4, однако его метаболическая активность примерно в 3 раза выше. Около 80% сывороточного ТЗ образуется за счет дейодирования Т4 в периферических тканях, и только небольшое его количество образуется прямым синтезом в щитовидной железе. Поэтому при гипотиреозе уровень ТЗ может длительное время находиться на нижнем пределе нормы, так как его потеря может компенсироваться повышенным превращением Т4 в ТЗ. Показаниями к определению общего ТЗ служит начальная стадия гиперфункции щитовидной железы; дифференциальная диагностика гипертиреоза; рецидив гипертиреоза; острый гипертиреоз после лечения L-тироксина. Количественное определение общего ТЗ особенно информативно при ТЗ-тиреотоксикозе, т.к. у 5-10% больных уровень Т4 существенно не изменяется, а концентрация ТЗ резко увеличивается. При гипотиреозе диагностическая ценность определения ТЗ невелика, т.к. часто при клинических признаках гипотиреоза показатели ТЗ остаются в норме. Повышение уровня ТЗ наблюдается при ранней недостаточности функции щитовидной железы, приеме эстрогенов, пероральных контрацептивов, героина, метадона, эндемическом зобе. Во время беременности уровень ТЗ возрастает в несколько раз, а затем нормализуется после родов в течение нескольких дней. Снижение уровня ТЗ отмечается при гипофункции щитовидной железы, остром и подостром тиреоидите, после приема андрогенов, дексаметазона, салицилатов, производных кумарина.

### **2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА**

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

### **3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ**

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

Аналит	Перекрестная реакция, %
L-ТЗ	100
D-ТЗ	100
L-тироксин	0.01
D-тироксин	0.04

**3.2. Воспроизводимость.**

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

### 3.3. Линейность.

Зависимость концентрации ТЗ в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей ТЗ, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 0.75-15 нмоль/л и составляет  $\pm 10.0\%$ .

### 3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации ТЗ 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 «ТЗ-ИФА» концентрация ТЗ в сыворотке (плазме) крови не превышает 0.2 нмоль/л.

## 4. СОСТАВ НАБОРА

	Код компонента	Символ	Наименование	Количество	Ед.	Описание
1	P211Z	SORB MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт	-
2	C211Z	CAL 1 - 5	Калибровочные пробы на основе трис-буфера (рН 7.2-7.4), содержащие известные количества трийодтиронина - 0; 0.75; 1.5; 7.5; 15 нмоль/л, готовы к использованию (по 0.8 мл каждая)	5	шт	прозрачные жидкости синего цвета (калибровочная проба 0 - прозрачная бесцветная жидкость)
3	Q211Z	CONTROL	Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием трийодтиронина, готова к использованию (0.8 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
4	T211XZ	CONJ 2X	Концентрат конъюгата (7 мл)	1	шт	прозрачная жидкость синего цвета
5	ST211Z	DIL CONJ	Буфер для разведения концентрата конъюгата, готов к использованию (7 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	K211I	-	Инструкция по применению Набора реагентов «ТЗ-ИФА»	1	шт	-
11	K211Q	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «ТЗ-ИФА»	1	шт	-

## 5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

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

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

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

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

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

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

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

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность содержимого лунок планшета при длине волны 450 нм;
- термостат, поддерживающий температуру  $+37\pm 2$  °С;
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы в диапазоне 25-250 мкл;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- бумага фильтровальная.

## **7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА**

**7.1.** Перед проведением анализа компоненты Набора и исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови следует выдержать при комнатной температуре ( $+18...+25$  °С) не менее 30 мин.

### **7.2. Приготовление планшета.**

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

### **7.3. Приготовление отмывочного раствора.**

Содержимое флакона с концентратом отмывочного раствора (22 мл), перенести в мерный цилиндр вместимостью 1000 мл, добавить 550 мл дистиллированной воды и тщательно перемешать.

В случае дробного использования Набора следует отобрать необходимое количество концентрата отмывочного раствора и развести дистиллированной водой в 26 раз (1 мл концентрата отмывочного раствора + 25 мл дистиллированной воды).

### **7.4. Приготовление конъюгата.**

Приготовьте конъюгат: для этого разбавьте концентрат конъюгата в 2 раза буфером для разведения концентрата конъюгата. **ВНИМАНИЕ!** Разбавленный раствор конъюгата не хранится! Разбавляйте только ту часть концентрата конъюгата, которая необходима для данной постановки!

Пример: на 1 стрип (8 лунок) потребуется 900 мкл конъюгата: 450 мкл концентрата конъюгата + 450 мкл буфера для разведения концентрата конъюгата.

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

**8.1.** Набор реагентов «ТЗ-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 42 исследуемых образцов, 5 калибровочных проб и 1 пробы контрольной сыворотки (всего 96 определений).

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

- оставшиеся неиспользованными стрипы необходимо тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре  $+2...+8$  °С в течение всего срока годности Набора.
- все остальные компоненты Набора после вскрытия флаконов следует хранить при температуре  $+2...+8$  °С в течение всего срока годности Набора.
- 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.** 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 ТЗ в контрольной сыворотке.

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

## 9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов - исследуемые образцы в 2 повторах и 12 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки.
2	Приготовьте конъюгат: для этого разбавьте концентрат конъюгата в 2 раза буфером для разведения концентрата конъюгата. <b>ВНИМАНИЕ!</b> Разбавленный раствор конъюгата не хранится! Разбавляйте только ту часть концентрата конъюгата, которая необходима для данной постановки! Пример: на 1 стрип (8 лунок) потребуется 900 мкл конъюгата: 450 мкл концентрата конъюгата + 450 мкл буфера для разведения концентрата конъюгата
3	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.
4	Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.
5	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте его в течение 60 минут при температуре +37 °С.
6	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз. При каждой отмывке добавьте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п.7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок постукиванием планшета в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.
7	Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина. Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2-3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °С) в течение 10-20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.
8	Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента, при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
9	Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм. Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра выставляйте по воздуху.
10	Постройте в полулогарифмических координатах калибровочный график: ось абсцисс (x) - десятичный логарифм концентрации ТЗ 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.
11	Определите по калибровочному графику содержание ТЗ 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 ТЗ в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0.2 нмоль/л), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (15 нмоль/л) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация ТЗ ниже 0.2 нмоль/л или выше 15 нмоль/л.

В Наборе «ТЗ-ИФА» значения концентраций калибровочных проб выражены в нмоль/л. Для пересчета концентраций в нг/мл, полученное значение концентрации в нмоль/л следует умножить на 0.65. 1 нмоль/л = 0.65 нг/мл.

Исследуемая группа	Единицы нмоль/л		Единицы доп. нг/мл	
	Нижний предел	Верхний предел	Нижний предел	Верхний предел
здоровые доноры	1.2	3.2	0.8	2.1

1. Physiology of thyroid hormones. IN: Division of Drugs and Toxicology, American Medical Association: Drug Evaluations Annual 1995. Amer Med Assn, Chicago, 1995, ch 47, pp 1039-1040.

2. Robins J & Rall JE. The Iodine -Containing Hormones. IN Hormones in Blood (2nd ed) 1: 383-490, Gray CH & Bacharach AL (eds) London Academic Press, 1987

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

электронная почта: [info@xema.ru](mailto:info@xema.ru)

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

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

*Instruction for use.*

## **A solid-phase enzyme immunoassay for the quantitative determination of triiodothyronine in human blood serum or plasma**

### **1. INTENDED USE**

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

This kit is designed for measurement of triiodothyronine in blood serum or plasma. For possibility of use with other sample types, please, refer to Application Notes (on request). The kit contains reagents sufficient for 96 determinations and allows to analyze 42 unknown samples in duplicates.

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

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

The concentration of T3 is much less than that of T4 but its metabolic activity is about 3 times greater. About 80% of T3 is produced in peripheral tissues by deiodination of T4, and only 20% is secreted by thyroid gland. That is why in hypothyroid patients T3 level may for a long time remain on the lower limit of the normal range, because its loss may be compensated by enhanced conversion of T4 into T3.

Determination of T3 level is most useful in T3-hyperthyroidism because 5-10% of such patients do not show significant changes in T4 level while concentration of T3 is highly elevated.

Elevated T3 levels are seen in early thyroid hypofunction, after intake of estrogens, oral contraceptives, heroin, methadone, during pregnancy.

Decreased concentrations of T3 are found in initial stage of hyperthyroidism, acute and subacute thyroiditis, after intake of androgens, dexamethasone, salicylates. Decreased concentrations of T3 are found in initial stage of hyperthyroidism, acute and subacute thyroiditis, after intake of androgens, dexamethasone, salicylates.

### **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 T3-antibodies simultaneously with conjugated T3-peroxidase. T3 from the specimen competes with the conjugated T3 for coating antibodies. After washing procedure, the remaining enzymatic activity bound to the microwell surface is detected and quantified by addition of chromogen-substrate mixture, stop solution and photometry at 450 nm. Optical density in the microwell is inversely related to the quantity of the measured analyte in the specimen.

### **4. WARNINGS AND PRECAUTIONS**

**4.1.** For professional use only.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## 5. KIT COMPONENTS

### 5.1. Contents of the Kit

	Symbol	Description		Qty	Units	Colour code	Stability of opened/ diluted components
1	SORB MTP	T3 EIA strips, 8x12 wells	polystyrene microwells coated with rabbit polyclonal to T3	1	pcs		until exp.date
2	CAL 1 - 5	Calibrator set, 0.8 ml each. The set contains 5 calibrators: 0; 0.75; 1.5; 7.5; 15 nmol/l	human triiodothyronine diluted in tris buffered preservative – 0.01% Bronidox L, 0.01% 2-Methyl-4-isothiazolin-3-one-hydrochloride; also contains blue dye	5	pcs	blue (C1 - colourless)	until exp.date
3	CONTROL	Control serum (0.8 ml)	dilution of preselected human serum, with high content of triiodothyronine with preservative – 0.01% Bronidox L, 0.01% 2-Methyl-4-isothiazolin-3-one-hydrochloride, colourless	1	pcs	colourless	until exp.date
4	CONJ 2X	Conjugate concentrate, 7 ml	Aqueous solution of T3 coupled with horseradish peroxidase diluted on phosphate buffered saline with casein from bovine milk and detergent (Tween-20), contains 0.1% phenol as preservative and blue dye	1	pcs	blue	Concentrate - until exp.date Diluted - 1 day at 2-8 °C
5	DIL CONJ	Conjugate dilution buffer, 7 ml	Aqueous Tris-buffered BSA solution, preservative – 0.01% Bronidox L, 0.01% 2-Methyl-4-isothiazolin-3-one-hydrochloride; contains blue dye	1	pcs	blue	until exp.date
6	SUBS TMB	Substrate solution, 14 ml	ready-to-use single-component tetramethylbenzidine (TMB) solution.	1	pcs	colourless	until exp.date
7	BUF WASH 26X	Washing solution concentrate 26x, 22 ml	aqueous solution of sodium chloride and detergent (Tween 20), contains proClin300 as a preservative	1	pcs	colourless	Concentrate - until exp.date Diluted washing solution - 45 days at 2-8 °C or 15 days at RT
8	STOP	Stop solution, 14 ml	5.0% vol/vol solution of sulphuric acid	1	pcs	colourless	until exp.date
9	N003	Plate sealing tape	-	2	pcs	-	N/A
10	K211I	Instruction T3 EIA	-	1	pcs	-	N/A
11	K211Q	QC data sheet T3 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 ±2 °C;
- Calibrated microplate photometer with 450 nm wavelength and OD measuring range 0-3.0.

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

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

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

**6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE.**

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 nmol/l = 0.65 ng/ml

**7.5. Assay procedure**

1	Put the desired number of microstrips into the frame; allocate 12 wells for the calibrators CAL 1 - 5 and control samples CONTROL and two wells for each unknown sample. DO NOT REMOVE ADHESIVE SEALING TAPE FROM UNUSED STRIPS.
2	Prepare working conjugate solution by dilution of conjugate concentrate 2 fold by conjugate dilution buffer. ATTENTION: working conjugate solution is unstable and should not be stored! Prepare the volume required for actual assay run.
3	Pipet 25 µl of calibrators CAL 1 - 5, control samples CONTROL and unknown samples into the wells.
4	Dispense 100 µl of working conjugate solution into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape (included into the kit).
5	Incubate 60 minutes at 37 °C.
6	Prepare washing solution by 26x dilution of washing solution concentrate (BUF WASH 26X) by distilled water. Wash the strips 5 times.
7	Dispense 100 µl of SUBS TMB into the wells.
8	Incubate 10-20 minutes at 18...+25 °C.
9	Dispense 100 µl of STOP into the wells.
10	Measure OD (optical density) at 450 nm.
11	Set photometer blank on air
12	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 triiodothyronine concentration.

**9.3.** Determine the corresponding concentration of triiodothyronine 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	2552
CAL 2	0.75 nmol/l	2003
CAL 3	1.5 nmol/l	1614
CAL 4	7.5 nmol/l	714
CAL 5	15 nmol/l	398

## 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 T3. 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
Healthy donors	1.2	3.2	0.8	2.1

## 11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

### 11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

Analyte	Cross-reactivity, % wt/wt
L-T3	100
D-T3	100
L-Thyroxin	0.01
D-Thyroxin	0.04

### 11.2. Analytical sensitivity

Sensitivity of the assay was assessed as being 0.2 nmol/l.

### 11.3. Linearity

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

### 11.4. Recovery

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

## 12. LITERATURE

1. Physiology of thyroid hormones. IN: Division of Drugs and Toxicology, American Medical Association: Drug Evaluations Annual 1995. Amer Med Assn, Chicago, 1995, ch 47, pp 1039-1040.

2. Robins J & Rall JE. The Iodine -Containing Hormones. IN Hormones in Blood (2nd ed) 1: 383-490, Gray CH & Bacharach AL (eds) London Academic Press, 1987

## Контактная информация

Головной офис в Российской Федерации,

г. Москва

ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции: 105043, г. Москва, а/я 58

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

+7 985 888-77-00, +7 495 510-57-07

8 800 505-23-45

sale@xema.ru

www.xema-medica.com

## Вопросы сотрудничества на рынках РФ:

Кострикин Дмитрий Сергеевич, кбн

+7 915 280-02-98

dmitry@xema.ru

dmitry.kostrikin@gmail.com

## Вопросы международного сотрудничества

(страны ближнего и дальнего зарубежья):

Редькин Андрей Павлович, кмн

+7 903 723-19-81

redkin@xema.ru

## Отдел клиентского сервиса:

Горбачев Игорь Александрович

8 800 505 23 45

+7 985 221 08 85

client@xema.ru

igogorbache@gmail.com

+7 985 221 08 85

## Северо-западный федеральный округ, г. Санкт-Петербург

ФООО «ХЕМА»

191144, г. Санкт-Петербург,

Дегтярный пер., д. 8-10, литер «А»

+7 812 271-24-41

+7 812 271-78-70

spb@xema.ru

## Беларусь, г. Минск

СООО «Хемма-Тест»

Эксклюзивный представитель в регионе

(наборы для медицинской и ветеринарной диагностики)

220029, г. Минск, пр-т Машерова,

д. 11, литер «А», корп. 8/К., оф. 416

Лаборатория: 220086, г. Минск,

ул. Славинского, д. 1, корп. 2, к. 106

Директор: Пронин Вячеслав Сергеевич

+375 17 284-29-85

hemma-test@yandex.ru



Russian Diagnostic  
Manufacturers Association



Ассоциация производителей  
диагностических средств стран  
независимых государств



Russian Association  
of Medical Laboratories



Ассоциация лабораторий  
медицинской диагностики  
стран СНГ

Instruction for use



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

**«Т4-ИФА»**

***A solid-phase enzyme immunoassay for the quantitative determination  
of thyroxin in human serum or plasma***

**T4 EIA**

**НОМЕР ПО КАТАЛОГУ REF K212**

ТУ № 9398-212-18619450-2010

№ ФСТ 2010/07149 от 17 марта 2010 г.



**For 96 determinations/На 96 определений**

**IVD Для ин витро диагностики**



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



Authorized Representative in EU:

Polmed.de

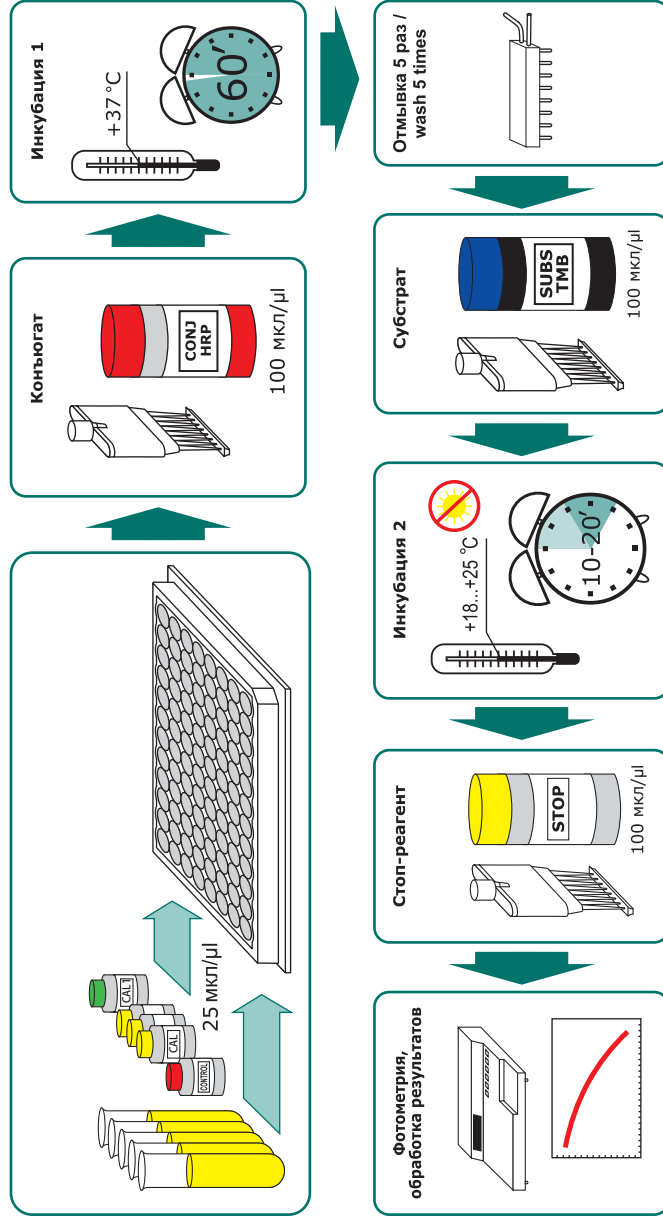
Steinacker 20, D-73773

Aichwald, Germany

e-mail: info@polmed.de



### Схема проведения анализа / Test procedure



25 100/60/100R

## **ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТИРОКСИНА В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «Т4-ИФА»**

### **1. НАЗНАЧЕНИЕ**

**1.1.** Набор реагентов «Т4-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации тироксина в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

**1.2.** Тироксин (Т4) и 3,5,3'трийодтиронин (Т3) - гормоны, вырабатываемые щитовидной железой и циркулирующие в крови как в свободной, так и в связанной форме – в основном, с тироксинсвязывающим глобулином (ТСГ). Гормональной активностью обладают только свободные Т3 и Т4, однако их доля очень мала: 0.03% от общего содержания для Т4 и 0.3% - для Т3. Концентрация Т4 в сыворотке крови – наиболее общепринятый показатель функции щитовидной железы, позволяющий довольно четко разграничивать гипер-, гипо- и эутиреоз. Повышение содержания общего Т4 наблюдается при гипертиреозе, при опухолях гипофиза, при состояниях с повышенным уровнем ТСГ (беременность, острый или хронический активный гепатит, эстрогенсекретирующие опухоли или прием эстрогенов, генетически обусловленное повышение), при приеме оральных контрацептивов, героина, метадона, тиреоидных препаратов, ТТГ, тиреолиберина. Снижение содержания общего Т4 наблюдается при гипотиреозе, пангипопитуитаризме, состояниях с пониженным уровнем ТСГ (акромегалия, нефротический синдром, гипопропротеинемия, хронические заболевания печени, андрогенсекретирующие опухоли или прием андрогенов, генетически обусловленное снижение), гемолизе, физической нагрузке, при приеме аминосалициловой и ацетилсалициловой кислот, глюкокортикоидов, сульфаниламидов, холестирамина, резерпина, йодида калия, трийодтиронина.

### **2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА**

Определение тироксина основано на использовании конкурентного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы мышиные моноклональные антитела к Т4. Во время инкубации тироксин из образца конкурирует с конъюгированным Т4 за связывание с антителами на поверхности лунки. В результате образуется связанный с пластиком «сэндвич», содержащий пероксидазу. Во время инкубации с раствором субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) происходит окрашивание растворов в лунках. Интенсивность окраски обратно пропорциональна концентрации тироксина в исследуемом образце. Концентрацию тироксина в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания тироксина в калибровочных пробах.

### **3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ**

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

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

#### **3.2. Воспроизводимость.**

Коэффициент вариации результатов определения содержания Т4 в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «Т4-ИФА» не превышает 8.0%.

#### **3.3. Линейность.**

Зависимость концентрации Т4 в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей Т4, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 32-320 нмоль/л и составляет  $\pm 10.0\%$ .

#### **3.4. Точность.**

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации Т4 предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 64 нмоль/л. Процент «открытия» составляет 90-110%.

#### **3.5. Чувствительность.**

Минимальная достоверно определяемая Набором «Т4-ИФА» концентрация Т4 в сыворотке (плазме) крови не превышает 3 нмоль/л.

#### 4. СОСТАВ НАБОРА

	Код компонента	Символ	Наименование	Количество	Ед.	Описание
1	P212Z	SORB MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт	-
2	C212Z	CAL 1 - 5	Калибровочные пробы на основе сыворотки крови человека, содержащие известные количества тироксина - 0; 32; 64; 160; 320 нмоль/л, готовы к использованию (по 0.8 мл каждая)	5	шт	прозрачные жидкости красного цвета (калибровочная проба 0 - прозрачная бесцветная жидкость)
3	Q212Z	CONTROL	Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием тироксина, готова к использованию (0.8 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
4	T212Z	CONJ HRP	Конъюгат, готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная жидкость красного цвета
5	R055Z	SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
6	S008Z	BUF WASH 26X	Концентрат отмывочного раствора (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26x-кратный (22 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
7	R050Z	STOP	Стоп-реагент, готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
8	N003	-	Бумага для заклеивания планшета	2	шт	-
9	K212I	-	Инструкция по применению Набора реагентов «Т4-ИФА»	1	шт	-
10	K212Q	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «Т4-ИФА»	1	шт	-

#### 5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

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

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

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

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

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

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

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

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность содержимого лунок планшета при длине волны 450 нм;
- термостат, поддерживающий температуру  $+37\pm 2$  °С;
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы в диапазоне 25-250 мкл;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- бумага фильтровальная.

## **7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА**

**7.1.** Перед проведением анализа компоненты Набора и исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови следует выдержать при комнатной температуре ( $+18...+25$  °С) не менее 30 мин.

### **7.2. Приготовление планшета.**

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

### **7.3. Приготовление отмывочного раствора.**

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 «Т4-ИФА» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре  $+2...+8$  °С в течение всего срока годности, указанного на упаковке Набора.

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

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

**8.2.** Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 42 исследуемых образцов, 5 калибровочных проб и 1 пробы контрольной сыворотки (всего 96 определений).

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

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

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

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

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

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

**8.6.** При использовании Набора для проведения нескольких независимых серий анализов следует иметь в виду, что для каждого независимого определения необходимо построение нового калибровочного графика; кроме этого, рекомендуется определение концентрации Т4 в контрольной сыворотке.

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

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

## 9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов - исследуемые образцы в 2 повторах и 12 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки.
2	Внесите 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 (x) - десятичный логарифм концентрации Т4 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 Т4 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 Т4 в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (3.0 нмоль/л), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (320 нмоль/л) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация Т4 ниже 3.0 нмоль/л или выше 320 нмоль/л. В Наборе «Т4-ИФА» значения концентраций калибровочных проб выражены в нмоль/л. Для пересчета концентраций в мкг/дл, полученное значение концентрации в нмоль/л следует умножить на 0.0775.

$$1 \text{ нмоль/л} = 0.0775 \text{ мкг/дл}$$

Исследуемая группа	Единицы нмоль/л		Единицы доп. мкг/дл	
	Нижний предел	Верхний предел	Нижний предел	Верхний предел
здоровые доноры	60	160	4.7	12.4
Мужчины				
старше 61 года	60	129	4.7	10.0
Женщины				
старше 61 года	70	135	5.4	10.5
Дети				
1-5 лет	90	190	7.0	14.7
6-10 лет	83	170	6.4	13.2
>10 лет	60	160	4.7	12.4

1. Helfand M et al. Screening for thyroid disease. Ann Intern Med 1990; 112:840.
2. Chopra, I.J. et al. A Radioimmunoassay of Thyroxine. J. Clinical Endocrinol 1971; 33:865.
3. Young, D.S. et al. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. Clinical Chemistry 1975; 21: 3660.
4. Sterling, L. Diagnosis and Treatment of Thyroid Disease, Cleveland , CRC Press, P. 19 51 (1975).
5. Surks M.I. et al. American Thyroid Association guidelines for use of laboratory tests in thyroid disorders. JAMA 1990; 263:1529.

По вопросам, касающимся качества Набора **«Т4-ИФА»**,  
следует обращаться в ООО «ХЕМА» по адресу:  
105043, г. Москва, а/я 58  
105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1-й под., 5 этаж,  
тел/факс (495) 737-39-36, 737-00-40, 510-57-07 (многоканальный)

электронная почта: [info@xema.ru](mailto:info@xema.ru)

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

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

*Instruction for use.*

## **A solid-phase enzyme immunoassay for the quantitative determination of thyroxin in human serum or plasma**

### **1. INTENDED USE**

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

This kit is designed for measurement of thyroxin in blood serum or plasma. For possibility of use with other sample types, please, refer to Application Notes (on request). The kit contains reagents sufficient for 96 determinations and allows to analyze 42 unknown samples in duplicates.

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

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

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

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

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

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

This test is based on competition enzyme immunoassay principle. Tested specimen is placed into the microwells coated by specific murine monoclonal to T4-antibodies simultaneously with conjugated T4-peroxidase. T4 from the specimen competes with the conjugated T4 for coating antibodies. After washing procedure, the remaining enzymatic activity bound to the microwell surface is detected and quantified by addition of chromogen-substrate mixture, stop solution and photometry at 450 nm. Optical density in the microwell is inversely related to the quantity of the measured analyte in the specimen.

### **4. WARNINGS AND PRECAUTIONS**

**4.1.** For professional use only.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## 5. KIT COMPONENTS

### 5.1. Contents of the Kit

	Symbol	Description		Qty	Units	Colour code	Stability of opened/diluted components
1	SORB MTP	T4 EIA strips, 8x12 wells	polystyrene microwells coated with murine monoclonal to T4	1	pcs		until exp.date
2	CAL 1 - 5	Calibrator set, 0.8 ml each. The set contains 5 calibrators: 0; 32; 64; 160; 320 nmol/l	human thyroxin diluted in a preselected human serum preservative - 0.01% Bronidox L, 0.01% 2-Methyl-4-isothiazolin-3-one-hydrochloride; also contains red dye	5	pcs	red (C1 - colourless)	2 months
3	CONTROL	Control serum (0.8 ml)	dilution of preselected human serum, with high content of thyroxin with preservative - 0.01% Bronidox L, 0.01% 2-Methyl-4-isothiazolin-3-one-hydrochloride, colourless	1	pcs	colourless	2 months
4	CONJ HRP	Conjugate, 14 ml	aqueous solution of T4 coupled with horseradish peroxidase diluted on phosphate buffered solution preservative - 0.01% Bronidox L, 0.01% 2-Methyl-4-isothiazolin-3-one-hydrochloride and red dye	1	pcs	red	until exp.date
5	SUBS TMB	Substrate solution, 14 ml	ready-to-use single-component tetramethylbenzidine (TMB) solution.	1	pcs	colourless	until exp.date
6	BUF WASH 26X	Washing solution concentrate 26x, 22 ml	aqueous solution of sodium chloride and detergent (Tween 20), contains proClin300 as a preservative	1	pcs	colourless	Concentrate - until exp.date Diluted washing solution - 45 days at 2-8 °C or 15 days at RT
7	STOP	Stop solution, 14 ml	5,0% vol/vol solution of sulphuric acid	1	pcs	colourless	until exp.date
8	N003	Plate sealing tape	-	2	pcs	-	N/A
9	K212I	Instruction T4 EIA	-	1	pcs	-	N/A
10	K212Q	QC data sheet T4 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 ±2 °C;
- Calibrated microplate photometer with 450 nm wavelength and OD measuring range 0-3.0.

### 5.3. Storage and stability of the Kit

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

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



**6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE.**

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

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

**7. TEST PROCEDURE**

**7.1. Reagent Preparation**

- All reagents (including unsealed microstrips) should be allowed to reach room temperature (+18 to +25 °C) before use.

- All reagents should be mixed by gentle inversion or vortexing prior to use. Avoid foam formation.
- It is recommended to spin down shortly the tubes with calibrators on low speed centrifuge.
- Prepare washing solution from the concentrate BUF WASH 26X by 26 dilutions in distilled water.

**7.2. Procedural Note:**

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

**7.3. Assay flowchart**

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

**7.4. Assay procedure**

1	Put the desired number of microstrips into the frame; allocate 12 wells for the calibrators CAL 1 - 5 and control samples CONTROL and two wells for each unknown sample. DO NOT REMOVE ADHESIVE SEALING TAPE FROM UNUSED STRIPS.
2	Pipet 25 µl of calibrators CAL 1 - 5, 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.

**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 thyroxin concentration.

**9.3.** Determine the corresponding concentration of thyroxin in unknown samples from the calibration curve.

Manual or computerized data reduction is applicable on this stage. Point-by-point or linear data reduction is recommended due to non-linear shape of curve.

**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	3020
CAL 2	32 nmol/l	2196
CAL 3	64 nmol/l	1060
CAL 4	160 nmol/l	435
CAL 5	320 nmol/l	205

## 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 T4. 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.

$$1 \text{ nmol/l} = 0.0775 \text{ ug/dl}$$

Sex, age	Units		Units alternative	
	nmol/l		µg/dl	
	Lower limit	Upper limit	Lower limit	Upper limit
Healthy donors	60	160	4.7	12.4
Males				
>61 yrs	60	129	4.7	10.0
Females				
>61yrs	70	135	5.4	10.5
Children				
1-5 yrs	90	190	7.0	14.7
6-10 yrs	83	170	6.4	13.2
>10 yrs	60	160	4.7	12.4

## 11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

### 11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

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

### 11.2. Analytical sensitivity

Sensitivity of the assay was assessed as being 3 nmol/l.

### 11.3. Linearity

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

### 11.4. Recovery

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

## 12. **LITERATURE**

1. Helfand M et al. Screening for thyroid disease. *Ann Intern Med* 1990; 112:840.
2. Chopra, I.J. et al. A Radioimmunoassay of Thyroxine. *J. Clinical Endocrinol* 1971; 33:865.
3. Young, D.S. et al. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. *Clinical Chemistry* 1975; 21: 3660.
4. Sterling, L. *Diagnosis and Treatment of Thyroid Disease*, Cleveland , CRC Press, P. 19 51 (1975).
5. Surks M.I. et al. American Thyroid Association guidelines for use of laboratory tests in thyroid disorders. *JAMA* 1990; 263:1529.

## Контактная информация

Головной офис в Российской Федерации,

г. Москва

ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции: 105043, г. Москва, а/я 58

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

+7 985 888-77-00, +7 495 510-57-07

8 800 505-23-45

sale@xema.ru

www.xema-medica.com

### Вопросы сотрудничества на рынках РФ:

Кострикин Дмитрий Сергеевич, кбн

+7 915 280-02-98

dmitry@xema.ru

dmitry.kostrikin@gmail.com

dmitry kostrikin

### Вопросы международного сотрудничества

(страны ближнего и дальнего зарубежья):

Редькин Андрей Павлович, кмн

+7 903 723-19-81

redkin@xema.ru

### Отдел клиентского сервиса:

Горбачев Игорь Александрович

8 800 505 23 45

+7 985 221 08 85

client@xema.ru

igogorbache@gmail.com

xemahelp1

+7 985 221 08 85

### Северо-западный федеральный округ, г. Санкт-Петербург

ФООО «ХЕМА»

191144, г. Санкт-Петербург,

Дегтярный пер., д. 8-10, литер «А»

+7 812 271-24-41

+7 812 271-78-70

spb@xema.ru

### Беларусь, г. Минск

СООО «Хемма-Тест»

Эксклюзивный представитель в регионе  
(наборы для медицинской и ветеринарной  
диагностики)

220029, г. Минск, пр-т Машерова,

д. 11, литер «А», корп. 8/К., оф. 416

Лаборатория: 220086, г. Минск,

ул. Славинского, д. 1, корп. 2, к. 106

Директор: Пронин Вячеслав Сергеевич

+375 17 284-29-85

[hemma-test@yandex.ru](mailto:hemma-test@yandex.ru)



Russian Diagnostic  
Manufacturers Association



Ассоциация производителей  
медицинских лабораторных  
инструментов



Russian Association  
of Medical Laboratory  
Diagnostics



Российская Ассоциация  
Медицинских Лабораторных  
Диагностов