

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 point6, Directive 98/79/EC)
Modul A (EG-Konformitätserklärung)
(Anhang III, außer Nummer 6, Richtlinie 98/79 / EG)

Lead Competent Authority:
Zuständige Behörde

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

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

See annex to the Certificate
Siehe Anhang zum Zertifikat

Date of issue: 2020-01-01
Das Ausstellungsdatum

Valid to : 2022-05-25
Gültig bis

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



Polmed.de

Annex to the Certificate No.:

Anhang zum Zertifikat Nr.:

AR/IVMD/Xema/01/2020

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

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

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

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

Annex to the Certificate No.:

Anhang zum Zertifikat Nr.:

AR/IVMD/Xema/01/2020

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

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

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

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

Annex to the Certificate No.:

Anhang zum Zertifikat Nr.:

AR/IVMD/Xema/01/2020

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

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

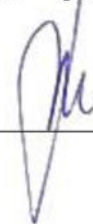
	Nomenclature term Nomenklaturbezeichnung	Catalog No. Katalog-Nr.	Name of device Produktbezeichnung	DIMDI Registration number Registriernummer
50.	NEURON SPECIFIC ENOLASE	K234	NSE EIA Cat. Nr K234	DE/CA37/IVD/13/52
51.	OTHER OTHER TUMOUR MARKERS	K239	HE – 4 EIA Cat. Nr K239	DE/CA37/IVD/13/53
52.	HSV IgG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

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

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



Date: January 01, 2020



Polmed.de



XEMA

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

10.02.2022

Исх. № 10-01/02

STATEMENT

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

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

Signature:



Dmitry S. Kostrikin

Deputy general manager

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

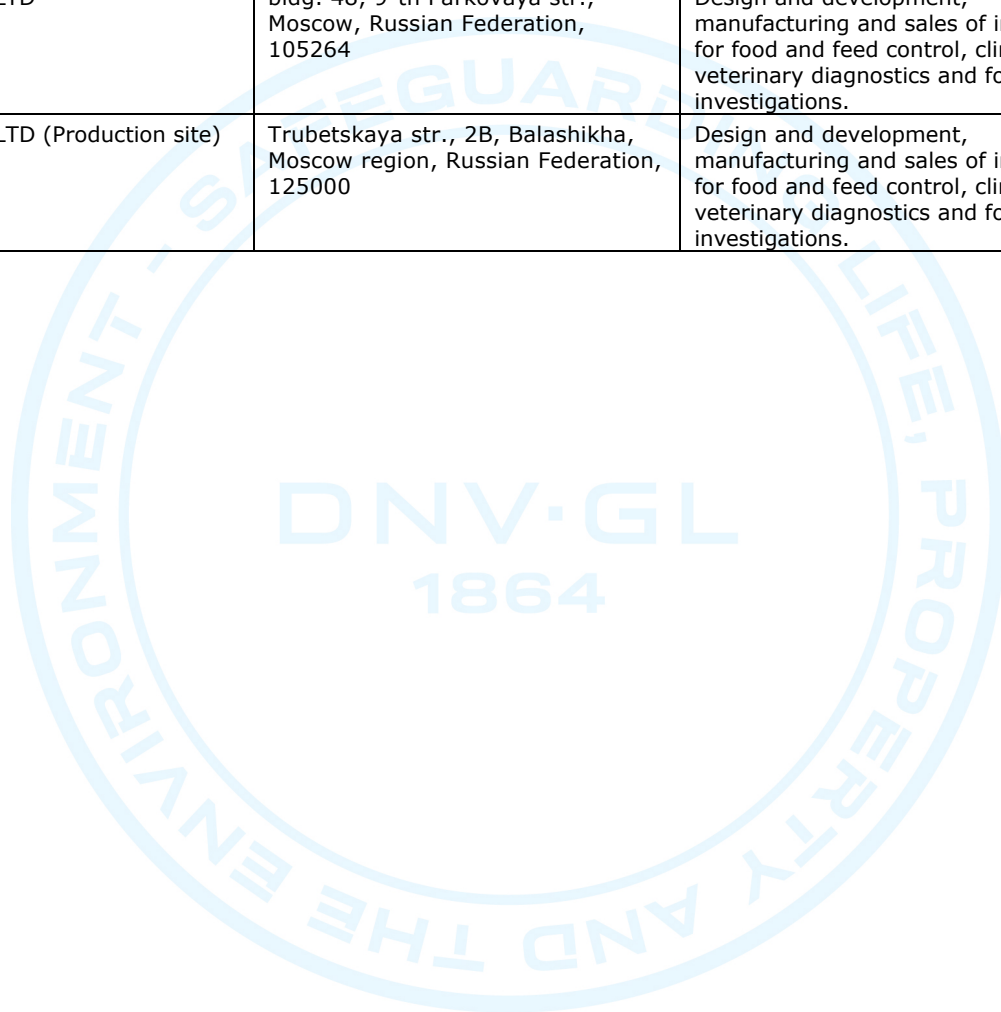
Certificate No: 282710-2019-AQ-MCW-FINAS
 Place and date: Moscow, 14 February 2019

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

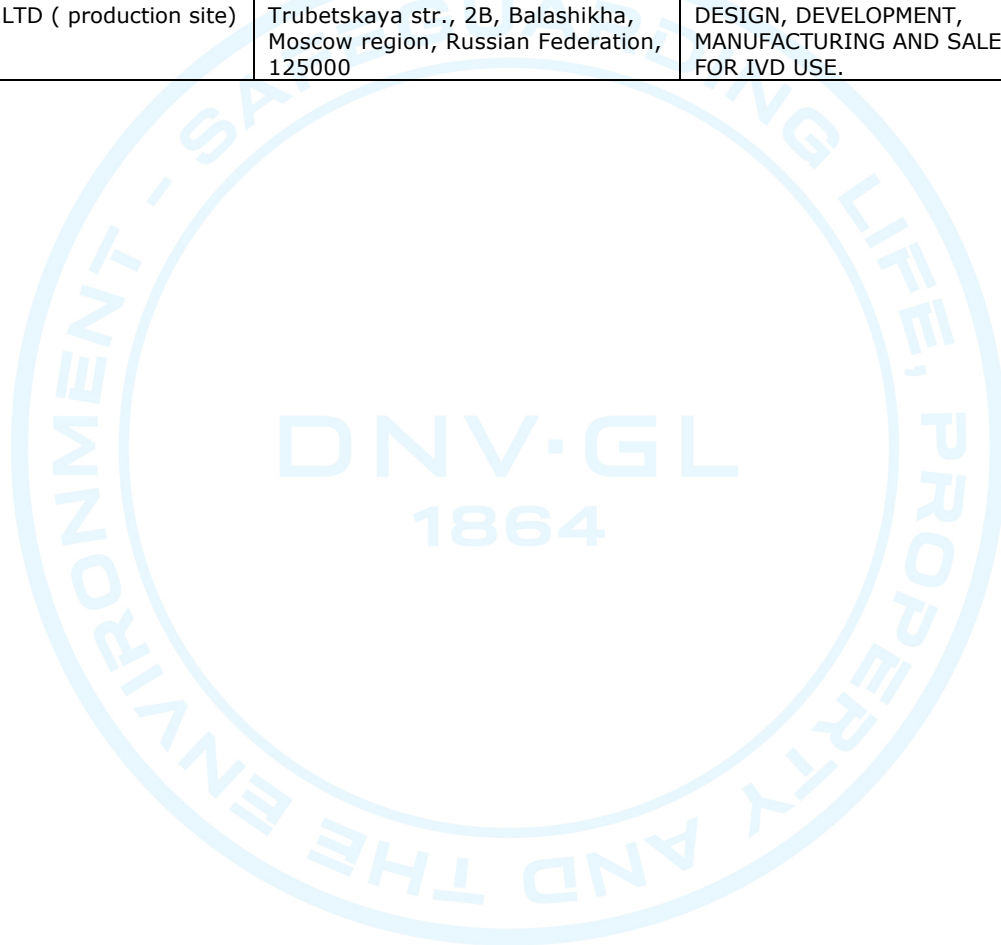
Certificate No: 53899-2009-AQ-MCW-FINAS
Place and date: Moscow, 22 January 2019

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
ЭСТРАДИОЛА В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ**

«ЭСТРАДИОЛ-ИФА»

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

ESTRADIOL EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF** **K208**

ТУ № 9398-032-18619450-2007

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



For 96 determinations/На 96 определений



Для *in vitro* диагностики

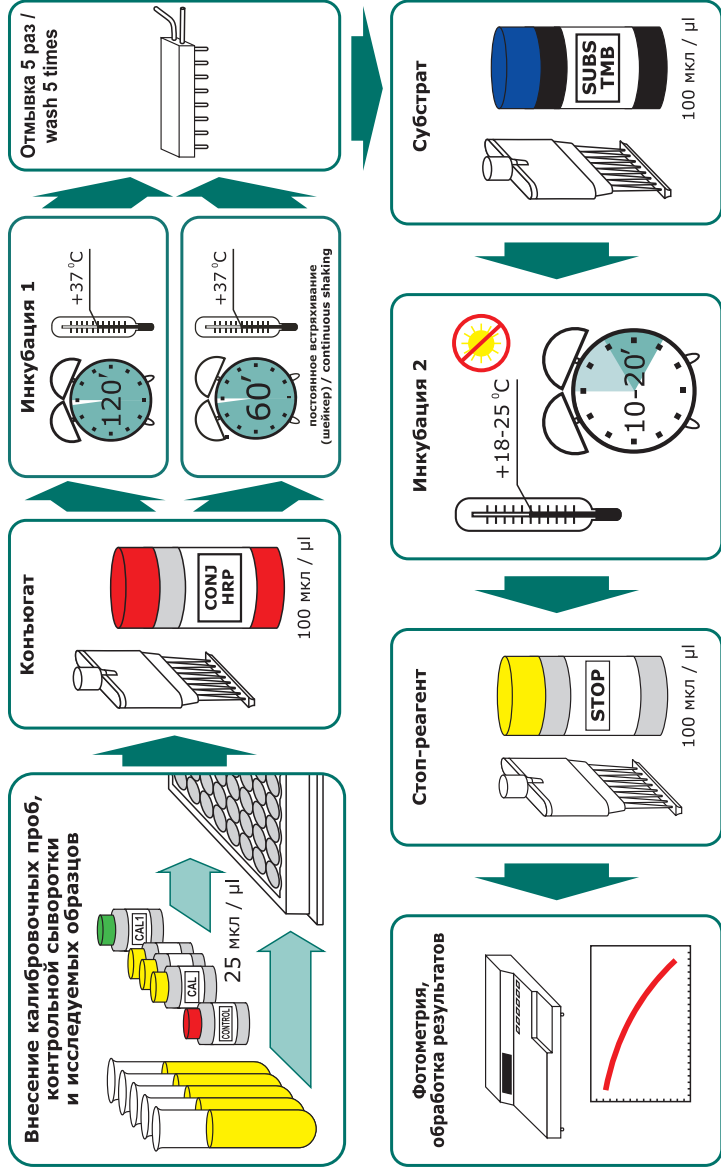


XEMA Co., Ltd.
The 9th Parkovaya str., 48
105264 Moscow, Russia
Tel./fax: +7(495) 510-57-07
e-mail: redkin@xema-medica.com
internet: www.xema-medica.com



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

Схема проведения анализа / Test procedure



K208; K209

СОДЕРЖАНИЕ

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

CONTENT

1. INTENDED USE	10
2. SUMMARY AND EXPLANATION	10
3. PRINCIPLE OF THE TEST	11
4. WARNINGS AND PRECAUTIONS	11
5. KIT COMPONENTS	12
6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE	13
7. TEST PROCEDURE	13
8. QUALITY CONTROL	14
9. CALCULATION OF RESULTS	15
10. EXPECTED VALUES	15
11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS	16
12. LITERATURE	16

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

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

1. НАЗНАЧЕНИЕ

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

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

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

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

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

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

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

3.2. Воспроизводимость.

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

3.3. Линейность.

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

3.4. Точность.

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

3.5. Чувствительность.

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

4. СОСТАВ НАБОРА

Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1 P208Z	SORB MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2 C208Z	CAL 1-6	Калибровочные пробы на основе сыворотки крови человека, содержащие известные количества эстрадиола – 0; 0.1; 0.3; 1; 3; 20 нмоль/л , готовы к использованию (по 0.8 мл каждая)	6	шт.	прозрачные жидкости ярко-красного цвета (калибровочная проба 0 – прозрачная бесцветная жидкость)
3 Q208Z	CONTROL	Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием эстрадиола, готова к использованию (0.8 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
4 T208Z	CONJ HRP	Конъюгат , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость красного цвета
5 R055Z	SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
6 S008Z	BUF WASH 26X	Концентрат отмывочного раствора (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26х-кратный (22 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
7 R050Z	STOP	Стоп-реагент , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
8 N003	-	Бумага для заклеивания планшета	2	шт.	-
9 K208I	-	Инструкция по применению Набора реагентов «ЭСТРАДИОЛ-ИФА»	1	шт.	-
10 K208Q	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «ЭСТРАДИОЛ-ИФА»	1	шт.	-

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

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

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

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

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

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

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

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

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

7.2. Приготовление планшета.

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

7.3. Приготовление отмывочного раствора.

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

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов – исследуемые образцы в 2 повторах и 14 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки.
2	Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 25 мкл калибровочной пробы и контрольной сыворотки. В остальные лунки внесите в дубликатах по 25 мкл исследуемых образцов сыоротки (плазмы) крови. Внесение калибровочных проб, контрольной сыоротки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
3	Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.
4	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте его в течение 120 минут при температуре +37 °С. Допускается инкубация в течение 60 минут при + 37 °С и постоянном встряхивании (600 об/мин)
5	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз. При каждой отмывке добавьте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п. 7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок постукиванием планшета в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.
6	Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина. Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2–3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °С) в течение 10–20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.
7	Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
8	Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм. Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра выставляйте по воздуху.
9	Постройте в полулогарифмических координатах калибровочный график: ось абсцисс (х) – десятичный логарифм концентрации эстрадиола в калибровочных пробах (нмоль/л), ось ординат (у) – оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма обсчета (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод. Приравняйте концентрацию калибровочной пробы 0 нмоль/л к несущественно малой величине, например, 0.001 нмоль/л
10	Определите по калибровочному графику содержание эстрадиола в исследуемых образцах.

10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ

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

Примечание. Значения концентраций эстрадиола в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0.025 нмоль/л), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (20 нмоль/л) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация эстрадиола ниже 0.025 нмоль/л или выше 20 нмоль/л.

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

1 нмоль/л = 272 пг/мл

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

11. ЛИТЕРАТУРА

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

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

105043, г. Москва, а/я 58

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

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

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

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

Руководитель службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА»,

к. б. н. Д. С. Кострикин

Instruction for use

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

1. INTENDED USE

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

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

2. SUMMARY AND EXPLANATION

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

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

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

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

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

3. PRINCIPLE OF THE TEST

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

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

4.1. For professional use only.

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

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

4.4. Avoid contact with stop solution containing 5.0% H₂SO₄. It may cause skin irritation and burns.

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

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

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

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

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

4.10. Do not mix reagents from different lots.

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

4.12. Do not pipette reagents by mouth.

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

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

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

5.1. Contents of the Kit

5. KIT COMPONENTS

Symbol	Description	Qty	Units	Colour code	Stability of opened/diluted components
1 SORB MTP	Estradiol EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp.date
2 CAL 1-6	Calibrator set, 0.8 ml each. The set contains 6 calibrators: 0: 0.1; 0.3; 1; 3; 20 nmol/l	6	pcs	bright red (C1 – colourless)	2 months
3 CONTROL	Control serum (0.8 ml)	1	pcs	colourless	2 months
4 CONJ HRP	Conjugate, 14 ml	1	pcs	red	until exp.date
5 SUBS TMB	Substrate solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
6 BUF WASH 26X	Washing solution concentrate 26X, 22 ml	1	pcs	colourless	Concentrate – until exp.date Diluted washing solution – 45 days at 2-8 °C or 15 days at RT
7 STOP	Stop solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
8 N003	Plate sealing tape	2	pcs		N/A
9 K2081	Instruction Estradiol EIA	1	pcs		N/A
10 K208Q	QC data sheet Estradiol EIA	1	pcs		N/A

5.2. Equipment and material required but not provided

- Distilled or deionized water;
- Automatic or semiautomatic multichannel micropipettes, 100–250 µl, is useful but not essential;
- Calibrated micropipettes with variable volume, range volume 25–250 µl;
- Dry thermostat for 37 °C ±0.1 °C (optional: with shaking 600 rpm);
- Calibrated microplate photometer with 450 nm wavelength and OD measuring range 0–3.0.

5.3. Storage and stability of the Kit

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

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

6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

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

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

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

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

7.2. Procedural Note:

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

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

7.3. Assay flowchart

1 nmol/l = 272 pg/ml

7.4. Assay procedure

1	Put the desired number of microstrips into the frame; allocate 14 wells for the calibrators CAL 1–6 and control samples CONTROL and two wells for each unknown sample. DO NOT REMOVE ADHESIVE SEALING TAPE FROM UNUSED STRIPS.
2	Pipet 25 µl of calibrators CAL 1–6, control samples CONTROL and unknown samples into the wells.
3	Dispense 100 µl of CONJ HRP into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape (included into the kit).
4	Incubate 120 minutes at 37 °C. OR: Incubate at +37 °C with continuous shaking (ca 600 rpm) during 60 min.
5	Prepare washing solution by 26X dilution of washing solution concentrate (BUF WASH 26X) by distilled water. Wash the strips 5 times.
6	Dispense 100 µl of SUBS TMB into the wells.
7	Incubate 10–20 minutes at +18...+25 °C.
8	Dispense 100 µl of STOP into the wells.
9	Measure OD (optical density) at 450 nm.
10	Set photometer blank on air.
11	Apply lin-log method for data reduction.

7.5. Handling notes

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

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

8. QUALITY CONTROL

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

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

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

9. CALCULATION OF RESULTS

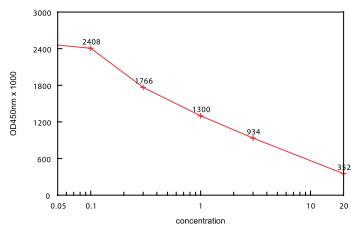
1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

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

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

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

Calibrators	Value	Absorbance Units (450 nm) x 1000
CAL 1	0 nmol/l	2579
CAL 2	0.1 nmol/l	2408
CAL 3	0.3 nmol/l	1766
CAL 4	1 nmol/l	1300
CAL 5	3 nmol/l	934
CAL 6	20 nmol/l	352



10. EXPECTED VALUES

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

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

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

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

11.2. Analytical sensitivity.

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

11.3. Linearity.


















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

11.4. Recovery.

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

12. LITERATURE

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

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

Уважаемый Клиент!

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

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

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

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



Russian Diagnostic
Manufacturers Association



Классический российский
профессиональный союз клинических
лабораторных диагностов



Russian Association
of Medical Laboratory
Diagnosticians



РОССИЙСКАЯ АССОЦИАЦИЯ
МЕДИЦИНСКИХ ЛАБОРАТОРНЫХ
ДИАГНОСТОВ

Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

8 800 505 23 45

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

Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

105043, г. Москва, а/я 58

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

тел.: +7 (495) 510-57 07, 737-39-36;

факс: +7 (495) 737-00-40

e-mail: info@xema.ru

www.xema-medica.com

ФООО «Хема», тел.: +7 (812) 271-24-41

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

e-mail: spb@xema.ru

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

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

литер А, корп. 8/К, офис 416

e-mail: hemma-test@yandex.ru

ТОВ «Хема», тел.: (044) 422-62-16;

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

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com





Instruction for use



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

«Кортизол-ИФА»

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

CORTISOL EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ REF **K210**

ТУ 9398-210-18619450-2010

№ ФСП 2010/09709 от 30 декабря 2010 г.



For 96 determinations



Для *in vitro* диагностики



XEMA Co., Ltd.

The 9-ya Parkovaya str., 48

105043 Moscow, Russia

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

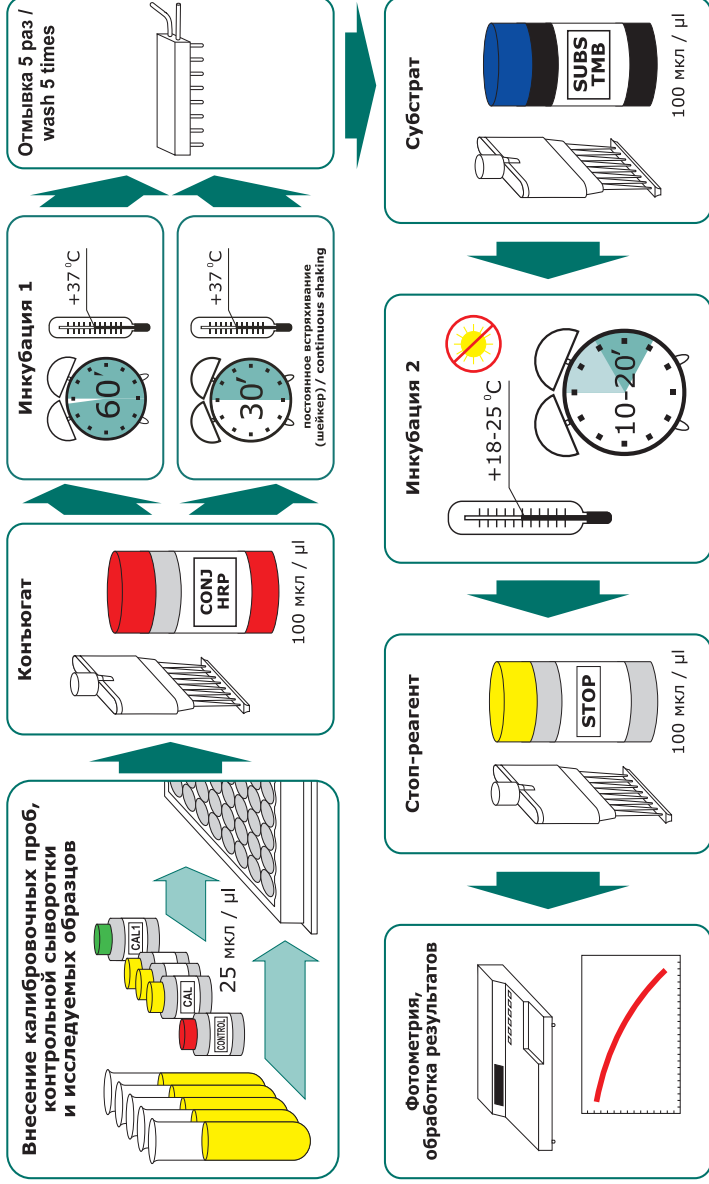
e-mail: redkin@xema-medica.com

internet: www.xema-medica.com



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

Схема проведения анализа / Test procedure



K210

СОДЕРЖАНИЕ

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

CONTENT

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

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

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

1. НАЗНАЧЕНИЕ

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

1.2. Кортизол – глюкокортикоид с молекулярной массой 362.5 дальтон. Он является основным гормоном коры надпочечников. В периферической крови циркулирует главным образом в форме, связанной с транскортином. Секреция кортизола в течение суток неодинакова и подчиняется определенному суточному ритму. У человека максимальные концентрации кортизола (ок. 450 нмоль/л) отмечаются между 6 и 9 часами утра, тогда как к полуночи содержание кортизола резко понижается (ок. 140 нмоль/л). Повышение уровня кортизола в крови наблюдается при следующих состояниях: гормонально-активной опухоли коры надпочечников; вирилизующей гиперплазии коры надпочечников, синдроме Иценко-Кушинга, АКТГ-продуцирующей опухоли, хирургической операции сердечной недостаточности, сахарном диабете, ожогах, острой боли, электростимуляции, инсулиновой коме, инфекционных заболеваниях, беременности, эстрогенотерапии. Содержание кортизола повышается также при приеме АКТГ, кортикостероидов, этанола, никотина, пероральных контрацептивов. Снижение уровня кортизола в крови отмечено при болезни Аддисона, адреногенитальном синдроме, гипопитуитаризме. Понижение концентрации кортизола вызывает дексаметазон, метирапон, леводopa, этакриновая кислота. Пониженные уровни кортизола во время беременности могут свидетельствовать об анэнцефалии плода.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение кортизола основано на использовании конкурентного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы мышинные моноклональные антитела к кортизолу. Кортизол из образца конкурирует с конъюгированным кортизолом 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 кортизола в исследуемом образце. Концентрацию кортизола в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания кортизола в калибровочных пробах.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Перекрестная реакция мышинных моноклональных антител к кортизолу с другими анализатами приведена в таблице:

Аналит	Перекрестная реакция, %
Кортизол	100
11-Дезоксикортизол	0.9
Преднизолон	5.6
Кортикостерон	0.6
11-Дезоксикортикостерон	<0.1
Прогестерон	<0.1
17-Гидроксипрогестерон	<0.1
Тестостерон, Эстрадиол, Эстриол	<0.1
Даназол	<0.01

3.2. Воспроизводимость.

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

3.3. Линейность.

Зависимость концентрации кортизола в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей кортизол, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 40–2000 нмоль/л и составляет $\pm 10.0\%$.

3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации кортизола предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 80 нмоль/л. Процент «открытия» составляет 90–110%.

3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «КОРТИЗОЛ-ИФА» концентрация кортизола в сыворотке (плазме) крови не превышает 6.0 нмоль/л.

4. СОСТАВ НАБОРА

Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1 P210Z	SORB MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2 C210Z	CAL 1-6	Калибровочные пробы на основе сыворотки крови человека, содержащие известные количества кортизола - 0; 40; 80; 200; 600; 2000 нмоль/л , готовы к использованию (по 0.8 мл каждая)	6	шт.	прозрачные жидкости синего цвета (калибровочная проба 0 - прозрачная бесцветная жидкость)
3 Q210Z	CONTROL	Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием кортизола, готова к использованию (0.8 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
4 T210Z	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), 26х-кратный (22 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
7 R050Z	STOP	Стоп-реагент , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
8 N003	-	Бумага для заклеивания планшета	2	шт.	-
9 K210I	-	Инструкция по применению Набора реагентов «КОРТИЗОЛ-ИФА»	1	шт.	-
10 K210Q	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «КОРТИЗОЛ-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, 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 $+37\text{ °C} \pm 0.1\text{ °C}$ (или термостазируемый шейкер);
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы в диапазоне 25–250 мкл;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- бумага фильтровальная.

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

7.1. Перед проведением анализа компоненты Набора и исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови следует выдержать при комнатной температуре ($+18...+25\text{ °C}$) 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 $+2...+8\text{ °C}$ 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 «КОРТИЗОЛ-ИФА» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности, указанного на упаковке Набора.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов – исследуемые образцы в 2 повторах и 14 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки.
2	Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 25 мкл калибровочной пробы и контрольной сыворотки. В остальные лунки внесите в дубликатах по 25 мкл исследуемых образцов сыоротки (плазмы) крови. Внесение калибровочных проб, контрольной 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. Допускается инкубация в течение 30 минут при + 37 °С и постоянном встряхивании (600 об/мин)
5	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз. При каждой отмывке добавте 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 тетраметилбензидаина. Внесение раствора субстрата тетраметилбензидаина 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 тетраметилбензидаина, по 100 мкл стоп-реагента , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
8	Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм. Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра выставьте по воздуху.
9	Постройте в полулогарифмических координатах калибровочный график: ось абсцисс (х) – десятичный логарифм концентрации кортизола в калибровочных пробах (нмоль/л), ось ординат (у) – оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма обсчета (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод. Приравняйте концентрацию калибровочной пробы 0 нмоль/л к несущественно малой величине, например, 0,001 нмоль/л
10	Определите по калибровочному графику содержание кортизола 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 кортизола в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (6.0 нмоль/л), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (2000 нмоль/л) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация кортизола ниже 6.0 нмоль/л или выше 2000 нмоль/л.

Исследуемая группа	Единицы, нмоль/л	
	Нижний предел	Верхний предел
здоровые доноры	140	600

11. ЛИТЕРАТУРА

1. L. Thomas, Labor und Diagnose, 4. Auflage, 1992
2. Tietz, N.W., Textbook of Clinical Chemistry, Saunders, 1968
3. Foster, L. B. and Dunn, R.T. Clin. Chem: 20/3, 365 (1974)
4. De Lacerda, L., Kowarski, A., and Migeon, C.J. J. Clin. Endocr. and Metab: 36, 227 (1973)
5. Rolleri, E., Zannino, M., Orlandini, S., Malvano, R. Clin chim Acta 66 319 (1976)
6. Kobayashi, Y., et al Steroids, 32 no. 1 (1978)
7. Arakawa, H., Maeda, M., Tsuji, A. Anal. Biochem. 97 248 (1979)

По вопросам, касающимся качества Набора **«КОРТИЗОЛ-ИФА»**, следует обращаться в ООО «ХЕМА» по адресу:
105043, Москва, а/я 58,
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 CORTISOL IN HUMAN SERUM OR PLASMA

1. INTENDED USE

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

This kit is designed for measurement of cortisol 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

Cortisol is a glucocorticoid with a MW of 362.5 Dalton. Cortisol is the major hormone secreted by adrenals. In blood, cortisol is found mostly in a bound form, transcortin being the carrier. Cortisol secretion undergoes circadian rhythms with maximal (up to 700 nmol/l) concentrations seen in the morning (6–9 am) and minimal (up to 55 nmol/l) – in the midnight.

During pregnancy, Cortisol blood level is continuously increasing by up to 5-fold of initial concentration before delivery, its circadian rhythm being altered. Cortisol plays an important role in development of alveolar epithelium and surfactant secretion, this being of major importance for the first inhale of a newborn.

Elevated Cortisol concentrations in blood are found in secreting tumours of adrenals, in virilizing hyperplasia of adrenals, in Cushing syndrome, in ACTH-producing tumours, during surgical stress, in cardiac insufficiency, diabetes, burns, pains, during pregnancy, during estrogen therapy, etc. Cortisol blood level may be increased by intake of ACTH, Cortisol, alcohol, nicotine, oral contraceptives.

Decreased Cortisol levels are found in Addison syndrome, adrenogenital syndrome, hypopituitarism. Some drugs may decrease Cortisol level in blood, such as: L-DOPA, dexamethasone, etc. Decreased Cortisol level during pregnancy may indicate anencephaly of the fetus.

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

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

4.1. For professional use only.

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

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

4.4. Avoid contact with stop solution containing 5.0% H₂SO₄. It may cause skin irritation and burns.

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

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

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

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

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

4.10. Do not mix reagents from different lots.

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

4.12. Do not pipette reagents by mouth.

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

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

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

5.1. Contents of the Kit

5. KIT COMPONENTS

Symbol	Description	Qty	Units	Colour code	Stability of opened/diluted components
1	Cortisol EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp. date
2	Calibrator set, 0.8 ml each. The set contains 6 calibrators: 0; 40; 80; 200; 600; 2000 nmol/l	6	pcs	blue (C1 - colourless)	2 months
3	Control serum (0.8 ml)	1	pcs	colourless	2 months
4	Conjugate, 14 ml	1	pcs	red	until exp. date
5	Substrate solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp. date
6	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 solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp. date
8	Plate sealing tape	2	pcs		N/A
9	Instruction Cortisol EIA	1	pcs		N/A
10	QC data sheet Cortisol EIA	1	pcs		N/A

5.2. Equipment and material required but not provided

- Distilled or deionized water;
- Automatic or semiautomatic multichannel micropipettes, 100–250 µl, is useful but not essential;
- Calibrated micropipettes with variable volume, range volume 25–250 µl;
- Dry thermostat for +37 °C ±0.1 °C (optional: with shaking 600 rpm);
- Calibrated microplate photometer with 450 nm wavelength and OD measuring range 0–3.0.

5.3. Storage and stability of the Kit

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

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

6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

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

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

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

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

7.2. Procedural Note:

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

7.3. Assay flowchart

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

7.4. Assay procedure

1	Put the desired number of microstrips into the frame; allocate 14 wells for the calibrators CAL 1-6 and control samples CONTROL and two wells for each unknown sample. DO NOT REMOVE ADHESIVE SEALING TAPE FROM UNUSED STRIPS.
2	Pipet 25 µl of calibrators CAL 1-6, control samples CONTROL and unknown samples into the wells.
3	Dispense 100 µl of CONJ HRP into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape (included into the kit).
4	Incubate 60 minutes at 37 °C. OR: Incubate at +37 °C with continuous shaking (ca 600 rpm) during 30 min.
5	Prepare washing solution by 26X dilution of washing solution concentrate (BUF WASH 26X) by distilled water. Wash the strips 5 times.
6	Dispense 100 µl of SUBS TMB into the wells.
7	Incubate 10-20 minutes at +18...+25 °C.
8	Dispense 100 µl of STOP into the wells.
9	Measure OD (optical density) at 450 nm.
10	Set photometer blank on air.
11	Apply lin-log method for data reduction.

7.5. Handling notes

Calibrators and control sample(s) - only one freezing/thawing cycle is allowed
 Incubation at +37 °C may be replaced by incubation at +37 °C with continuous shaking (ca 600 rpm) during 30 min

8. QUALITY CONTROL

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

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

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

9. CALCULATION OF RESULTS

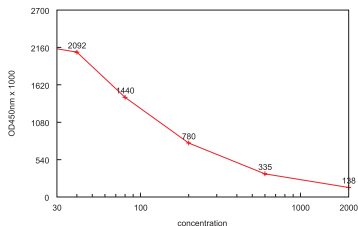
9.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

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

9.3. Determine the corresponding concentration of cortisol 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	3120
CAL 2	40 nmol/l	2092
CAL 3	80 nmol/l	1440
CAL 4	200 nmol/l	780
CAL 5	600 nmol/l	335
CAL 6	2000 nmol/l	138



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 Cortisol. 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	
	Lower limit	Upper limit
Healthy donors	140	600

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

Analyte	Cross-reactivity, % wt/wt
Cortisol	100
11-Deoxycortisol	0.9
Prednisolone	5.6
Corticosterone	0.6
11-Deoxycorticosterone	<0.1
Progesterone	<0.1
17-Hydroxyprogesterone	<0.1
Testosterone, Estradiol, Estriol	<0.1
Danazol	<0.01

11.2. Analytical sensitivity

Sensitivity of the assay was assessed as being 6.0 nmol/l.

11.3. Linearity


















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

11.4. Recovery

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

12. LITERATURE

1. L. Thomas, Labor und Diagnose, 4. Auflage, 1992
2. Tietz, N.W., Textbook of Clinical Chemistry, Saunders, 1968
3. Foster, L. B. and Dunn, R.T. Clin. Chem: 20/3, 365 (1974)
4. De Lacerda, L., Kowarski, A., and Migeon, C.J. J. Clin. Endocr. and Metab: 36, 227 (1973)
5. Rolleri, E., Zannino, M., Orlandini, S., Malvano, R. Clin chim Acta 66 319 (1976)
6. Kobayashi, Y., et al Steroids, 32 no. 1 (1978)
7. Arakawa, H., Maeda, M., Tsuji, A. Anal. Biochem. 97 248 (1979)

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

Уважаемый Клиент!

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

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

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

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



Russian Diagnostic
Manufacturers Association



Ассоциация лабораторий
производителей средств диагностики
и 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, 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

ООО «Хема», тел.: +7 (812) 271-24-41

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

e-mail: spb@xema.ru

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

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

литер А, корп. 8/К, офис 416

e-mail: hemma-test@yandex.ru

ТОВ «Хема», тел.: (044) 422-62-16;

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

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com





Instruction for use



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

«общий ПСА-ИФА»

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

tPSA EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ REF **K221**

ТУ 9398-221-18619450-2011

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
№ ФСР 2011/11007 от 20 июня 2011 года

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



For 96 determinations/На 96 определений

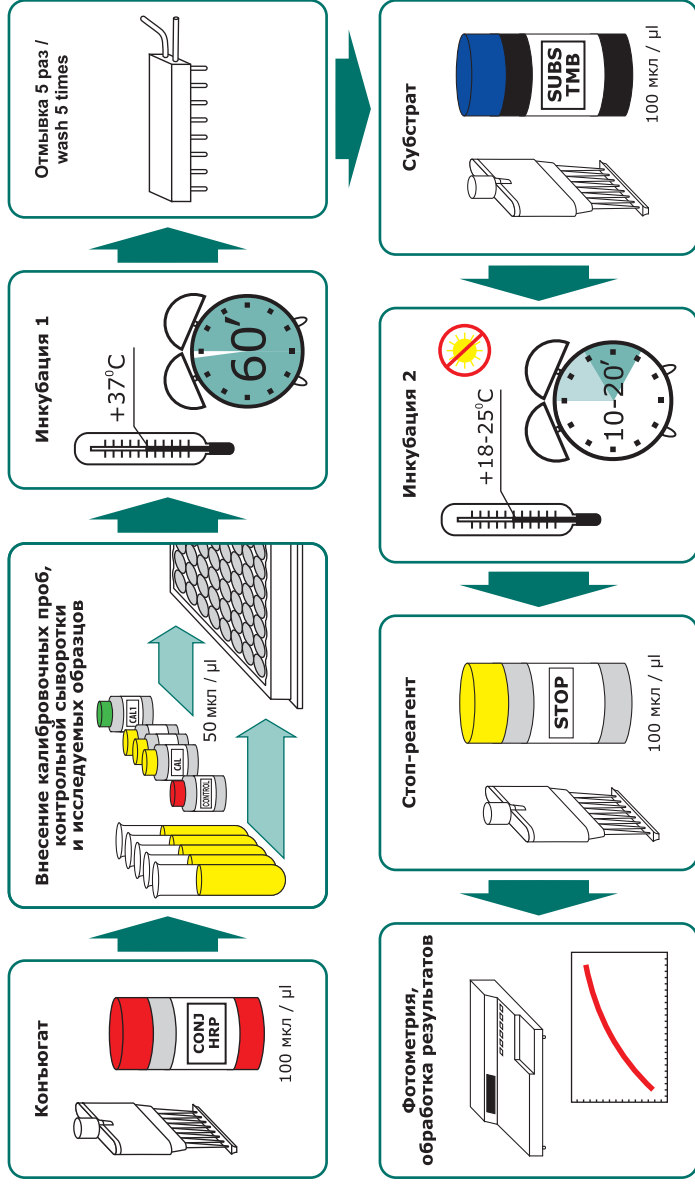


Для *in vitro* диагностики



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

Схема проведения анализа / Test procedure



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

СОДЕРЖАНИЕ

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

CONTENT

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

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

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОБЩЕГО ПРОСТАТАСПЕЦИФИЧЕСКОГО АНТИГЕНА В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «общий ПСА-ИФА»

Рекомендована к утверждению Научно-экспертным Советом по медицинским изделиям.

1. НАЗНАЧЕНИЕ

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

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

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

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

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

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

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

3.2. Воспроизводимость.

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

3.3. Линейность.

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

3.4. Точность.

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

3.5. Чувствительность.

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

4. СОСТАВ НАБОРА

Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1 P221Z	SORB MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2 C221Z	CAL 1-5	Калибровочные пробы на основе трис-буфера (рН 7,2-7,4), содержащие известные количества общего ПСА – 0; 1,5; 5; 10; 30 нг/мл , готовы к использованию (калибровочная проба 0 нг/мл – 6 мл, остальные – по 0,8 мл каждая)	5	шт.	прозрачные жидкости красного цвета (калибровочная проба 0 – прозрачная бесцветная жидкость)
3 Q221Z	CONTROL	Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием общего ПСА, готова к использованию (0,8 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
4 T221Z	CONJ HRP	Конъюгат , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная красная жидкость
5 R055Z	SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
6 S008Z	BUF WASH 26X	Концентрат отмывочного раствора (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26х-кратный (22 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
7 R050Z	STOP	Стоп-реагент , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
8 N003	-	Бумага для заклеивания планшета	2	шт.	-
9 K221I	-	Инструкция по применению Набора реагентов «общий ПСА-ИФА»	1	шт.	-
10 K221Q	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «общий ПСА-ИФА»	1	шт.	-

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

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

	Символ	Комплектация 5
		Количество
1	SORB MTP	5 шт
2	CAL 1 - 5	5 комплектов (С1 – 6 мл, С2-С5, по 0.8 мл); или 30 мл С1 и по 4 мл С2-С5
3	CONTROL	5x0.8 мл или 1x4 мл
4	CONJ HRP	5x14 мл или 2x30 мл
5	SUBS TMB	2x30 мл
6	BUF WASH 26X	2x50 мл
7	STOP	2x30 мл
8	N003	10 шт

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

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

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

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

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

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

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

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

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

7.2. Приготовление планшета.

Вскрыть пакет с планшетом и установить на рамку необходимое количество стрипов. Оставшиеся неиспользованными стрипы, чтобы предотвратить воздействие на них влаги, тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета

и хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора.

7.3. Приготовление отмывочного раствора.

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

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов – исследуемые образцы в 2 повторах и 12 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки.
2	Если предполагается концентрация общего ПСА в исследуемом образце превышает 30 нг/мл, его следует дополнительно развести, используя калибровочную пробу 0. Использование других буферов и реагентов для разбавления образцов может исказить результаты определения! Примечание. Для получения надежных результатов рекомендуется использовать несколько последовательных разведений исследуемого образца сыворотки (плазмы) крови.
3	Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.
4	Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 50 мкл калибровочной пробы и контрольной сыворотки. В остальные лунки внесите в дубликатах по 50 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови. Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
5	Заклейте планшет бумагой для закрепления планшета и инкубируйте его в течение 60 минут при температуре +37 °С.
6	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз. При каждой отмывке добавьте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п. 7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок постукиванием планшета в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.
7	Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина. Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2–3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °С) в течение 10–20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.
8	Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
9	Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм. Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра представляйте по калибровочной пробе С1.
10	Постройте в линейных координатах калибровочный график: ось абсцисс (x) – концентрация общего ПСА в калибровочных пробах (нг/мл), ось ординат (y) – оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма обседа (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод.
11	Определите по калибровочному графику содержание общего ПСА в исследуемых образцах. Если исследуемый образец преобразовали (см. п. 2), умножьте полученный результат на фактор разведения.

10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ

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

Примечание. Значения концентраций общего ПСА в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0.005 нг/мл), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (30 нг/мл) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация общего ПСА ниже 0.005 нг/мл или выше 30 нг/мл.

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

11. ЛИТЕРАТУРА

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

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

105043, г. Москва, а/я 58

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

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

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

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

Руководитель службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА»,

к. б. н. Д. С. Кострикин

Instruction for use

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

1. INTENDED USE

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

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

2. SUMMARY AND EXPLANATION

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

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

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

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

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

3. PRINCIPLE OF THE TEST

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

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

4.1. For professional use only.

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

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

4.4. Avoid contact with stop solution containing 5.0 % 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	tpsA EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp. date
2 CAL 1-5	Calibrator set, 0.8 ml each, zero calibrator C1 - 6 ml The set contains 5 calibrators: 0: 1.5; 5; 10; 30 ng/ml	5	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	red	until exp. date
5 SUBS TMB	Substrate solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp. date
6 BUF WASH 26X	Washing solution concentrate 26X, 22 ml	1	pcs	colourless	Concentrate - until exp. date Diluted washing solution - 45 days at 2-8 °C or 15 days at RT
7 STOP	Stop solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp. date
8 N003	Plate sealing tape	2	pcs		N/A
9 K221I	Instruction tpsA EIA	1	pcs		N/A
10 K221Q	QC data sheet tpsA EIA	1	pcs		N/A

5.2. Equipment and material required but not provided

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

5.3. Storage and stability of the Kit

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

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

6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

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

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

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

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

7.2. Procedural Note:

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

7.3. Assay flowchart

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

7.4. Assay procedure

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

7.5. Handling notes

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

8. QUALITY CONTROL

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

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

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

9. CALCULATION OF RESULTS

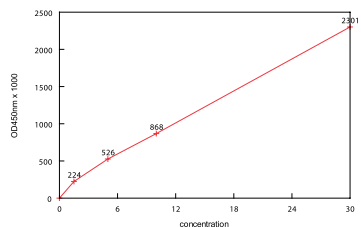
9.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

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

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

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

Calibrators	Value	Absorbance Units (450 nm)
CAL 1	0 ng/ml	0.04
CAL 2	1.5 ng/ml	0.27
CAL 3	5 ng/ml	0.57
CAL 4	10 ng/ml	0.91
CAL 5	30 ng/ml	2.34



10. EXPECTED VALUES

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

Sex, age	Units, ng/ml	
	Lower limit	Upper limit
Males		
<40 yrs	-	4.0
41-60 yrs	-	5.5
>61 yr	-	7.0
Females	-	0.45

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

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


















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

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

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

12. LITERATURE

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

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

Уважаемый Клиент!

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

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

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

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



Russian Diagnostic
Manufacturers Association



Ассоциация российских
лабораторий диагностики



RUSSIAN ASSOCIATION
OF MEDICAL LABORATORY
DIAGNOSTICS



РОССИЙСКАЯ АССОЦИАЦИЯ
МЕДИЦИНСКИХ ЛАБОРАТОРНЫХ
ДИАГНОСТИКОВ

Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

8 800 505 23 45

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

Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

105043, г. Москва, а/я 58

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

тел.: +7 (495) 510-57 07, 737-39-36;

факс: +7 (495) 737-00-40

e-mail: info@xema.ru

www.xema-medica.com

ФООО «Хема», тел.: +7 (812) 271-24-41

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

e-mail: spb@xema.ru

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

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

литер А, корп. 8/К, офис 416

e-mail: hemma-test@yandex.ru

ТОВ «Хема», тел.: (044) 422-62-16;

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

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com





Instruction for use

**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
НАБОРА РЕАГЕНТОВ
ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
CA125 В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ**

«CA125-ИФА»

**A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY
FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION
OF CA125 IN HUMAN SERUM OR PLASMA**

CA125 EIA

На сайте www.xema-medica.com доступен калькулятор расчета риска рака яичника по данным исследования на антигены CA125 и HE4 при использовании ИФА Наборов производства нашей компании. Надеемся, что этот инструмент позволит специалистам по лабораторной диагностике врачам-клиницистам быть на передовой современной медицины и способствует повышению уровня обслуживания и защиты пациентов.



НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF** **K222**

ТУ № 9398-222-18619450-2010

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
№ФСР 2010/07151 от 17 марта 2010г.

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



For 96 determinations/На 96 определений



для *in vitro* диагностики

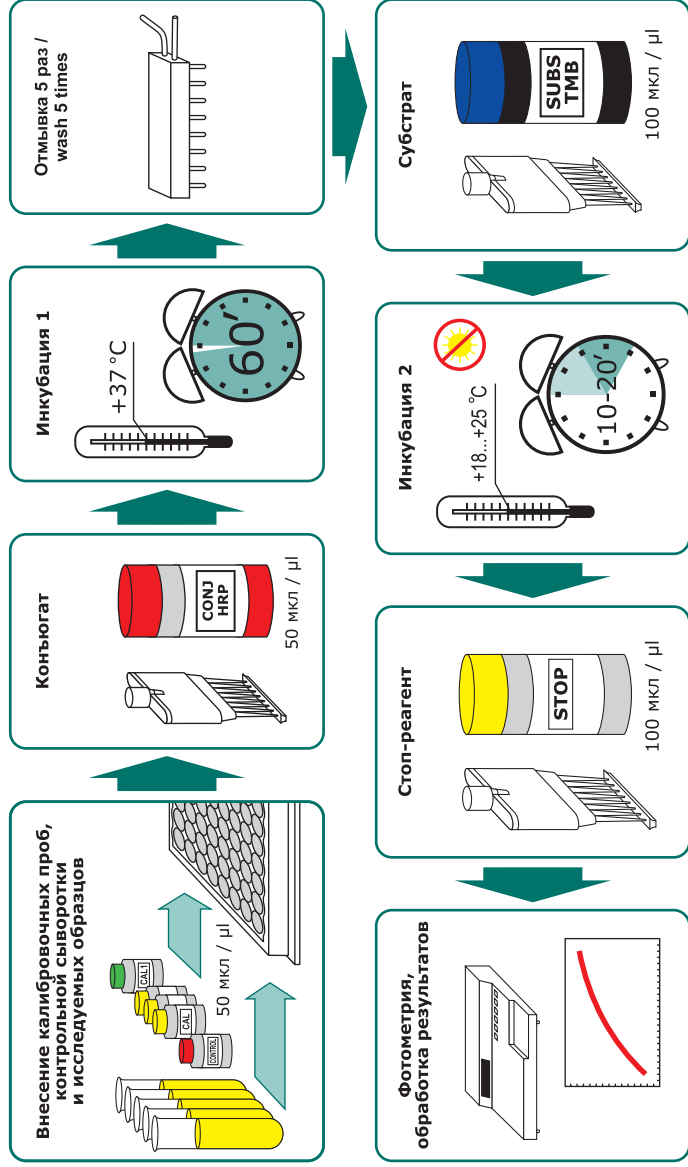


XEMA Co., Ltd.
The 9th Parkovaya str., 48
105264 Moscow, Russia
Tel./fax: +7(495) 510-57-07
e-mail: redkin@xema-medica.com
internet: www.xema-medica.com



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

Схема проведения анализа / Test procedure



K222, K228, K232, K236, K291

СОДЕРЖАНИЕ

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

CONTENT

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

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

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СА125 В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «СА125-ИФА»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «СА125-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации СА125 в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. СА125 представляет собой антиген (эпитоп), ассоциированный с аденокарциномами яичников и некоторыми другими опухолями. Количественное определение СА125 в сыворотке или плазме используется для мониторинга больных с аденокарциномами яичников. Эпитоп СА125 обнаруживается на гетерогенной группе гликопротеинов с высокой молекулярной массой (молекулярная масса от 200.000 до 1.000.000). В высоком проценте случаев содержание СА125 повышается при аденокарциномах яичников, за исключением муцинозной и гранулезоклеточной гистологической формы. Кроме того, СА125 обнаруживается в некоторых эмбриональных тканях и некоторых тканях взрослого организма – в эпителии фаллопиевых труб, в апокриновых потовых железах, молочных железах, эндометрии. Повышение концентрации СА125 в сыворотке наблюдается у большинства больных с аденокарциномами яичников – в том числе, на первой стадии. Определение уровня СА125 полезно для контроля эффективности лечения и слежения за течением аденокарцином яичников; вместе с тем, результаты измерения СА125 всегда следует интерпретировать в комплексе с результатами других методов исследования и клиническими данными. Данные, полученные в лаборатории ХЕМА, свидетельствуют, что периодическое определение уровня СА125 может быть полезно для диагностики развития аденокарциномы фиброзной ткани легких у больных с интерстициальными заболеваниями легких. В определении антигена СА125 используются моноклональные антитела к эпитопным группам А и В, полученные ХЕМА (Х306 и Х52); специфичность антител подтверждена международной экспертной группой (TD1 workshop 2000, International Society of Oncodevelopmental Biology and Medicine). Определение уровня СА125 не позволяет проводить раннюю диагностику злокачественных заболеваний, поскольку повышенное содержание СА125 в сыворотке может наблюдаться при карциноме матки, гепатоме, аденокарциноме поджелудочной железы, а также при заболеваниях неопухолевой природы – например, циррозе печени, интерстициальных заболеваниях легких. **ВНИМАНИЕ!** Этот набор предназначен только для работы с сывороткой или плазмой. При анализе других типов образцов – например, асцитической жидкости, плевральных выпотов или культуральных супернатантов – можно получить ложные результаты.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение СА125 основано на использовании «сэндвич»-варианта твердофазного иммуоферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы мышинные моноклональные антитела к СА125 человека. В лунках планшета, при добавлении исследуемого образца, происходит связывание СА125, содержащегося в исследуемом образце, с антителами на твердой фазе. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата мышинных моноклональных антител к СА125 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 СА125 в исследуемом образце. Концентрацию СА125 в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания СА125 в калибровочных пробах.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Перекрестная реакция мышинных моноклональных антител к СА125 человека с другими анализитами приведена в таблице:

Аналит	Перекрестная реакция, %
КЭА	<0.1
СА19-9	<0.1
СА15-3	<0.1

3.2. Воспроизводимость.

Коэффициент вариации результатов определения содержания СА125 в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «СА125-ИФА» не превышает 8.0%.

3.3. Линейность.

Зависимость концентрации СА125 в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей СА125, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 25–400 Ед/мл и составляет $\pm 10.0\%$.

3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации СА125 предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 50.0 Ед/мл. Процент «открытия» составляет 90–110%.

3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «СА125-ИФА» концентрация СА125 в сыворотке (плазме) крови не превышает 0.25 Ед/мл.

4. СОСТАВ НАБОРА

Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1 P222Z	SORB MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2 C222Z	CAL 1-6	Калибровочные пробы на основе трис-буфера (pH 7.2-7.4), содержащие известные количества CA125 – 0; 25; 50; 100; 200; 400 Ед/мл , готовы к использованию (калибровочная проба 0 Ед/мл – 6 мл, остальные – по 0.8 мл каждая)	6	шт.	прозрачные жидкости красного цвета (калибровочная проба 0 – прозрачная бесцветная жидкость)
3 Q222Z	CONTROL	Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием CA125, готова к использованию (0.8 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
4 T222Z	CONJ HRP	Конъюгат , готов к использованию (7 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), 26х-кратный (22 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
7 R050Z	STOP	Стоп-реагент , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
8 N003	-	Бумага дляклеивания планшета	2	шт.	-
9 K222I	-	Инструкция по применению Набора реагентов «CA125-ИФА»	1	шт.	-
10 K222Q	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «CA125-ИФА»	1	шт.	-

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

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

	Символ	Комплектация 5
		Количество
1	SORB MTP	5 шт
2	CAL 1 - 6	5 комплектов (С1 – 6 мл, С2-С6, по 0.8 мл); или 30 мл С1 и по 4 мл С2-С6
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 ±0.1 °С;
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы в диапазоне 25–250 мкл;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- бумага фильтровальная.

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

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

7.2. Приготовление планшета.

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

7.3. Приготовление отмывочного раствора.

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

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

8.1. Набор реагентов «СА125-ИФА» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности, указанного на упаковке Набора. Допускается хранение (транспортировка) Набора при температуре до +25 °С не более 15 суток. Не допускается замораживание целого набора.

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

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

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

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

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

8.4. Для проведения анализа не следует использовать 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 СА125 в контрольной сыворотке.

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

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

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов – исследуемые образцы в 2 повторах и 14 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки.
2	Если предполагаемая концентрация СА125 в исследуемом образце превышает 400 Ед/мл, его следует дополнительно развести, используя калибровочную пробу 0. Использование других буферов и реагентов для разбавления образцов может исказить результаты определения! Примечание. Для получения надежных результатов рекомендуется использовать несколько последовательных разведений исследуемого образца сыворотки (плазмы) крови.
3	Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 50 мкл калибровочной пробы и контрольной сыворотки. В остальные лунки внесите в дубликатах по 50 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови. Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
4	Внесите во все лунки по 50 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 добавляйте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п.7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок постукиванием планшета в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.
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 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 калибровочной пробе С1.
10	Постройте в линейных координатах калибровочный график: ось абсцисс (x) – концентрация СА125 в калибровочных пробах (Ед/мл), ось ординат (y) – оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма подсчета (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод.
11	Определите по калибровочному графику содержание СА125 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 CA125 в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0.25 Ед/мл), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (400 Ед/мл) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация CA125 ниже 0.25 Ед/мл или выше 400 Ед/мл.

Исследуемая группа	Единицы, Ед/мл	
	Нижний предел	Верхний предел
Мужчины	-	35
Женщины	-	35
Беременные:		
1-й триместр	-	60
2-й триместр	-	150
3-й триместр	-	200
В период лактации	-	80

Внимание! Набор реагентов «CA125-ИФА» предназначен только для работы с образцами сыворотки (плазмы) крови. При исследовании других типов образцов (асцитической жидкости, плевральных выпотов или культуральных супернатантов) можно получить ложные результаты.

11. ЛИТЕРАТУРА

1. Engall, E., Methods in Enzymology, Volume 70, Van Vunakis, H. and Langone, J. J. (eds.), Academic Press, New York, 419- 492. (1980).
2. Uotila, M., Ruoslahti, E. and Engvall, E., J. Immunol. Methods, 42, 11-15 (1981).
3. Kenemans P, Yedema CA, Bon GG, von Mensdorff-Pouilly S. Ca125 in gynecological pathology a review. Eur J Obstet Gynecol 1993; 49:115-124.
4. Saksela F. Prognostic markers in epithelial ovarian cancer. Intl J Gynecol Pathol 1993; 12:156-161.
5. Farghaly SA. Tumor markers in gynecologic cancer. Gynecol & Obstet Invest 1992; 34:65-72.
6. Welander CE. What do CA 125 and other antigens tell us about ovarian cancer biology. Acta Obstet Gynecol Scand Sup 1992; 155:85-93.
7. McGowan L. Pathology of the ovary. Curr Opin on Obstet Gynecol 1991; 3:580-586.
8. Niloff JM. Ovarian malignancy. Curr Opin on Obstet Gynecol 1991; 3:66-72.
9. Olt G, Berchuck A, Bast RC. The role of tumor markers in gynecologic oncology. Obstet Gynecol Survey 1990; 45-: 570-577.

По вопросам, касающимся качества Набора **«СА125-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 CA125 IN HUMAN SERUM OR PLASMA

1. INTENDED USE

A solid-phase enzyme immunoassay for the quantitative determination of CA125 in blood serum or plasma.

This kit is designed for measurement of CA125 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

CA125 is an antigen (an epitope) associated with ovarian carcinoma and some other tumors. Quantitative determination of CA125 in serum and plasma is used for follow-up of patients with primary invasive ovarian carcinoma. The CA125 epitope is found on a heterogeneous group of glycoproteins with a high molecular weight (MW 200.000 to over 1.000.000). CA125 can be detected in a high percentage of nonmucinous epithelial ovarian tumours. In addition, CA125 is detectable in some fetal tissues and in adult tissues in the epithelium of the fallopian tubes, apocrine sweat glands, breast glands, endometrium and endocervix. Elevated serum concentrations of CA125 are found in most patients with epithelial ovarian cancer, including those with stage 1 disease. CA125 determination is useful for therapy control and follow-up of ovarian cancer patients treated by any type of therapy. However, the CA125 values obtained should always be interpreted in the context of the results obtained by other clinical procedures.

Internal data obtained by XEMA suggest that serial determination of CA125 may be helpful for diagnosis of adenocarcinoma development in fibrotic lung tissue in patients with interstitial lung diseases.

In a present test system, monoclonal antibodies X306 (epitope group A) is used to capture the antigen, and monoclonal antibodies X52 (epitope group B) are used as a tracer. The epitope specificity of both antibodies were confirmed by an independent expert group (TD1 workshop 2000, International Society of Oncodevelopmental Biology and Medicine).

Determination of CA125 is not suitable for early diagnosis of malignancies because elevated CA125 values may also be found in patients with uterine carcinoma, hepatoma and pancreatic adenocarcinoma as well as in non-malignant conditions such as liver cirrhosis, interstitial lung diseases, severe endometriosis and during pregnancy.

3. PRINCIPLE OF THE TEST

This test is based on two-site sandwich enzyme immunoassay principle. Tested specimen is placed into the microwells coated by specific murine monoclonal to human CA125-antibodies. Antigen from the specimen is captured by the antibodies coated onto the microwell surface. Second antibodies – murine monoclonal to human CA125, labelled with peroxidase enzyme, are then added into the microwells. After washing procedure, the remaining enzymatic activity bound to the microwell surface is detected and quantified by addition of chromogen-substrate mixture, stop solution and photometry at 450 nm. Optical density in the microwell is directly related to the quantity of the measured analyte in the specimen.

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

4.1. For professional use only.

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

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

4.4. Avoid contact with stop solution containing 5.0% H₂SO₄. It may cause skin irritation and burns.

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

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

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

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

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

4.10. Do not mix reagents from different lots.

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

4.12. Do not pipette reagents by mouth.

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

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

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

5.1. Contents of the Kit

5. KIT COMPONENTS

Symbol	Description	Qty	Units	Colour code	Stability of opened/diluted components
1 SORB MTP	CA125 EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp.date
2 CAL 1-6	Calibrator set, 0.8 ml each, zero calibrator C1 – 6 ml The set contains 6 calibrators: 0; 25; 50;100; 200, 400 U/ml	6	pcs	red (C1 – colourless)	2 months
3 CONTROL	Control serum (0.8 ml)	1	pcs	colourless	2 months
4 CONJ HRP	Conjugate, 7 ml	1	pcs	red	until exp.date
5 SUBS TMB	Substrate solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
6 BUF WASH 26X	Washing solution concentrate 26X, 22 ml	1	pcs	colourless	Concentrate – until exp.date Diluted washing solution – 45 days at 2-8 °C or 15 days at RT
7 STOP	Stop solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
8 N003	Plate sealing tape	2	pcs		N/A
9 K2221	Instruction CA125 EIA	1	pcs		N/A
10 K222Q	QC data sheet CA125 EIA	1	pcs		N/A

5.2. Equipment and material required but not provided

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

5.3. Storage and stability of the Kit

Store the whole kit at 2 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 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	Pipet 50 µl of calibrators CAL 1–6, control samples CONTROL and unknown samples into the wells.
4	Dispense 50 µl of CONJ HRP 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

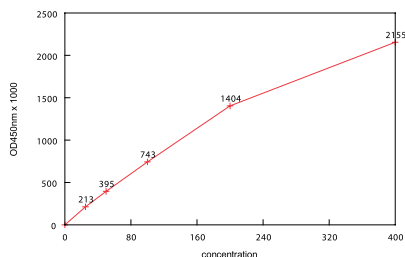
9.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

9.2. Plot a calibration curve on graph paper: OD versus CA125 concentration.

9.3. Determine the corresponding concentration of CA125 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 U/ml	0.05
CAL 2	25 U/ml	0.26
CAL 3	50 U/ml	0.45
CAL 4	100 U/ml	0.79
CAL 5	200 U/ml	1.45
CAL 6	400 U/ml	2.20



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 CA125. 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, U/ml	
	Lower limit	Upper limit
Males	-	35
Females	-	35
Pregnancy week:		
1st trimester	-	60
2nd trimester	-	150
3rd trimester	-	200
Lactation	-	80

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

Analyte	Cross-reactivity, % wt/wt
CEA	<0.1
CA19.9	<0.1
CA15-3	<0.1


















11.2. Analytical sensitivity. Sensitivity of the assay was assessed as being 0.25 U/ml.

11.3. Linearity. Linearity was checked by assaying dilution series of 5 samples with different CA125 concentrations. Linearity percentages obtained ranged within 90 to 110%.

11.4. Recovery. Recovery was estimated by assaying 5 mixed samples with known CA125 concentrations. The recovery percentages ranged from 90 to 110%.

12. LITERATURE

- Engall, E., Methods in Enzymology, Volume 70, Van Vunakis, H. and Langone, J. J. (eds.), Academic Press, New York, 419- 492. (1980).
- Uotila, M., Ruoslahti, E. and Engvall, E., J. Immunol. Methods, 42, 11-15 (1981).
- Kenemans P, Yedema CA, Bon GG, von Mensdorff-Pouilly S. Ca125 in gynecological pathology a review. Eur J Obstet Gynecol 1993; 49:115-124.
- Saksela F. Prognostic markers in epithelial ovarian cancer. Intl J Gynecol Pathol 1993; 12:156-161.
- Farghaly SA. Tumor markers in gynecologic cancer. Gynecol & Obstet Invest 1992; 34:65-72.
- Welander CE. What do CA 125 and other antigens tell us about ovarian cancer biology. Acta Obstet Gynecol Scand Sup 1992; 155:85-93.
- McGowan L. Pathology of the ovary. Curr Opin on Obstet Gynecol 1991; 3:580-586.
- Niloff JM. Ovarian malignancy. Curr Opin on Obstet Gynecol 1991; 3:66-72.
- Olt G, Berchuck A, Bast RC. The role of tumor markers in gynecologic oncology. Obstet Gynecol Survey 1990; 45:-: 570-577.

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

Уважаемый Клиент!

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

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

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

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



Russian Diagnostic
Manufacturers Association



Классический российский
производитель средств лабораторной
диагностики



Russian Association
of Medical Laboratory
Diagnosticians



Российская ассоциация
медицинской лабораторной
диагностики

Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

8 800 505 23 45

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

Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

105043, г. Москва, а/я 58

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

тел.: +7 (495) 510-57 07, 737-39-36;

факс: +7 (495) 737-00-40

e-mail: info@xema.ru

www.xema-medica.com

ФООО «Хема», тел.: +7 (812) 271-24-41

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

e-mail: spb@xema.ru

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

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

литер А, корп. 8/К, офис 416

e-mail: hemma-test@yandex.ru

ТОВ «Хема», тел.: (044) 422-62-16;

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
АЛЬФА-ФЕТОПРОТЕИНА
В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ**

«АФП-ИФА»

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

AFP EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ REF **K225**

ТУ № 9398-028-18619450-2007

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
№ ФСР 2007/00738 от 10 октября 2013 года

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



For 96 determinations/На 96 определений



Для *in vitro* диагностики

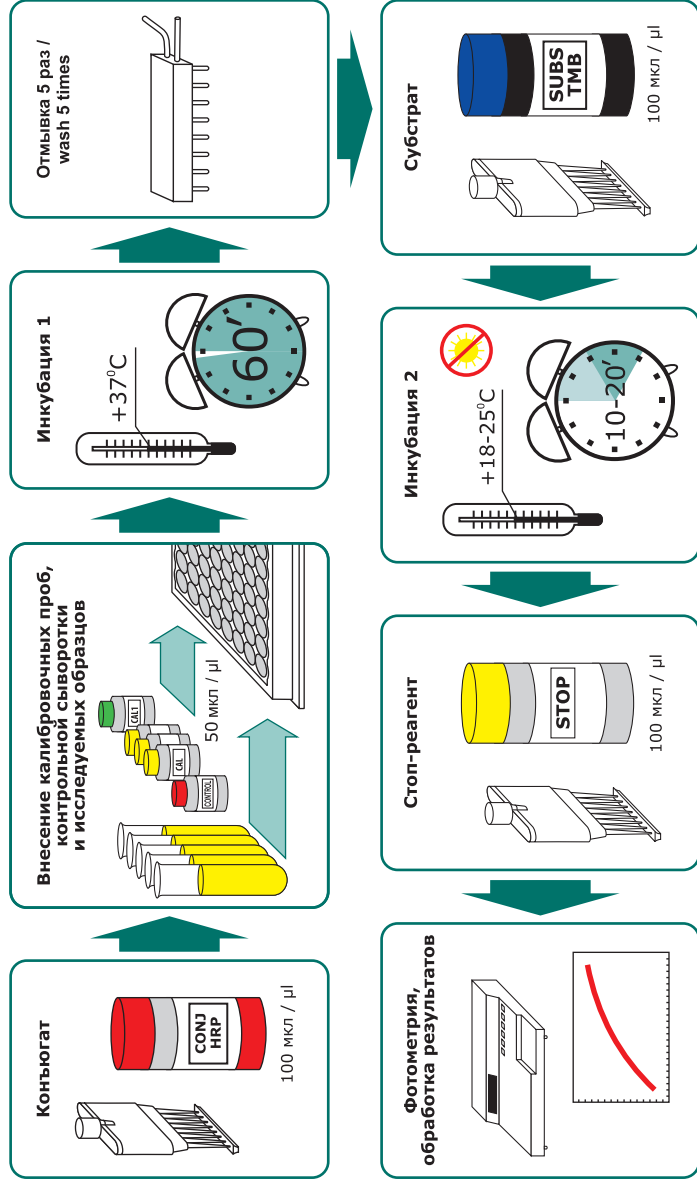


XEMA Co., Ltd.
The 9th Parkovaya str., 48
105264 Moscow, Russia
Tel./fax: +7(495) 510-57-07
e-mail: redkin@xema-medica.com
internet: www.xema-medica.com



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

Схема проведения анализа / Test procedure



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

СОДЕРЖАНИЕ

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

CONTENT

1. INTENDED USE	10
2. SUMMARY AND EXPLANATION	10
3. PRINCIPLE OF THE TEST	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 АЛЬФА-ФЕТОПРОТЕИНА В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «АФП-ИФА»

Рекомендована к утверждению Научно-экспертным Советом по медицинским изделиям

1. НАЗНАЧЕНИЕ

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

1.2. Альфа-фетопротеин (АФП) – гликопротеин с молекулярной массой около 65 кДа, секретирующийся плодной печенью и желточным мешком. АФП является основным белком плодной сыворотки, у взрослых содержание АФП в сыворотке крови незначительно. Определение АФП в сыворотке крови используется для первичной диагностики и мониторинга гепатоцеллюлярного рака печени, эмбриональноклеточных опухолей яичников и яичек, тератом и тератокарцином любой локализации. Определение АФП в сыворотке крови беременных женщин или в амниотической жидкости в период с 15 до 20 недели служит одним из лабораторных методов выявления тяжелой врожденной патологии плода – синдрома Дауна и дефектов нервной трубки.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

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

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

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

Аналит	Перекрестная реакция, %
Сывороточный альбумин	<0.1
ХГ	<0.1
Плацентарный лактоген	<0.1

3.2. Воспроизводимость.

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

3.3. Линейность.

Зависимость концентрации АФП в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей АФП, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 5–500 МЕ/мл и составляет $\pm 10.0\%$.

3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации АФП предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 15.0 МЕ/мл. Процент «открытия» составляет 90–110%.

3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «АФП-ИФА» концентрация АФП в сыворотке (плазме) крови не превышает 0.9 МЕ/мл.

3.6. Хук-эффект (hook-effect) высоких концентраций.

При использовании Набора «АФП-ИФА» хук-эффект не обнаружен до концентрации АФП 12000 МЕ/мл.

4. СОСТАВ НАБОРА

Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1	P225Z	ПЛАНШЕТ 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2	C225Z	КАЛИБРОВОЧНЫЕ ПРОБЫ на основе трис-буфера (рН 7.2-7.4), содержащие известные количества альфа-фетопротеина – 0; 5; 15; 50; 150; 500 МЕ/мл, готовы к использованию (калибровочная проба 0 МЕ/мл – 6 мл, остальные – по 0.8 мл каждая)	6	шт.	прозрачные жидкости красного цвета (калибровочная проба 0 – прозрачная бесцветная жидкость)
3	Q225Z	КОНТРОЛЬНАЯ СЫВОРОТКА на основе сыворотки крови человека с известным содержанием альфа-фетопропротеина, готова к использованию (0.8 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
4	T225Z	КОНЬЮГАТ, готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость красного цвета
5	R055Z	РАСТВОР СУБСТРАТА ТЕТРАМЕТИЛБЕНЗИДИНА (ТМБ), готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
6	S008Z	КОНЦЕНТРАТ ОТМЫВОЧНОГО РАСТВОРА (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26х-кратный (22 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
7	R050Z	СТОП-РЕАГЕНТ, готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
8	N003	Бумага для заклеивания планшета	2	шт.	-
9	K225I	Инструкция по применению Набора реагентов «АФП-ИФА»	1	шт.	-
10	K225Q	Паспорт контроля качества Набора реагентов «АФП-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 25–250 мкл;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- бумага фильтровальная.

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

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

7.2. Приготовление планшета.

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

7.3. Приготовление отмывочного раствора.

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

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов – исследуемые образцы в 2 повторах и 14 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки.
2	Если предполагается концентрация АФП в исследуемом образце превышает 500 МЕ/мл, его следует дополнительно развести; используя калибровочную пробу 0. Использование других буферов и реагентов для разбавления образцов может исказить результаты определения! Примечание. Для получения надежных результатов рекомендуется использовать несколько последовательных разведений исследуемого образца сыворотки (плазмы) крови.
3	Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.
4	Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 50 мкл калибровочной пробы и контрольной сыворотки. В остальные лунки внесите в дубликатах по 50 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови. Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
5	Заклейте планшет бумагой для 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 представляйте по калибровочной пробе С1.
10	Постройте в линейных координатах калибровочный график: ось абсцисс (х) – концентрация АФП в калибровочных пробах (МЕ/мл), ось ординат (у) – оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма обсчета (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод.
11	Определите по калибровочному графику содержание АФП 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 АФП в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0.9 МЕ/мл), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (500 МЕ/мл) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация АФП ниже 0.9 МЕ/мл или выше 500 МЕ/мл.

В Наборе «АФП-ИФА» значения концентраций калибровочных проб выражены в МЕ/мл. Для пересчета концентраций в нг/мл, полученное значение концентрации в МЕ/мл следует умножить на 1.25.

$$1 \text{ МЕ/мл} = 1.25 \text{ нг/мл}$$

Исследуемая группа	Единицы, МЕ/мл		Единицы доп., нг/мл	
	Нижний предел	Верхний предел	Нижний предел	Верхний предел
Здоровые доноры	-	10.0	-	12.5

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

Беременные, неделя	Медиана, МЕ/мл	СКО
14	21.7	0.43
15	28.3	0.47
16	30.0	0.51
17	36.3	0.49
18	43.8	0.52
19	53.3	0.50
20	60.0	0.55
21	63.3	0.57

11. ЛИТЕРАТУРА

1. Johnson, P.J, (2002) Tumor Markers in Primary Malignancies of the liver. In «Tumor Markers: Physiology, pathobiology, technology and clinical applications», ed. Dimandis E.P. AACCC Press, Washington pp 269-276.
2. Stenman, U-H and Alfthan, H. (2002) Markers for Testicular Cancer. In «Tumor Markers: Physiology, pathobiology, technology and clinical applications», ed. Dimandis E.P. AACCC Press, Washington, pp 351-359.
3. Christiansen, M. et al. Alpha-fetoprotein in plasma and serum of healthy adults: preanalytical, analytical and biological sources of variation and construction of age-dependent reference intervals. Scand J Invest 2001 61: 205-216.
4. Trape, J. et al. Reference change value for a-Fetoprotein and its application in early detection of hepatocellular carcinoma in patients with hepatic disease. Clin Chem 2003 49(7): 1209-1211.

По вопросам, касающимся качества Набора **«АФП-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 ALPHA-FETOPROTEIN IN HUMAN SERUM OR PLASMA

1. INTENDED USE

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

This kit is designed for measurement of alpha-fetoprotein 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

Alpha-fetoprotein (AFP) is a glycoprotein with a MW ca. 65 kDa which is secreted by fetal liver and yolk sac. AFP represents the main protein of fetal serum while being found in trace quantities in adults. Serum AFP quantitative determination is used in primary diagnostics and monitoring of hepatocellular liver cancer, trophoblastic tumours of testicles and ovary as well as theratomas and theratocarcinomas. Quantitative determination of AFP in serum of pregnant women or in amniotic fluid during week 15-20 of gestation is widely used for laboratory screening of Down syndrome and defects of spinal cord.

3. PRINCIPLE OF THE TEST

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

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

4.1. For professional use only.

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

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

4.4. Avoid contact with stop solution containing 5.0% H₂SO₄. It may cause skin irritation and burns.

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

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

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

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

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

4.10. Do not mix reagents from different lots.

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

4.12. Do not pipette reagents by mouth.

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

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

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

5.1. Contents of the Kit

5. KIT COMPONENTS

Symbol	Description	Qty	Units	Colour code	Stability of opened/diluted components	
1	SORB MTP AFP EIA strips, 8x12 wells	polystyrene microwells coated with murine monoclonal to human AFP	1	pcs	until exp. date	
2	CAL 1-6 Calibrator set, 0.8 ml each, zero calibrator C1 - 6 ml. The set contains 6 calibrators: 0; 5; 15; 50; 150; 500 IU/ml	human alpha-fetoprotein diluted in tris buffered BSA solution, preservative - 0.01% Bronidox L, 0.01% 2-Methyl-4-isothiazolin-3-one-hydrochloride; also contains red dye	6	pcs	red (C1 - colourless)	2 months
3	CONTROL Control serum (0.8 ml)	dilution of preselected human serum, with high content of alpha-fetoprotein with BSA solution; preservative - 0.01% Bronidox L, 0.01% 2-Methyl-4-isothiazolin-3-one-hydrochloride, colourless	1	pcs	colourless	2 months
4	CONJ HRP Conjugate, 14 ml	aqueous solution of murine monoclonal to human AFP coupled with horseradish peroxidase diluted on phosphate buffered solution with casein from bovine milk and detergent (Tween-20), contains 0.1% phenol as preservative and red dye	1	pcs	red	until exp. date
5	SUBS TMB 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	K2251 Instruction AFP EIA		1	pcs		N/A
10	K225Q QC data sheet AFP EIA		1	pcs		N/A

5.2. Equipment and material required but not provided

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

5.3. Storage and stability of the Kit

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

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

6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

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

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

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

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

7.2. Procedural Note:

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

7.3. Assay flowchart

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

7.4. Alternative units:

1 IU/ml = 1.25 ng/ml

7.5. Assay procedure

1	Put the desired number of microstrips into the frame; allocate 14 wells for the calibrators CAL 1-6 and control samples CONTROL and two wells for each unknown sample. DO NOT REMOVE ADHESIVE SEALING TAPE FROM UNUSED STRIPS.
2	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.

7.6. Handling notes

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

8. QUALITY CONTROL

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

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

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

9. CALCULATION OF RESULTS

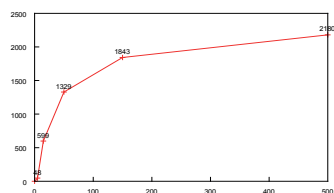
9.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

9.2. Plot a calibration curve on graph paper: OD versus alpha-fetoprotein concentration.

9.3. Determine the corresponding concentration of alpha-fetoprotein 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	0.05
CAL 2	5 IU/ml	0.098
CAL 3	15 IU/ml	0.604
CAL 4	50 IU/ml	1.334
CAL 5	150 IU/ml	1.893
CAL 6	500 IU/ml	2.230



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 AFP. Based on data obtained by XEMA, the following normal range is recommended (see below). NOTE: the patients that have received murine monoclonal antibodies for radioimaging or immunotherapy develop high titered anti-mouse antibodies (HAMA). The presence of these antibodies may cause false results in the present assay. Sera from HAMA positive patients should be treated with depleting adsorbents before assaying.

Sex, age	Units, IU/ml		Units alternative, ng/ml	
	Lower limit	Upper limit	Lower limit	Upper limit
Healthy donors	-	10.0	-	12.5

Pregnancy, week	Median, IU/ml	SKO
14	21.7	0.43
15	28.3	0.47
16	30.0	0.51
17	36.3	0.49
18	43.8	0.52
19	53.3	0.50
20	60.0	0.55
21	63.3	0.57

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

Analyte	Cross-reactivity, % wt/wt
Albumin	<0.1
hCG	<0.1
Lactogen	<0.1

11.2. Analytical sensitivity

Sensitivity of the assay was assessed as being 0.9 IU/ml.

11.3. Linearity

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

11.4. Recovery


















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

11.5. Hook-effect

No hook-effect has been noticed with samples up to 12000 IU/ml.

12. LITERATURE

1. Johnson, P.J, (2002) Tumor Markers in Primary Malignancies of the liver. In «Tumor Markers: Physiology, pathobiology, technology and clinical applications», ed. Dimandis E.P. AACC Press, Washington pp 269-276.
2. Stenman, U-H and Alfthan, H. (2002) Markers for Testicular Cancer. In «Tumor Markers: Physiology, pathobiology, technology and clinical applications», ed. Dimandis E.P. AACC Press, Washington, pp 351-359.
3. Christiansen, M. et al. Alpha-fetoprotein in plasma and serum of healthy adults: preanalytical, analytical and biological sources of variation and construction of age-dependent reference intervals. Scand J Invest 2001 61: 205-216.
4. Trape, J. et al. Reference change value for a-Fetoprotein and its application in early detection of hepatocellular carcinoma in patients with hepatic disease. Clin Chem 2003 49(7): 1209-1211.

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

Уважаемый Клиент!

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

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

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

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



Russian Diagnostic
Manufacturers Association



Российская ассоциация
производителей средств медицинской
лабораторной диагностики



Russian Association
of Medical Laboratory
Diagnosticians



Российская ассоциация
медицинской лабораторной
диагностики

Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

8 800 505 23 45

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

Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

105043, г. Москва, а/я 58

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

тел.: +7 (495) 510-57 07, 737-39-36;

факс: +7 (495) 737-00-40

e-mail: info@xema.ru

www.xema-medica.com

ФООО «Хема», тел.: +7 (812) 271-24-41

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

e-mail: spb@xema.ru

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

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

литер А, корп. 8/К, офис 416

e-mail: hemma-test@yandex.ru

ТОВ «Хема», тел.: (044) 422-62-16;

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

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com





Instruction for use



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

«сВПСА-ИФА»

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

fPSA EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF** **K231**

ТУ № 9398-231-18619450-2011

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



For 96 determinations/На 96 определений

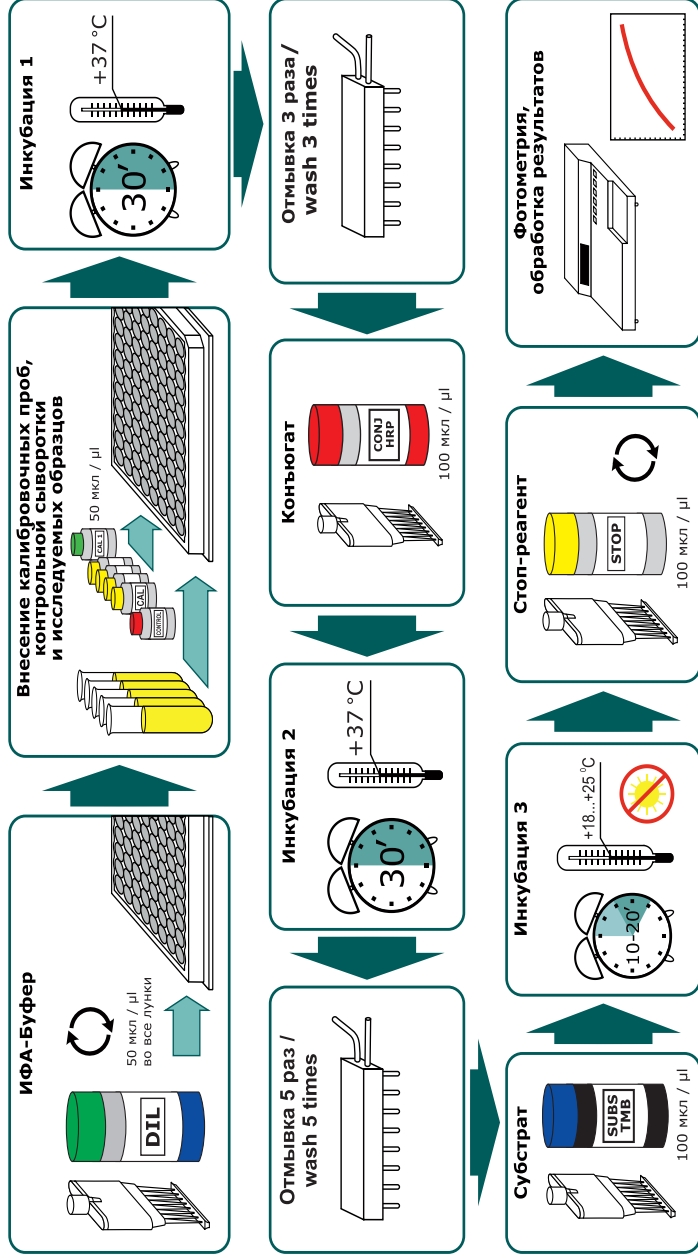


Для *ин витро* диагностики



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

Схема проведения анализа / Test procedure



K200, K223, K231

СОДЕРЖАНИЕ

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

CONTENT

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

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

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

1. НАЗНАЧЕНИЕ

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

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

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

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

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

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

3.2. Воспроизводимость.

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

3.3. Линейность.

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

3.4. Точность.

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

3.5. Чувствительность.

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

4. СОСТАВ НАБОРА

Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1 P221Z	SORB MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2 C231Z	CAL 1-5	Калибровочные пробы на основе трис-буфера (pH 7.2-7.4), содержащие известные количества свободного ПСА – 0; 0.25; 0.75; 2.5; 5 нг/мл , готовы к использованию (по 0.8 мл каждая)	5	шт.	прозрачные жидкости синего цвета (калибровочная проба 0 – прозрачная бесцветная жидкость)
3 Q231Z	CONTROL	Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием свободного ПСА, готова к использованию (0.8 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
4 T231Z	CONJ HRP	Конъюгат , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость пурпурного цвета
5 S011Z	DIL	ИФА-Буфер , готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная жидкость синего цвета
6 R055Z	SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
7 S008Z	BUF WASH 26X	Концентрат отмывочного раствора (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26x-кратный (22 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
8 R050Z	STOP	Стоп-реагент , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
9 N003	-	Бумага для заклеивания планшета	2	шт.	-
10 K231I	-	Инструкция по применению Набора реагентов «свПСА-ИФА»	1	шт.	-
11 K231Q		Паспорт контроля качества Набора реагентов «свПСА-ИФА»	1	шт.	

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

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

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

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

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

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

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

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

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

7.2. Приготовление планшета.

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

7.3. Приготовление отмывочного раствора.

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

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов – исследуемые образцы в 2 повторах и 12 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки.
2	Внесите во все лунки планшета по 50 мкл ИФА-Буфера.
3	Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 50 мкл калибровочной пробы и контрольной сыворотки. В остальные лунки внесите в дубликатах по 50 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови. Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
4	Аккуратно перемешайте содержимое планшета круговыми движениями по горизонтальной поверхности, закройте планшет бумагой для заклеивания планшета. Инкубируйте планшет в течение 30 минут при температуре +37 °С.
5	По окончании инкубации удалите содержимое лунки аспирацией (например, с помощью водоструйного насоса) или декантированием и отмойте лунки 3 раза. При каждой отмывке добавьте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п. 7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок.
6	Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.
7	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте его в течение 30 минут при температуре +37 °С.
8	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз.
9	Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина. Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2–3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25°C) в течение 10–20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.
10	Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
11	Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм. Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра выставляйте по калибровочной пробе С1.
12	Постройте в линейных координатах калибровочных график: ось абсцисс (х) – концентрация свПСА в калибровочных пробах (нг/мл), ось ординат (у) – оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма обчета (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод.
13	Определите по калибровочному графику содержание свПСА в исследуемых образцах.

10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ

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

Примечание. Определение соотношения свПСА/обПСА следует проводить на Наборах одной фирмы-производителя.

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

Доброкачественные состояния	>10.0
Аденокарцинома простаты	<10.0

11. ЛИТЕРАТУРА

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

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

электронная почта: info@xema.ru; rqc@xema.ru
интернет: www.xema.ru; www.xema-medica.com

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

Instruction for use

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

1. INTENDED USE

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

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

2. SUMMARY AND EXPLANATION

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

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

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

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

3. PRINCIPLE OF THE TEST

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

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

4.1. For professional use only.

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

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

4.4. Avoid contact with stop solution containing 5.0% H₂SO₄. It may cause skin irritation and burns.

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

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

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

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

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

4.10. Do not mix reagents from different lots.

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

4.12. Do not pipette reagents by mouth.

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

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

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

5.1. Contents of the Kit

5. KIT COMPONENTS

Symbol	Description	Qty	Units	Colour code	Stability of opened/diluted components
1	fPSA EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp.date
2	polystyrene microwells coated with murine monoclonal to human PSA	5	pcs	blue (CI – colourless)	2 months
3	human free PSA diluted in tris buffered BSA solution, preservative – 0.01% Bronidox L, 0.01% 2-Methyl-4-isothiazolin-3-one-hydrochloride; also contains blue dye	1	pcs	colourless	2 months
4	dilution of preselected human serum, with high content of free PSA with BSA solution; preservative – 0.01% Bronidox L, 0.01% 2-Methyl-4-isothiazolin-3-one-hydrochloride, colourless	1	pcs	purple	until exp.date
5	aqueous solution of murine monoclonal to human free PSA coupled with horseradish peroxidase diluted on phosphate buffered solution with casein from bovine milk and detergent (Tween-20), contains 0.1% phenol as preservative and purple dye	1	pcs	blue	until exp.date
6	phosphate buffered saline with casein from bovine milk and detergent (Tween-20), contains 0.1% phenol as preservative; contains blue dye	1	pcs	colourless	until exp.date
7	ready-to-use single-component tetramethylbenzidine (TMB) solution.	1	pcs	colourless	Concentrate – until exp.date Diluted washing solution – 45 days at 2-8 °C or 15 days at RT
8	aqueous solution of sodium chloride and detergent (Tween 20), contains proClin300 as a preservative	1	pcs	colourless	until exp.date
9	5.0% vol/vol solution of sulphuric acid	2	pcs		N/A
10	Plate sealing tape	1	pcs		N/A
11	Instruction fPSA EIA	1	pcs		N/A
	QC data sheet fPSA EIA	1	pcs		N/A

5.2. Equipment and material required but not provided

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

5.3. Storage and stability of the Kit

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

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

6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

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

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

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

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

7.2. Procedural Note:

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

7.3. Assay flowchart

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

7.4. Assay procedure

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

7.5. Handling notes

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

8. QUALITY CONTROL

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

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

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

9. CALCULATION OF RESULTS

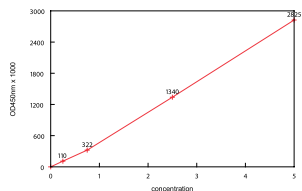
9.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

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

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

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

Calibrators	Value	Absorbance Units (450 nm)
CAL 1	0 ng/ml	0.08
CAL 2	0.25 ng/ml	0.19
CAL 3	0.75 ng/ml	0.40
CAL 4	2.5 ng/ml	1.42
CAL 5	5 ng/ml	2.90



10. EXPECTED VALUES

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

Valid only for tPSA concentrations greater than 4.0 ng/ml

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

Benign prostatic diseases	>10.0
Prostatic carcinoma	<10.0

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical sensitivity

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

11.2. Linearity


















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

11.3. Recovery

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

12. LITERATURE

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

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

Уважаемый Клиент!

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

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

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

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



Russian Diagnostic
Manufacturers Association



Российская ассоциация
производителей средств медицинской
лабораторной диагностики



Russian Association
of Medical Laboratory
Diagnosticians



Российская ассоциация
медицинской лабораторной
диагностики

Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

8 800 505 23 45

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

Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

105043, г. Москва, а/я 58

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

тел.: +7 (495) 510-57 07, 737-39-36;

факс: +7 (495) 737-00-40

e-mail: info@xema.ru

www.xema-medica.com

ФООО «Хема», тел.: +7 (812) 271-24-41

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

e-mail: spb@xema.ru

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

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

литер А, корп. 8/К, офис 416

e-mail: hemma-test@yandex.ru

ТОВ «Хема», тел.: (044) 422-62-16;

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

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com





Instruction for use



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

«св β ХГ-ИФА»

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

free β -HCG EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ REF **K235**

ТУ № 9398-030-18619450-2007

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



For 96 determinations/На 96 определений



Для *in vitro* диагностики



XEMA Co., Ltd.

The 9th Parkovaya str., 48

105264 Moscow, Russia

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

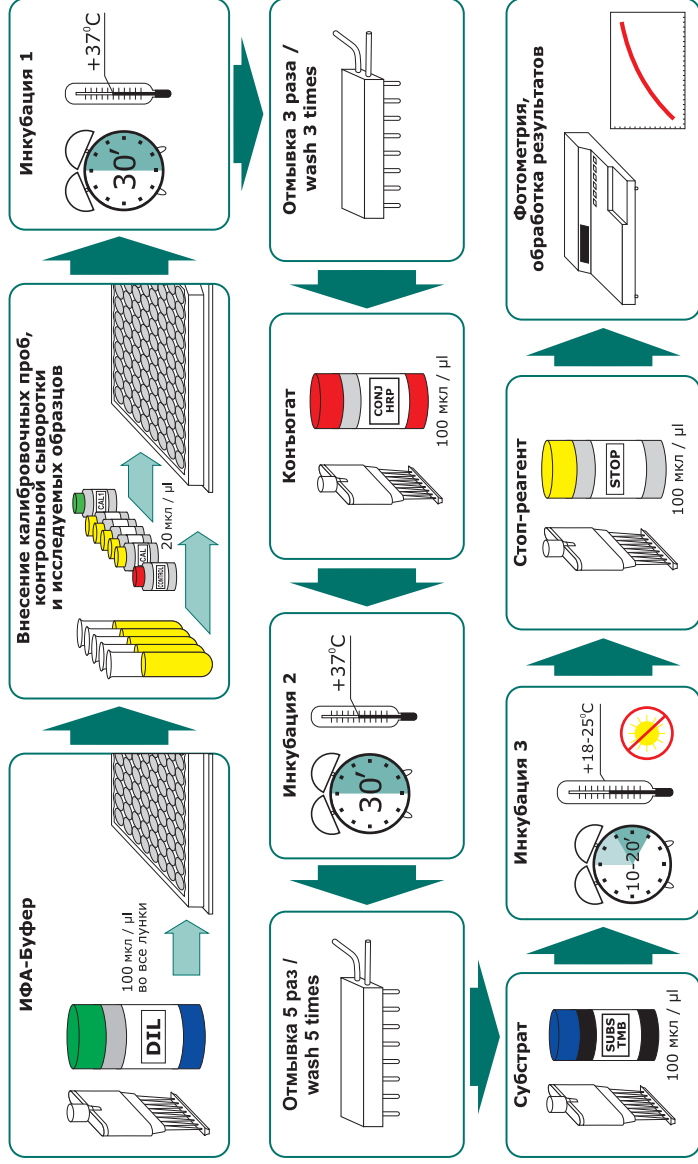
e-mail: redkin@xema.ru

internet: www.xema-medica.com



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

Схема проведения анализа / Test procedure



K235

СОДЕРЖАНИЕ

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

CONTENT

1. INTENDED USE	10
2. SUMMARY AND EXPLANATION	10
3. PRINCIPLE OF THE TEST	11
4. WARNINGS AND PRECAUTIONS	11
5. KIT COMPONENTS	12
6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE	13
7. TEST PROCEDURE	13
8. QUALITY CONTROL	14
9. CALCULATION OF RESULTS	15
10. EXPECTED VALUES	15
11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS	16
12. LITERATURE	16

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

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СВОБОДНОЙ β СУБЪЕДИНИЦЫ ХГ В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «св β ХГ-ИФА»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

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

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

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

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

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность.

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

3.2. Воспроизводимость.

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

3.3. Линейность.

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

3.4. Точность.

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

3.5. Чувствительность.

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

4. СОСТАВ НАБОРА

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

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

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

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

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

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

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность содержимого лунок планшета при длине волны 450 нм;
- термостат, поддерживающий температуру $+37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$;
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы в диапазоне 20–250 мкл;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- бумага фильтровальная.

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

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

7.2. Приготовление планшета.

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

7.3. Приготовление отмывочного раствора.

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

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов – исследуемые образцы в 2 повторах и 12 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки.
2	Если предполагаемая концентрация свРХГ в исследуемом образце превышает 250 нг/мл, его следует дополнительно развести, используя ИФА-Буфер (S01122). Использование других буферов и реагентов для разбавления образцов может исказить результаты определения! Примечание. Для получения надежных результатов рекомендуется использовать несколько последовательных разведений исследуемого образца сыворотки (плазмы) крови.
3	Внесите во все лунки планшета по 100 мкл ИФА-Буфера.
4	Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 20 мкл калибровочной пробы и контрольной сыворотки. В остальные лунки внесите в дубликатах по 20 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови. Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
5	Аккуратно перемешайте содержимое планшета круговыми движениями по горизонтальной поверхности, заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета. Инкубируйте планшет в течение 30 минут при температуре +37 °С.
6	По окончании инкубации удалите содержимое лунок аспирацией (например, с помощью водоструйного насоса) или декантированием и отмойте лунки 3 раза. При каждой отмывке добавьте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п. 7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок.
7	Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.
8	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте его в течение 30 минут при температуре +37 °С.
9	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз.
10	Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина. Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2–3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °С) в течение 10–20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.
11	Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
12	Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм. Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра выставляйте по калибровочной пробе С1.

Продолжение таблицы на стр. 8

13	Постройте в линейных координатах калибровочный график: ось абсцисс (x) – концентрация сврХГ в калибровочных пробах (нг/мл), ось ординат (y) – оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма обчета (апроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод.
14	Определите по калибровочному графику содержание сврХГ в исследуемых образцах. Если исследуемый образец предразводили (см. п.2), умножьте полученный результат на фактор разведения.

10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ

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

Примечание. Значения концентраций сврХГ в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (1.0 нг/мл), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (250 нг/мл) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация сврХГ ниже 1.0 нг/мл или выше 250 нг/мл.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

11. ЛИТЕРАТУРА

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

По вопросам, касающимся качества Набора «св β ХГ-ИФА», следует обращаться в ООО «ХЕМА» по адресу:
105043, г. Москва, а/я 58
105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1-й под., 5 этаж,
тел/факс (495) 737-39-36, 737-00-40, 510-57-07 (многоканальный)
электронная почта: info@xema.ru; rqs@xema.ru
интернет: www.xema.ru; www.xema-medica.com

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

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

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

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

2. SUMMARY AND EXPLANATION

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

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

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

3. PRINCIPLE OF THE TEST

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

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

4.1. For professional use only.

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

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

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

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

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

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

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

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

4.10. Do not mix reagents from different lots.

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

4.12. Do not pipette reagents by mouth.

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

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

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

5. KIT COMPONENTS **5.1. Contents of the Kit**

Symbol	Description	Qty	Units	Colour code	Stability of opened/diluted components
1	free β -HCG EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp.date
2	Calibrator set, 0.8 ml each. The set contains 5 calibrators: 0; 10; 50; 120; 250 ng/ml	5	pcs	green (C1 – colourless)	2 months
3	Control serum (0.8 ml)	1	pcs	colourless	2 months
4	Conjugate, 14 ml	1	pcs	purple	until exp.date
5	EIA buffer 22 ml	1	pcs	blue	until exp.date
6	Substrate solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
7	Washing solution concentrate 26X, 22 ml	1	pcs	colourless	Concentrate – until exp.date Diluted washing solution – 45 days at 2-8 °C or 15 days at RT
8	Stop solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
9	Plate sealing tape	2	pcs		N/A
10	Instruction free β -HCG EIA	1	pcs		N/A
11	QC data sheet free β -HCG EIA	1	pcs		N/A

5.2. Equipment and material required but not provided

- Distilled or deionized water;
- Automatic or semiautomatic multichannel micropipettes, 100–250 µl, is useful but not essential;
- Calibrated micropipettes with variable volume, range volume 20–250 µl;
- Dry thermostat for +37 °C ±0.1 °C;
- Calibrated microplate photometer with 450 nm wavelength and OD measuring range 0–3.0.

5.3. Storage and stability of the Kit

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

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

6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

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

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

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

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

7.2. Procedural Note:

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

7.3. Assay flowchart

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

7.4. Assay procedure

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

8. QUALITY CONTROL

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

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

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

9. CALCULATION OF RESULTS

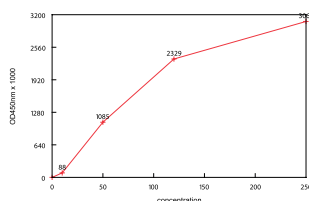
9.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

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

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

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

Calibrators	Value	Absorbance Units (450 nm)
CAL 1	0 ng/ml	0.05
CAL 2	10 ng/ml	0.14
CAL 3	50 ng/ml	1.13
CAL 4	120 ng/ml	2.38
CAL 5	250 ng/ml	3.12



10. EXPECTED VALUES

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

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

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

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

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

11.2. Analytical sensitivity

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

11.3. Linearity
















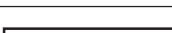
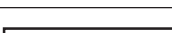
Linearity was checked by assaying dilution series of 5 samples with different free β -HCG concentrations. Linearity percentages obtained ranged within 90 to 110%.

11.4. Recovery

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

12. LITERATURE

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

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

Уважаемый Клиент!

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

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

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

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



Russian Diagnostic
Manufacturers Association



Классический российский
профессиональный союз клинических
лабораторных диагностов



Russian Association
of Medical Laboratory
Diagnosticians



Российская ассоциация
медицинской лабораторной
диагностики

Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

8 800 505 23 45

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

Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

105043, г. Москва, а/я 58

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

тел.: +7 (495) 510-57 07, 737-39-36;

факс: +7 (495) 737-00-40

e-mail: info@xema.ru

www.xema-medica.com

ФООО «Хема», тел.: +7 (812) 271-24-41

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

e-mail: spb@xema.ru

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

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

литер А, корп. 8/К, офис 416

e-mail: hemma-test@yandex.ru

ТОВ «Хема», тел.: (044) 422-62-16;

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

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com





Instruction for use



**НАБОР РЕАГЕНТОВ
ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
АССОЦИИРОВАННОГО С БЕРЕМЕННОСТЬЮ
БЕЛКА ПЛАЗМЫ А (ПАББ-А)
В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ**

«ПАББ-А-ИФА»

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

PAPP-A EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ REF **K238**

ТУ № 9398-031-18619450-2007

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
№ ФСР 2007/00739 от 18 марта 2014 г.



For 96 determinations/На 96 определений



Для *in vitro* диагностики



XEMA Co., Ltd.

The 9th Parkovaya str., 48

105264 Moscow, Russia

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

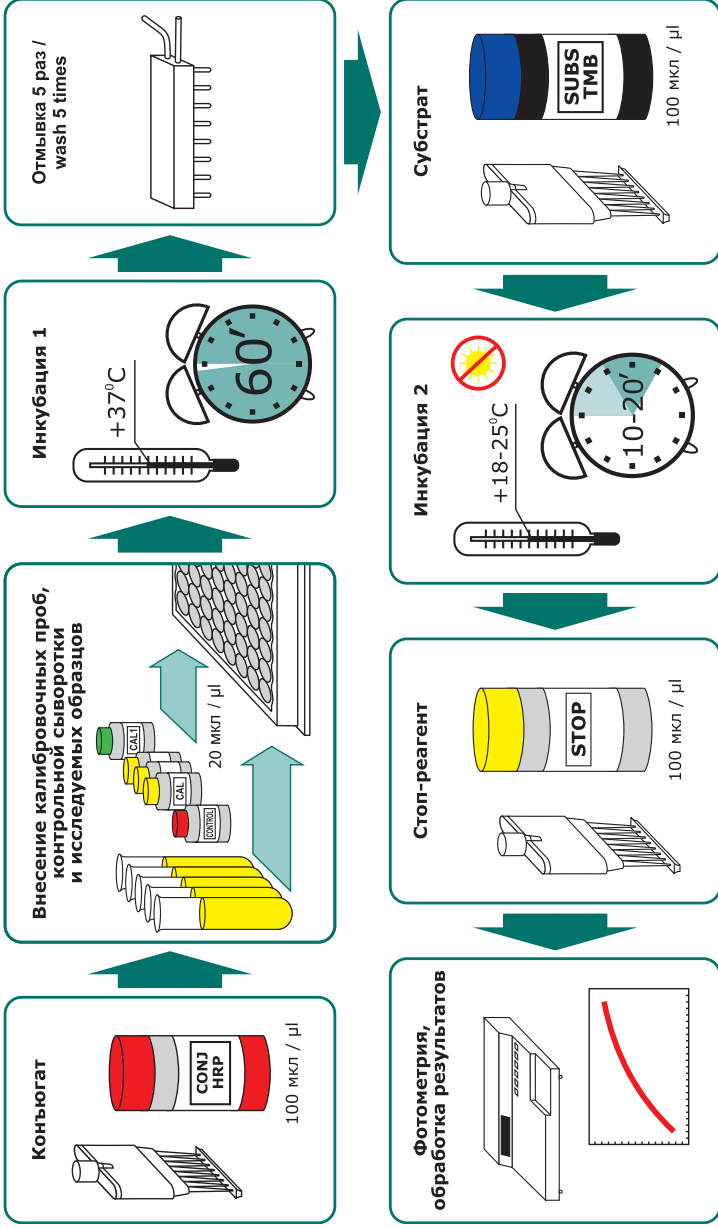
e-mail: redkin@xema-medica.com

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



K238

СОДЕРЖАНИЕ

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

CONTENT

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

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

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АССОЦИИРОВАННОГО С БЕРЕМЕННОСТЬЮ БЕЛКА ПЛАЗМЫ А (ПАББ-А) В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «ПАББ-А-ИФА»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «ПАББ-А-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации ассоциированного с беременностью белка плазмы А (ПАББ-А) в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. PAPP-A (pregnancy-associated plasma protein A) или ассоциированный с беременностью белок плазмы А (АББПА, ПАББ-А) представляет собой гликопротеин, состоящий из двух субъединиц. При нормально протекающей беременности концентрация ПАББ-А в материнском кровотоке возрастает в течение первых двух триместров беременности. Функциональное назначение ПАББ-А во время беременности остается невыясненным. В первом триместре беременности при синдроме Дауна у плода наблюдается снижение уровня ПАББ-А в сыворотке крови матери. После 14-й недели беременности различия между синдромом Дауна и нормой исчезают. Измерение ПАББ-А может быть использовано в пренатальном скрининге беременности высокого риска. Определение ПАББ-А в первом триместре входит в состав одной из комбинаций тестов:

- ПАББ-А + свободная бета-цепь ХГЧ;
- ПАББ-А + свободная бета-цепь ХГЧ + толщина воротникового пространства при УЗИ плода.

Вне беременности и у мужчин сывороточный уровень ПАББ-А в норме крайне низкий и обычно находится ниже чувствительности методом иммуноанализа; в последнее время появляются указания на связь повышения уровня ПАББ-А с повышенным риском осложнений ишемической болезни сердца.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

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

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность.

Использование мышинных моноклональных антител к ПАББ-А позволяет достичь высокой специфичности анализа.

3.2. Воспроизводимость.

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

3.3. Линейность.

Зависимость концентрации ПАББ-А в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей ПАББ-А, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 100–10000 мЕд/л и составляет $\pm 10.0\%$.

3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации ПАББ-А предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 500 мЕд/л. Процент «открытия» составляет 90-110%.

3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «ПАББ-А-ИФА» концентрация ПАББ-А в сыворотке (плазме) крови не превышает 10 мЕд/л.

4. СОСТАВ НАБОРА

Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1 P238Z	SORB MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2 C238Z	CAL 1-6	Калибровочные пробы на основе трис-буфера (pH 7.2-7.4), содержащие известные количества ассоциированного с беременностью белка плазмы А (ПАББ-А) – 0; 100; 500; 1000; 5000; 10000 МЕА/л , готовы к использованию (по 0.6 мл каждая)	6	шт.	прозрачные жидкости синего цвета (калибровочная проба 0 – прозрачная бесцветная жидкость)
3 Q238Z	CONTROL	Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием ассоциированного с беременностью белка плазмы А (ПАББ-А), готова к использованию (0.6 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
4 T238Z	CONJ HRP	Конъюгат , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость синего цвета
5 R055Z	SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
6 S008Z	BUF WASH 26X	Концентрат отмывочного раствора (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 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 K238I	-	Инструкция по применению Набора реагентов «ПАББ-А-ИФА»	1	шт.	-
10 K238Q	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «ПАББ-А-ИФА»	1	шт.	-

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

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

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

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

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

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

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

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

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

7.2. Приготовление планшета.

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

7.3. Приготовление отмывочного раствора.

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

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

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

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

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

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

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

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

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

8.5. Исключается использование для анализа образцов сыворотки (плазмы) крови людей, получавших в целях диагностики или терапии препараты, в состав которых входят 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 ассоциированного с беременностью белка плазмы А (ПАББ-А) в контрольной сыворотке.

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

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

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов – исследуемые образцы в 2 повторах и 14 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки.
2	Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.
3	Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 20 мкл калибровочной пробы и контрольной сыворотки. В остальные лунки внесите в дубликатах по 20 мкл исследуемых образцов сыоротки (плазмы) крови. Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
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 тетраметилбензидаина. Внесение раствора субстрата тетраметилбензидаина 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 тетраметилбензидаина, 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 калибровочной пробе С1.
9	Постройте в линейных координатах калибровочный график: ось абсцисс (x) – концентрация ПАББ-А в калибровочных пробах (мЕд/л), ось ординат (y) – оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма обчета (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод.
10	Определите по калибровочному графику содержание ПАББ-А в исследуемых образцах.

10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ

Приведенные ниже медианы получены на основе анализа 1840 сывороток крови беременных женщин – жительниц Санкт-Петербурга и Ленинградской области – в НИИ акушерства и гинекологии им. Отта с помощью данного набора.

Приведенные в таблице значения имеют рекомендательный характер и могут использоваться для расчета риска синдрома Дауна только на этапе накопления собственных медиан в каждой лаборатории.

Значения медиан могут отличаться в различных географических зонах ввиду расовых и популяционных особенностей.

В соответствии с правилами *GLP* (Хорошей лабораторной практики), каждая лаборатория должна сама определить параметры нормы, характерные для обследуемой популяции.

По мере накопления новых данных о медианах данные будут уточняться – высылайте запросы на адрес gqc@xeta.ru

Для расчета риска синдрома Дауна с учетом данных других параметров первого триместра рекомендуется использовать программу КРСД-ХЕМА.

Примечание. Значения концентраций ПАББ-А в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (10 мЕд/л), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (10000 мЕд/л) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация ПАББ-А ниже 10 мЕд/л или выше 10000 мЕд/л.

В Наборе «ПАББ-А-ИФА» значения концентраций калибровочных проб выражены в мЕд/л. Для пересчета концентраций в мкг/мл, полученное значение концентрации в мЕд/л следует умножить на 0.0045.

1 мЕд/л = 0.0045 мкг/мл

Исследуемая группа	Единицы, мЕд/л		Единицы доп., мкг/мл	
	Нижний предел	Верхний предел	Нижний предел	Верхний предел
Мужчины	-	150	-	0.68
Женщины	-	150	-	0.68

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

Беременные, неделя	Медиана, мЕд/л	СКО
9 неделя	969	2.9
10 неделя	1279	3.3
11 неделя	2153	3.4
12 неделя	3205	3.4
13 неделя	4250	3.6

11. ЛИТЕРАТУРА

1. Schaelike M, Kossakiewicz M, Kossakiewicz A, Schild RL Examination of a first-trimester Down syndrome screening concept on a mix of 11,107 high- and low-risk patients at a private center for prenatal medicine in Germany. // Ultrasound Obstet

Gynecol. 2009 May;33(5):518-23

2. Wortelboer EJ, Koster MP, Stoutenbeek P, Elvers LH, Loeber JG, Visser GH, Schielen PC. First-trimester Down syndrome screening performance in the Dutch population; how to achieve further improvement? // Prenat Diagn. 2009 Mar 17. [Epub ahead of print]

3. Linskens IH, Levitus M, Frans A, Schielen PC, van Vugt JM, Blankenstein MA, Dijkstra HM. Performance of free beta-human chorionic gonadotrophin (free beta-hCG) and pregnancy associated plasma protein-A (PAPP-A) analysis between Delfia Xpress and AutoDelfia systems in The Netherlands. // Clin Chem Lab Med. 2009;47(2):222-6

4. Schmidt P, Staboulidou I, Soergel P, Wüstemann M, Hillemanns P, Scharf A. Comparison of Nicolaides' risk evaluation for Down's syndrome with a novel software: an analysis of 1,463 cases. // Arch Gynecol Obstet. 2007 Jun;275(6):469-74. Epub 2007 Mar 1

5. Spencer K. Accuracy of Down's syndrome risks produced in a prenatal screening program. // Ann Clin Biochem. 1999 Jan;36 (Pt 1):101-3.

По вопросам, касающимся качества Набора **«ПАББ-А-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 PREGNANCY-ASSOCIATED PLASMA PROTEIN
A IN HUMAN SERUM OR PLASMA**

1. INTENDED USE

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

This kit is designed for measurement of pregnancy-associated plasma protein A 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

PAPP-A (pregnancy-associated plasma protein A) is a high molecular weight glycoprotein consisting of two subunits. In normal pregnancy, PAPP-A level in maternal blood increases during the first two trimesters. Functional significance of PAPP-A during pregnancy remains unclear.

Lowered levels of PAPP-A are observed in Down's syndrome (trisomy 21) during weeks 8-12; after week 14, PAPP-A levels become similar to those in normal pregnancies. Low PAPP-A levels are also found in other trisomies (18 and 13) and chromosomal abnormalities in the fetus and in complicated pregnancies.

Determination of PAPP-A level in the first trimester is used in the following combinations of tests:

1. PAPP-A + free beta-HCG.
2. PAPP-A + free beta-HCG + USI of nuchal translucency.

In men and non-pregnant women, PAPP-A level is extremely low – usually, it is below the sensitivity level of most immunoassays. Recently, some evidence has appeared to confirm a link between raised PAPP-A levels and increased risk of complications in patients with coronary disease.

3. PRINCIPLE OF THE TEST

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

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

4.1. For professional use only.

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

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

4.4. Avoid contact with stop solution containing 5.0% H₂SO₄. It may cause skin irritation and burns.

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

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

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

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

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

4.10. Do not mix reagents from different lots.

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

4.12. Do not pipette reagents by mouth.

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

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

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

5.1. Contents of the Kit

5. KIT COMPONENTS

Symbol	Description	Qty	Units	Colour code	Stability of opened/diluted components
1	SORB MTP PAPP-A EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp.date
2	CAL 1-6 Calibrator set, 0.6 ml each. The set contains 6 calibrators: 0; 100; 500; 1000; 5000; 10000 mU/l	6	pcs	blue (C1 – colourless)	2 months
3	CONTROL Control serum (0.6 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	K2381 Instruction PAPP-A EIA	1	pcs		N/A
10	K238Q QC data sheet PAPP-A EIA	1	pcs		N/A

5.2. Equipment and material required but not provided

- Distilled or deionized water;
- Automatic or semiautomatic multichannel micropipettes, 100–250 µl, is useful but not essential;
- Calibrated micropipettes with variable volume, range volume 5–250 µl;
- Dry thermostat for +37 °C ±0.1 °C;
- Calibrated microplate photometer with 450 nm wavelength and OD measuring range 0–3.0

5.3. Storage and stability of the Kit

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

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

6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

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

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

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

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

7.2. Procedural Note:

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

7.3. Assay flowchart

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

7.4. Alternative units:

1 mU/l = 0.0045 µg/ml

7.5. Assay procedure

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

8. QUALITY CONTROL

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

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

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

9. CALCULATION OF RESULTS

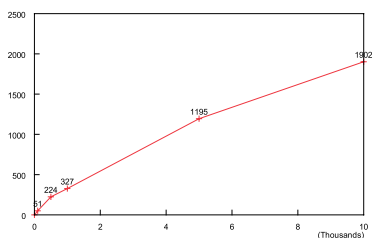
9.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

9.2. Plot a calibration curve on graph paper: OD versus pregnancy-associated plasma protein A concentration.

9.3. Determine the corresponding concentration of pregnancy-associated plasma protein A 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 mU/l	0.04
CAL 2	100 mU/l	0.09
CAL 3	500 mU/l	0.27
CAL 4	1000 mU/l	0.37
CAL 5	5000 mU/l	1.24
CAL 6	10000 mU/l	1.95



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 PAPP-A. 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, mU/l		Units alternative, µg/ml	
	Lower limit	Upper limit	Lower limit	Upper limit
Males	-	150	-	0.68
Females	-	150	-	0.68

Pregnancy, week	Median, mU/l	SD
9	969	2.9
10	1279	3.3
11	2153	3.4
12	3205	3.4
13	4250	3.6

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical specificity / Cross reactivity.

The monoclonal antibody is specific for human PAPP-A. There is no cross-reactivity to other species

11.2. Analytical sensitivity

Sensitivity of the assay was assessed as being 10 mU/l.

11.3. Linearity


















Linearity was checked by assaying dilution series of 5 samples with different pregnancy-associated plasma protein A concentrations. Linearity percentages obtained ranged within 90 to 110%.

11.4. Recovery

Recovery was estimated by assaying 5 mixed samples with known pregnancy-associated plasma protein A concentrations. The recovery percentages ranged from 90 to 110%.

12. LITERATURE

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

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

Уважаемый Клиент!

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

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

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

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



Russian Diagnostic
Manufacturers Association



Российская ассоциация
производителей средств медицинской
лабораторной диагностики



Russian Association
of Medical Laboratory
Diagnosticians



Российская ассоциация
медицинской лабораторной
диагностики

Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

8 800 505 23 45

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

Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

105043, г. Москва, а/я 58

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

тел.: +7 (495) 510-57 07, 737-39-36;

факс: +7 (495) 737-00-40

e-mail: info@xema.ru

www.xema-medica.com

ФООО «Хема», тел.: +7 (812) 271-24-41

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

e-mail: spb@xema.ru

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

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

литер А, корп. 8/К, офис 416

e-mail: hemma-test@yandex.ru

ТОВ «Хема», тел.: (044) 422-62-16;

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

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com

