



Instruction for use



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

«HSV 1,2 IgG-ИФА»

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

HSV 1/2 IgG EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF** **K104**

ТУ № 9398-104-18619450-2009

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

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



For 96 determinations / На 96 определений



Для *in vitro* диагностики

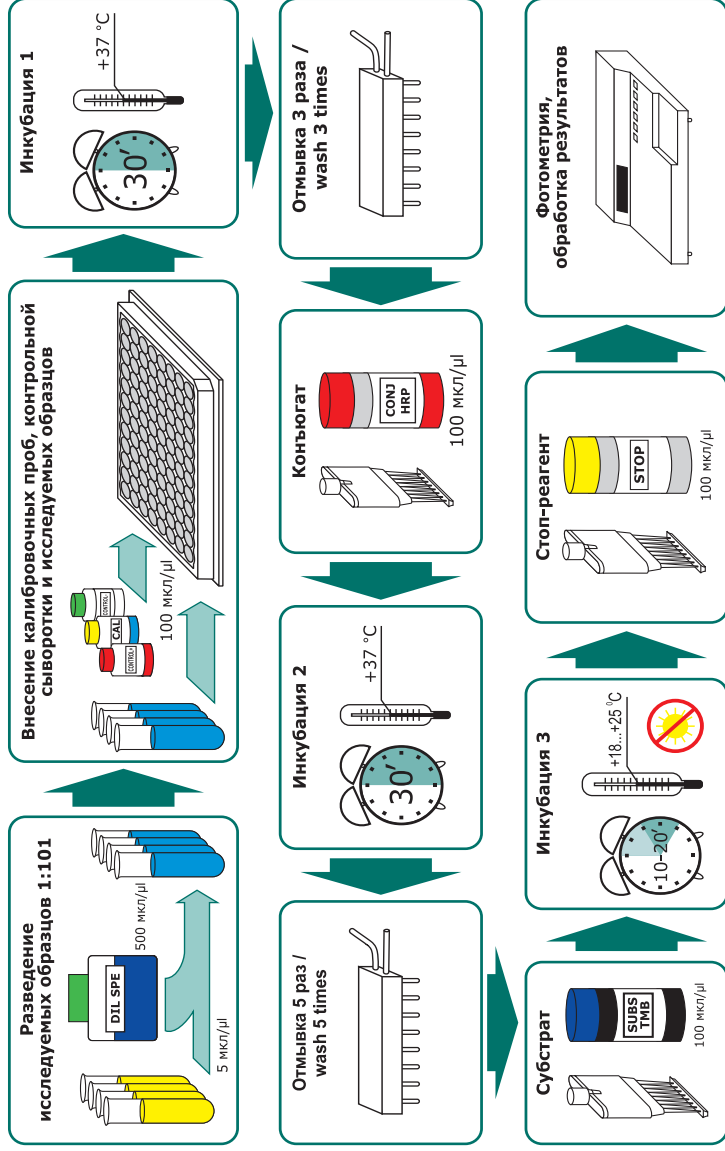


XEMA Co., Ltd.
The 9th Parkovaya str., 48
105264 Moscow, Russia
Tel./fax: +7(495) 510-57-07
e-mail: redkin@xema-medica.com
internet: www.xema-medica.com



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

Схема проведения анализа / Test procedure



K104

СОДЕРЖАНИЕ

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

CONTENT

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

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

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

1. НАЗНАЧЕНИЕ

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

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

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение IgG антител к антигенам Herpes simplex virus 1 и 2 типа (HSV 1,2) основано на использовании непрямого варианта твердофазного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизован антиген – HSV 1,2. Антитела из образца связываются с антигеном на поверхности лунок. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата мышинных моноклональных антител к IgG человека с пероксидазой хрена. В результате образуется связанный с пластиком «сэндвич», содержащий пероксидазу. Во время инкубации с раствором субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) происходит окрашивание растворов в лунках. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации специфических IgG антител к антигенам Herpes simplex virus 1 и 2 типа (HSV 1,2). Концентрация IgG антител к антигенам Herpes simplex virus 1 и 2 типа (HSV 1,2) в исследуемых образцах рассчитывается по формуле, приведенной в инструкции.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

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

3.2. Воспроизводимость.

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

4. СОСТАВ НАБОРА

Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1 P104Z	SORB MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2 CQ104Z	CAL	Калибровочная проба на основе трис-буфера (рН 7.2-7.4), содержащая известное количество IgG антител к антигенам Herpes simplex virus 1 и 2 типа (HSV 1,2), готова к использованию, 1.5 мл	1	шт.	прозрачная жидкость синего цвета
3 CN104Z CP104Z	CONTROL - CONTROL +	Контрольные сыворотки (отрицательный и положительный контроли) на основе сыворотки крови человека с известным содержанием IgG антител к антигенам Herpes simplex virus 1 и 2 типа (HSV 1,2), готовы к использованию (1.5 мл и 1.5 мл соответственно)	2	шт.	прозрачная бесцветная жидкость и прозрачная жидкость красного цвета
4 T104Z	CONJ HRP	Конъюгат , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость красного цвета
5 S011Z3	DIL SPE	ИФА-Буфер , готов к использованию (50 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость синего цвета
6 R055Z	SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
7 S008Z	BUF WASH 26X	Концентрат отмывочного раствора (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26х-кратный (22 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
8 R050Z	STOP	Стоп-реагент , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
9 N003	-	Бумага для заклеивания планшета	2	шт.	-
10 K104I	-	Инструкция по применению Набора реагентов «HSV 1,2 IgG-ИФА»	1	шт.	-
11 K104Q	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «HSV 1,2 IgG-ИФА»	1	шт.	-

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

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

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

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

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

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

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

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

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

7.2. Приготовление планшета.

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

7.3. Приготовление отмывочного раствора.

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

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

8.1. Набор реагентов «HSV 1,2 IgG-ИФА» должен храниться в упаковке производителя-изготовителя при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности, указанного на упаковке Набора.

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

8.2. Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 45 исследуемых образцов, 1 калибровочных проб и 2 пробы контрольной сыворотки (всего 96 определений).

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

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

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

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

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

8.6. При использовании Набора для проведения нескольких независимых серий анализов следует иметь в виду, что для каждого независимого определения необходимо построение нового калибровочного графика; кроме этого, рекомендуется определение концентрации IgG антител к антигенам Herpes simplex virus 1 и 2 типа (HSV 1,2) в контрольной сыворотке.

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

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

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов – исследуемые образцы в 2 повторах и 6 лунок для калибровочной пробы и контрольных сывороток.
2	Разбавьте образцы сыворотки (плазмы) крови в 101 раз, используя ИФА-Буфер (S011Z3). Пример: 5 мкл образца + 500 мкл ИФА-Буфера. Не разбавляйте калибровочную пробу и контрольные сыворотки.
3	Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 100 мкл калибровочной пробы и контрольных сывороток. В остальные лунки внесите в дубликатах по 100 мкл разбавленных исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови. Внесение калибровочной пробы, контрольных сывороток и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
4	Аккуратно перемешайте содержимое планшета круговыми движениями по горизонтальной поверхности, заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета. Инкубируйте планшет в течение 30 минут при температуре +37 °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 °С) в течение 10–20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.
10	Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реакента , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
11	Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм. Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реакента. Бланк фотометра выставляйте по воздуху.

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

Таблица М

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

10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ

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

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

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

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

*материнские антитела

11. ЛИТЕРАТУРА

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

По вопросам, касающимся качества Набора «**HSV 1,2 IgG-ИФА**», следует обращаться в ООО «ХЕМА» по адресу:

105043, г. Москва, а/я 58

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

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

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

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

Руководитель службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА»,

к. б. н. Д. С. Кострикин

Instruction for use

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

1. INTENDED USE

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

This kit is designed for measurement of IgG antibodies to HSV 1,2 – in blood serum or plasma. For possibility of use with other sample types, please, refer to Application Notes (on request). The kit contains reagents sufficient for 96 determinations and allows to analyze 45 unknown samples in duplicates.

2. SUMMARY AND EXPLANATION

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

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

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

3. PRINCIPLE OF THE TEST

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

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

4.1. For professional use only.

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

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

4.4. Avoid contact with stop solution containing 5.0% 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	HSV 1,2 IgG EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp.date
2 CAL	Calibrator set, 1.5 ml	1	pcs	blue	2 months
3 CONTROL - CONTROL +	Control sera (1.5 ml)	2	pcs	colourless and red	2 months
4 CONJ HRP	Conjugate, 14 ml	1	pcs	red	until exp.date
5 DIL SPE	EIA buffer 50ml	1	pcs	blue	until exp.date
6 SUBS TMB	Substrate solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
7 BUF WASH 26X	Washing solution concentrate 26X, 22 ml	1	pcs	colourless	Concentrate – until exp.date Diluted washing solution – 45 days at 2-8 °C or 15 days at RT
8 STOP	Stop solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
9 N003	Plate sealing tape	2	pcs		N/A
10 K104I	Instruction HSV 1,2 IgG EIA	1	pcs		N/A
11 K104Q	QC data sheet HSV 1,2IgG EIA	1	pcs		N/A

5.2. Equipment and material required but not provided

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

5.3. Storage and stability of the Kit

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

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

6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

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

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

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

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

7.2. Procedural Note:

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

7.3. Assay flowchart

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

7.4. Assay procedure

1	Put the desired number of microstrips into the frame; allocate 6 wells for the calibrators CAL and control samples CONTROL - , CONTROL + and two wells for each unknown sample. DO NOT REMOVE ADHESIVE SEALING TAPE FROM UNUSED STRIPS.
2	Dilute all samples using buffer DIL SPE (EIA buffer) 101 fold. (5 µl of sample + 500 µl of diluent). Do not dilute control sample and calibrators.
3	Pipet 100 µl of calibrators, control samples CONTROL - , CONTROL + and unknown samples into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape (included into the kit).
4	Incubate 30 minutes at +37 °C.
5	Prepare washing solution by 26X dilution of washing solution concentrate BUF WASH 26X by distilled water. Minimal quantity of washing solution should be 250 µl per well. Wash strips 3 times.
6	Dispense 100 µl of CONJ HRP into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape.
7	Incubate 30 minutes at +37 °C.
8	Wash the strips 5 times.
9	Dispense 100 µl of SUBS TMB into the wells.
10	Incubate 10-20 minutes at +18...+25 °C.
11	Dispense 100 µl of STOP into the wells.
12	Measure OD (optical density) at 450 nm.
13	Set photometer blank on air.
14	Apply coefficient method for data reduction. 1. Calculate a cutoff value by multiplying mean OD of Calibrator by the Q value (see Lot QC insert). Cutoff = OD(Calibrator) * Q value 2. Divide mean OD of each sample by Cutoff. $K = \text{OD}(\text{sample}) / \text{Cutoff}$ 3. If the K value is greater than 1.1, the result is POSITIVE. If the K value is less than 0.9, the result is NEGATIVE. If the K value is between 0.9 and 1.1, the result is EQUIVOCAL.

7.5. Sample processing

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

8. QUALITY CONTROL

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

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

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

9. CALCULATION OF RESULTS

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

10. EXPECTED VALUES


















Therapeutical consequences should not be based on results of IVD methods alone – all available clinical and laboratory findings should be used by a physician to elaborate therapeutically measures. Each laboratory should establish its own normal range for HSV 1,2 IgG. Based on data obtained by XEMA, the following normal range is recommended (see below).

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

*antibodies of maternal origin

11. LITERATURE

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

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

Уважаемый Клиент!

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

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

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

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



Russian Diagnostic
Manufacturers Association



Классический российский
производственный центр клинической
лабораторной диагностики



Russian Association
of Medical Laboratory
Diagnosticians



Российская Ассоциация
Медицинской Лабораторной
Диагностики

Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

8 800 505 23 45

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

Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

105043, г. Москва, а/я 58

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

тел.: +7 (495) 510-57 07, 737-39-36;

факс: +7 (495) 737-00-40

e-mail: info@xema.ru

www.xema-medica.com

ФООО «Хема», тел.: +7 (812) 271-24-41

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

e-mail: spb@xema.ru

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

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

литер А, корп. 8/К, офис 416

e-mail: hemma-test@yandex.ru

ТОВ «Хема», тел.: (044) 422-62-16;

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

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com





Instruction for use



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

«HSV 1,2 IgM-ИФА»

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

HSV 1/2 IgM EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF K104M**

ТУ № 9398-1041-18619450-2009

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

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



For 96 determinations / На 96 определений



Для *in vitro* диагностики

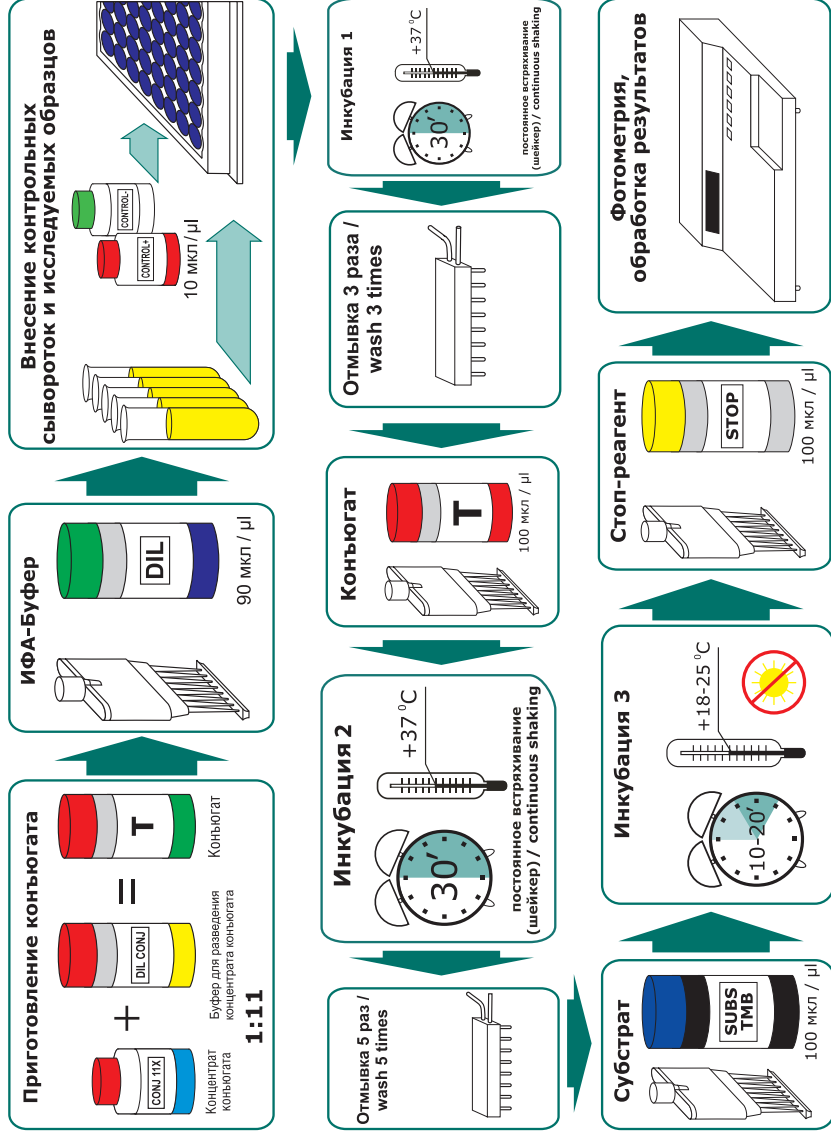


XEMA Co., Ltd.
The 9th Parkovaya str., 48
105264 Moscow, Russia
Tel./fax: +7(495) 510-57-07
e-mail: redkin@xema-medica.com
internet: www.xema-medica.com



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

Схема проведения анализа / Test procedure



K104M

СОДЕРЖАНИЕ

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

CONTENT

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

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

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

1. НАЗНАЧЕНИЕ

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

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

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

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

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение IgM антител к антигенам Herpes Simplex Virus 1 и 2 типа (HSV 1,2) основано на использовании принципа «IgM-захват» твердофазного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы моноклональные антитела к IgM. Антитела из образца связываются с антителами к IgM на твердой фазе. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата антигена HSV 1,2 с пероксидазой хрена. В результате образуется связанный с пластиком «сэндвич», содержащий пероксидазу. Во время инкубации с раствором субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) происходит окрашивание растворов в лунках. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации IgM антител к антигенам HSV 1,2 в исследуемом образце. Индекс позитивности (ИП, %) IgM антител к антигенам HSV 1,2 в исследуемых образцах рассчитывается по формуле, приведенной в инструкции.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность и чувствительность.

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

3.2. Воспроизводимость.

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

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

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

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

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

4. СОСТАВ НАБОРА

	Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1	P10MZ	SORB MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2	CN104MZ CP104MZ	CONTROL – CONTROL+	Контрольные сыворотки (отрицательный и положительный контроли) на основе сыворотки крови человека с известным содержанием IgM антител HSV 1,2, готовы к использованию (0.5 мл и 0.2 мл соответственно)	2	шт.	прозрачная бесцветная жидкость и прозрачная жидкость красного цвета
3	T104MXZ	CONJ 11X	Концентрат конъюгата , (1.25 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость синего цвета
4	ST104MZ	DIL CONJ	Буфер для разведения концентрата конъюгата, готов к использованию (12 мл)	1	шт	прозрачная жидкость ярко-желтого цвета
5	S011Z	DIL	ИФА-Буфер , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость синего цвета
6	R055Z	SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
7	S008Z	BUF WASH 26X	Концентрат отмывочного раствора (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 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	K104MI		Инструкция по применению Набора реагентов «HSV 1,2 IgM-ИФА»	1	шт.	-
11	K104MQ		Паспорт контроля качества Набора реагентов «HSV 1,2 IgM-ИФА»	1	шт.	-

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

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

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

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

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

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность содержимого лунок планшета при длине волны 450 нм;
- термостат или термостатируемый шейкер, поддерживающий температуру $+37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$;
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы в диапазоне 10–250 мкл;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- бумага фильтровальная.

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

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

7.2. Приготовление планшета.

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

7.3. Приготовление отмывочного раствора.

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

7.4. Приготовление конъюгата.

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

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

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

8.1. Набор реагентов «HSV 1,2 IgM-ИФА» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности, указанного на упаковке Набора. Допускается хранение (транспортировка) Набора при температуре до +25 °С не более 15 суток.

8.2. Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 46 исследуемых образцов и 2 проб контрольной сыворотки (всего 96 определений).

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

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

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

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

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

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

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

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

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

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

Альтернативный формат.

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

продолжение таблицы на стр 8

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

10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ

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

Интерпретация результатов:

При ИП > 1.1 образец положительный,

при ИП < 0.9 – отрицательный.

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

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

11. ЛИТЕРАТУРА

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

По вопросам, касающимся качества Набора «**HSV 1,2 IgM-ИФА**», следует обращаться в ООО «ХЕМА» по адресу:
105043, г. Москва, а/я 58
105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1-й под., 5 этаж,
тел/факс (495) 737-39-36, 737-00-40, 510-57-07 (многоканальный)
электронная почта: rqc@xema.ru
интернет: www.xema-medica.com

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

Instruction for use

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

1. INTENDED USE

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

This kit is designed for measurement of IgM antibodies to HSV 1/2 in serum or plasma. For possibility of use with other sample types, please, refer to Application Notes (on request). The kit contains reagents sufficient for 96 determinations and allows to analyze 46 unknown samples in duplicates.

2. SUMMARY AND EXPLANATION

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

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

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

3. PRINCIPLE OF THE TEST

This test is based on two-site sandwich enzyme immunoassay principle. Tested specimen is placed into the microwells coated by murine monoclonal antibodies to IgM. Antibodies from the specimen bind coated murine monoclonal antibodies to IgM on the microwell surface. Unbound material is removed by washing procedure. HSV 1,2, labelled with peroxidase enzyme, is then added into the microwells. After subsequent washing procedure, the remaining enzymatic activity bound to the microwell surface is detected and quantified by addition of chromogen-substrate mixture, stop solution and photometry at 450 nm. Positivity index (PI, %) is calculated by the formula (see Calculations).Optical density in the microwell is directly related to the quantity of the measured analyte in the specimen.

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

4.1. For professional use only.

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

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

4.4. Avoid contact with stop solution containing 5.0% 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 HSV 1, 2 IgM EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp.date
2	CONTROL -, CONTROL + Control sera (0.5 ml and 0.2 ml, resp.)	2	pcs	colourless; red	2 months
3	CONJ 11X Conjugate concentrate, 1.25 ml	1	pcs	blue	Concentrate - until exp.date Diluted - 1 day at 2-8°C
4	DIL CONJ Conjugate dilution buffer, 12 ml	1	pcs	bright yellow	until exp.date
5	DIL EIA buffer 14 ml	1	pcs	blue	until exp.date
6	SUBS TMB Substrate solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
7	BUF WASH 26X Washing solution concentrate 26X, 22 ml	1	pcs	colourless	Concentrate - until exp.date Diluted washing solution - 45 days at 2-8 °C or 15 days at RT
8	STOP Stop solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
9	N003 Plate sealing tape	2	pcs		N/A
10	K104MI Instruction HSV 1, 2 IgM EIA	1	pcs		N/A
11	K104MQ QC data sheet HSV 1, 2 IgM EIA	1	pcs		N/A

5.2. Equipment and material required but not provided

- Distilled or deionized water;
- Automatic or semiautomatic multichannel micropipettes, 90–250 µl, is useful but not essential;
- Calibrated micropipettes with variable volume, range volume 10–250 µl;
- Dry thermostat or thermostat shaker for 37 °C ±2 °C;
- Calibrated microplate photometer with 450 nm wavelength and OD measuring range 0–3.0

5.3. Storage and stability of the Kit

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

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

6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

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

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

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

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

7.2. Procedural Note:

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

7.3. Assay flowchart

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

7.4. Assay procedure

1	Put the desired number of microstrips into the frame; allocate 4 wells for control samples CONTROL - CONTROL + (3 and 1 wells resp.) and two wells for each unknown sample. DO NOT REMOVE ADHESIVE SEALING TAPE FROM UNUSED STRIPS.
2	Pipet 90 µl of EIA buffer into each well.
3	Pipet 10 µl of control samples CONTROL - CONTROL + and unknown samples into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape (included into the kit).
4	Incubate 30 minutes at +37 °C and continuous shaking at 500-600 rpm.
5	Prepare washing solution by 26X dilution of washing solution concentrate BUF WASH 26X by distilled water. Minimal quantity of washing solution should be 250 µl per well. Wash strips 3 times.
6	Dispense 100 µl of working conjugate solution into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape.
7	Incubate 30 minutes at +37 °C and continuous shaking at 500-600 rpm.
8	Wash the strips 5 times.
9	Dispense 100 µl of SUBS TMB into the wells.
10	Incubate 10–20 minutes at +18...+25 °C.
11	Dispense 100 µl of STOP into the wells.
12	Measure OD (optical density) at 450 nm.
13	Set photometer blank on air.

Alternative incubation:

1	Put the desired number of microstrips into the frame; allocate 4 wells for control samples CONTROL - CONTROL + (3 and 1 wells resp.) and two wells for each unknown sample. DO NOT REMOVE ADHESIVE SEALING TAPE FROM UNUSED STRIPS.
2	Pipet 90 µl of EIA buffer into each well.
3	Pipet 10 µl of control samples CONTROL - CONTROL + and unknown samples into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape (included into the kit).
4	Incubate 60 minutes at +37 °C.
5	Prepare washing solution by 26X dilution of washing solution concentrate BUF WASH 26X by distilled water. Minimal quantity of washing solution should be 250 µl per well. Wash strips 3 times.
6	Dispense 100 µl of working conjugate solution into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape.
7	Incubate 30 minutes at +37 °C.

(Continuation see page 15)

8	Wash the strips 5 times.
9	Dispense 100 µl of SUBS TMB into the wells.
10	Incubate 10–20 minutes at +18...+25 °C.
11	Dispense 100 µl of STOP into the wells.
12	Measure OD (optical density) at 450 nm.
13	Set photometer blank on air.

8. QUALITY CONTROL

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

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

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

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

9. CALCULATION OF RESULTS

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

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

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

PI = mean OD450(sample) / Cut-off

10. EXPECTED VALUES AND ASSAY LIMITATIONS

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

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

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

Therapeutic consequences should not be based on results of IVD methods alone – all available clinical and laboratory findings should be used by a physician to elaborate therapeutic measures.

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

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical specificity

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

11.2. Analytical sensitivity

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

11.3. Precision

Intra-assay precision is shown below:


















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

Inter-assay precision is shown below:

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

12. LITERATURE

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

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

Уважаемый Клиент!

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

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

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

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



Russian Diagnostic
Manufacturers Association



Ассоциация российских
производителей средств диагностики



RUSSIAN ASSOCIATION
OF MEDICAL LABORATORY
DIAGNOSTICS



РОССИЙСКАЯ АССОЦИАЦИЯ
МЕДИЦИНСКИХ ЛАБОРАТОРНЫХ
ДИАГНОСТИКОВ

Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

8 800 505 23 45

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

Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

105043, г. Москва, а/я 58

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

тел.: +7 (495) 510-57 07, 737-39-36;

факс: +7 (495) 737-00-40

e-mail: info@xema.ru

www.xema-medica.com

ФООО «Хема», тел.: +7 (812) 271-24-41

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

e-mail: spb@xema.ru

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

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

литер А, корп. 8/К, офис 416

e-mail: hemma-test@yandex.ru

ТОВ «Хема», тел.: (044) 422-62-16;

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

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com





Instruction for use



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

«Helicobacter pylori IgG-ИФА»

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ REF **K119**

ТУ № 9398-119-18619450-2012

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

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



На 96, 192 или 480 определений



Для *in vitro* диагностики



ООО "ХЕМА"

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

+7(495) 510-57-07

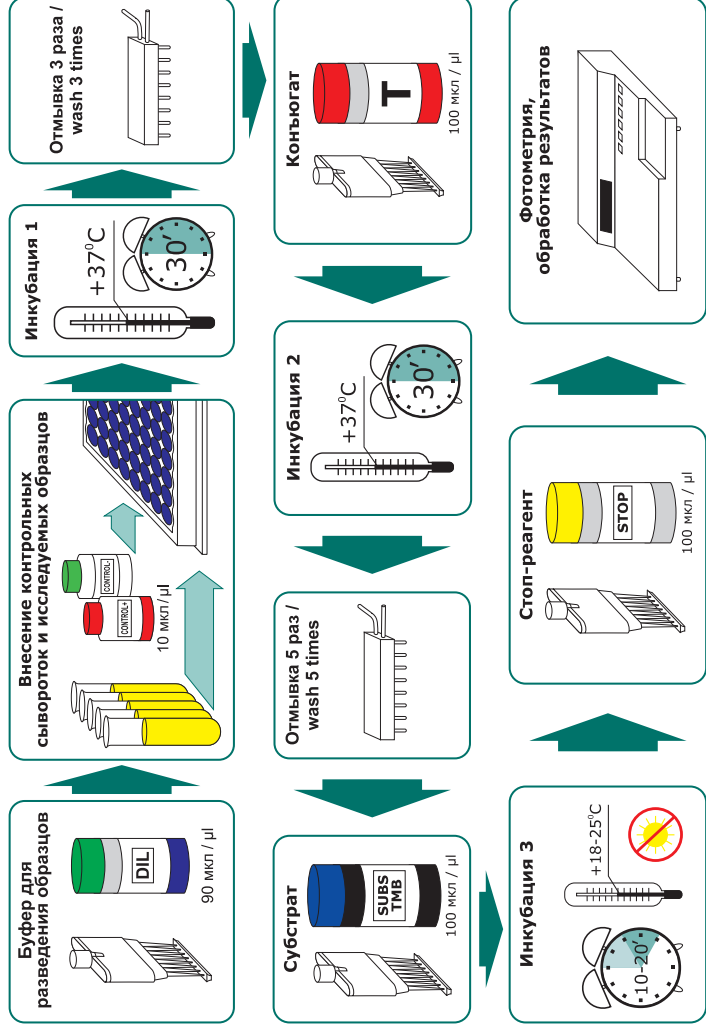
redkin@xema-medica.com

www.xema-medica.com



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

Схема проведения анализа / Test procedure



K119

СОДЕРЖАНИЕ

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

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

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

1. НАЗНАЧЕНИЕ

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

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

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

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

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

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

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

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение IgG антител к антигенам *Helicobacter pylori* основано на использовании непрямого варианта твердофазного иммуоферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизован рекомбинантный белок *CagA* *H.pylori*. Антитела из образца связываются с антигеном на поверхности лунки. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата – мышинных моноклональных антител к IgG человека с пероксидазой хрена. В результате образуется связанный с пластиком «сэндвич», содержащий пероксидазу. Во время инкубации с раствором субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) происходит окрашивание растворов в лунках. Интенсивность окраски прямо пропорциональна содержанию специфических IgG антител к антигенам *Helicobacter pylori*. Индекс позитивности (ИП, %) IgG антител к антигенам *Helicobacter pylori* в исследуемых образцах рассчитывается по формуле, приведенной в инструкции.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Чувствительность и специфичность.

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

3.2. Воспроизводимость.

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

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

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

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

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

4. СОСТАВ НАБОРА

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

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

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

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

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

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

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность содержимого лунок планшета при длине волны 450 нм;
- термостат, поддерживающий температуру $+37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$;
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы в диапазоне 10–250 мкл;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- бумага фильтровальная.

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

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

7.2. Приготовление планшета.

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

7.3. Приготовление отмывочного раствора.

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

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

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

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

8.2. Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 46 исследуемых образцов и 2 проб контрольной сыворотки (всего 96 определений).

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

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

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

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

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

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

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

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов – исследуемые образцы в 2 повторах и 4 лунки для контрольных сывороток (Отрицательный контроль 3 лунки, Положительный контроль 1 лунка).
2	Внесите во все лунки планшета по 90 мкл ИФА-Буфер.
3	Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 10 мкл контрольных сывороток. В остальные лунки внесите в дубликатах по 10 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови. Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
4	ВНИМАНИЕ! При внесении образцов сыворотки (плазмы) крови происходит изменение цвета раствора.
5	Аккуратно перемешайте содержимое планшета круговыми движениями по горизонтальной поверхности, заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета. Инкубируйте планшет в течение 30 минут при температуре +37 °С.
6	По окончании инкубации удалите содержимое лунок аспирацией (например, с помощью водоструйного насоса) или декантированием и отмойте лунки 3 раза. При каждой отмывке добавьте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п.7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок.
7	Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.
8	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте его в течение 30 минут при температуре +37 °С.
9	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз.
10	Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина. 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 воздуху.

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

1. Рассчитайте среднее значение ОП Отрицательного контроля:

$$\text{ОП (CN119)Ср} = (\text{ОП1 (CN119)} + \text{ОП2 (CN119)} + \text{ОП3 (CN119)}) / 3;$$

Результаты анализа считать достоверными, если:

- ОП **Положительного контроля** не ниже **0.6 оптических единиц (ОЕ)**;
- ОП **Отрицательного контроля** не выше **0.15 ОЕ** во всех лунках;
- ОП каждого значения Отрицательного контроля отличается не более чем в два раза от среднего значения отрицательного контроля, т.е. $\text{ОП (CN119)Ср} \times 0.5 < \text{ОПn (CN119)} < \text{ОП (CN119)Ср} \times 2.0$;

если одно из значений Отрицательного контроля выходит за пределы этого интервала, то его значение не участвует в расчете ОП (CN119)Ср.

2. Рассчитайте уровень граничного значения Cut off, для этого к среднему значению ОП Отрицательного контроля прибавьте 0.3

$$\text{Cut off} = \text{ОП (CN119)Ср} + 0.3$$

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

$$\text{ИП} = \text{ОПобразца} / \text{Cut off}$$

10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ

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

Интерпретация результатов:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

11. ЛИТЕРАТУРА

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

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

105043, г. Москва, а/я 58

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


















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

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

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

Руководитель службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА»,

к. б. н. Д. С. Кострикин

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

Уважаемый Клиент!

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

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

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

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



Russian Diagnostic
Manufacturers Association



Ассоциация российских
производителей иммунохимических
реагентов



Russian Association
of Medical Laboratory
Diagnosticians



Российская ассоциация
медицинской лабораторной
диагностики

Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

8 800 505 23 45

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

Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

105043, г. Москва, а/я 58

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

тел.: +7 (495) 510-57 07, 737-39-36;

факс: +7 (495) 737-00-40

e-mail: info@xema.ru

www.xema-medica.com

ФООО «Хема», тел.: +7 (812) 271-24-41

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

e-mail: spb@xema.ru

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

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

литер А, корп. 8/К, офис 416

e-mail: hemma-test@yandex.ru

ТОВ «Хема», тел.: (044) 422-62-16;

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

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com





Instruction for use



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

«Helicobacter pylori IgM-ИФА»

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

Helicobacter pylori IgM EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF** **K119M**

ТУ № 9398-1191-18619450-2012

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

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



For 96 determinations / На 96 определений



Для *in vitro* диагностики



XEMA Co., Ltd.

The 9th Parkovaya str., 48

105264 Moscow, Russia

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

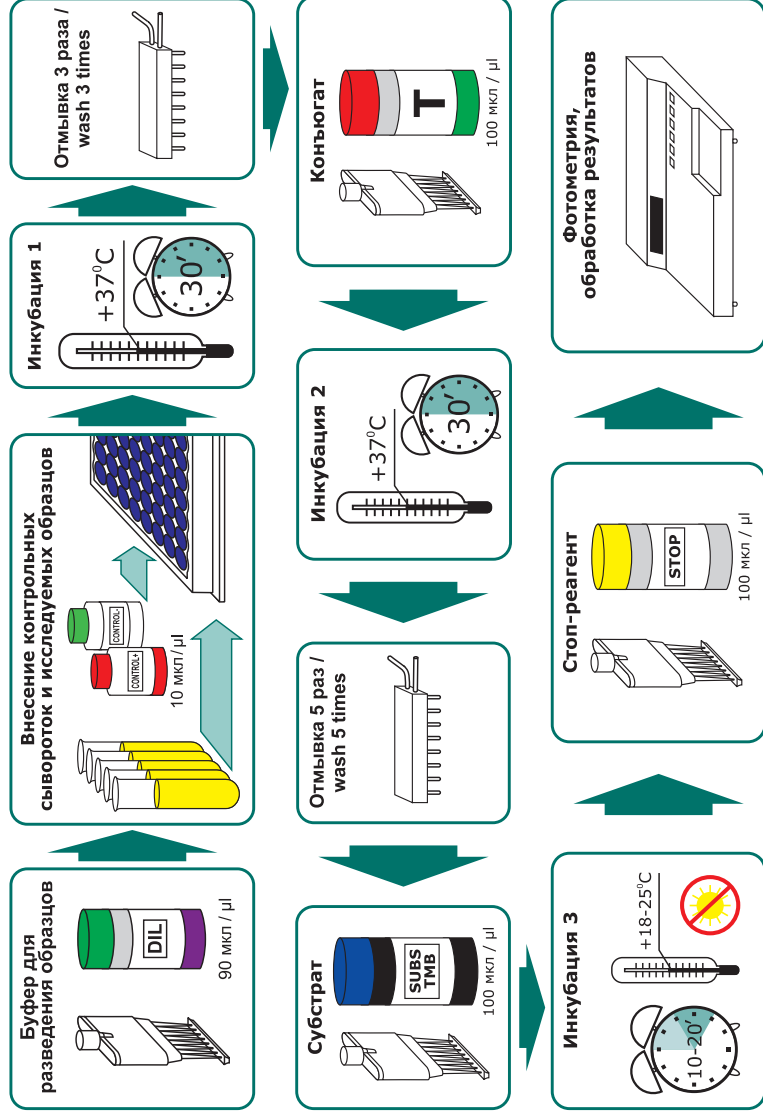
e-mail: redkin@xema-medica.com

internet: www.xema-medica.com



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

Схема проведения анализа / Test procedure



K119M

СОДЕРЖАНИЕ

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

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

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

1. НАЗНАЧЕНИЕ

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

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

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

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

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

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

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

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение IgM антител к антигенам *Helicobacter pylori* основано на использовании непрямого варианта твердофазного иммуоферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизован рекомбинантный белок *CagA* *H.pylori*. Антитела из образца связываются с антигеном на поверхности лунки. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата – мышинных моноклональных антител к IgM человека с пероксидазой хрена. В результате образуется связанный с пластиком «сэндвич», содержащий пероксидазу. Во время инкубации с раствором субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) происходит окрашивание растворов в лунках. Интенсивность окраски прямо пропорциональна содержанию IgM антител к антигенам *Helicobacter pylori*. Индекс позитивности (ИП, %) IgM антител к антигенам *Helicobacter pylori* в исследуемых образцах рассчитывается по формуле, приведенной в инструкции.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Чувствительность и специфичность.

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

3.2. Воспроизводимость.

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

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

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

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

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

4. СОСТАВ НАБОРА

Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1	P119Z	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт	-
2	CN119MZ SP119MZ	Контрольные сыворотки (отрицательный и положительный контроль) на основе сыворотки крови человека с известным содержанием IgM антител к антигенам <i>Helicobacter pylori</i> , готовы к использованию (0,5 мл и 0,2 мл соответственно)	2	шт	прозрачная бесцветная жидкость и прозрачная жидкость красного цвета
3	T119MZ	Конъюгат , готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная жидкость зеленого цвета
4	SP119MZ	ИФА-Буфер , готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная жидкость пурпурного 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	K119MI	Инструкция по применению Набора реагентов « <i>Helicobacter pylori</i> IgM-ИФА»	1	шт	-
10	K119MQ	Паспорт контроля качества Набора реагентов « <i>Helicobacter pylori</i> IgM-ИФА»	1	шт	-

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

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

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

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

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

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность содержимого лунок планшета при длине волны 450 нм;
- термостат, поддерживающий температуру $+37 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0.1 \text{ }^\circ\text{C}$;
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы в диапазоне 10–250 мкл;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- бумага фильтровальная.

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

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

7.2. Приготовление планшета.

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

7.3. Приготовление отмывочного раствора.

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

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

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

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

8.2. Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 46 исследуемых образцов и 2 проб контрольной сыворотки (всего 96 определений).

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

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

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

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

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

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

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

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

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

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

1. Рассчитайте среднее значение ОП Отрицательного контроля:

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

Результаты анализа считать достоверными, если:

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

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

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

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

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

10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ

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

Интерпретация результатов:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

11. ЛИТЕРАТУРА

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

По вопросам, касающимся качества Набора «**Helicobacter pylori IgM-ИФА**», следует обращаться в ООО «ХЕМА» по адресу: 105043, г. Москва, а/я 58 105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1-й под., 5 этаж, тел/факс (495) 737-39-36, 737-00-40, 510-57-07 (многоканальный) электронная почта: info@xema.ru; rqc@xema.ru интернет: www.xema.ru; www.xema-medica.com
Руководитель службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА», к. б. н. Д. С. Кострикин

Instruction for use

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

1. INTENDED USE

A solid-phase enzyme immunoassay for the qualitative determination of IgM antibodies to *Helicobacter pylori* in serum or plasma. For possibility of use with other sample types, please, refer to Application Notes (on request). The kit contains reagents sufficient for 96 determinations and allows to analyze 46 unknown samples in duplicates.

2. SUMMARY AND EXPLANATION

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

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

3. PRINCIPLE OF THE TEST

This test is based on indirect enzyme immunoassay principle. Tested specimen is placed into the microwells coated with CagA protein of *Helicobacter pylori*. Antibodies from the specimen bind coated CagA protein of *Helicobacter pylori* on the microwell surface. Unbound material is removed by washing procedure. Second antibodies directed towards species specific IgG, are then added into the microwells. After subsequent washing procedure, the remaining enzymatic activity bound to the microwell surface is detected and quantified by addition of chromogen-substrate mixture, stop solution and photometry at 450 nm. Positivity index (PI, %) is calculated by the formula (see Calculations). Optical density in the microwell is directly related to the quantity of the measured analyte in the specimen.

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

- 4.1.** For professional use only.
- 4.2.** This kit is intended for in vitro diagnostic use only.
- 4.3. INFECTION HAZARD:** There is no available test methods that can absolutely assure that Hepatitis B and C viruses, HIV-1/2, or other infectious agents are not present in the reagents of this kit. All human products, including patient samples, should be considered potentially infectious. Handling and disposal should be in accordance with the procedures defined by an appropriate national biohazard safety guidelines or regulations.
- 4.4.** Avoid contact with stop solution containing 5.0% H_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 obtained only when using calibrated pipettes and microplate readers.
- 4.8.** Do not smoke, eat, drink or apply cosmetics in areas where specimens or kit reagents are handled.
- 4.9.** Chemicals and prepared or used reagents have to be treated as hazardous waste according to the national biohazard safety guidelines or regulations.
- 4.10.** Do not mix reagents from different lots.
- 4.11.** Replace caps on reagents immediately. Do not swap caps.
- 4.12.** Do not pipette reagents by mouth.
- 4.13.** Specimens must not contain any AZIDE compounds – they inhibit activity of peroxidase.
- 4.14.** Material Safety Data Sheet for this product is available upon request directly from XEMA Co., Ltd.
- 4.15.** The Material Safety Data Sheet fit the requirements of EU Guideline 91/155 EC.

5. KIT COMPONENTS

5.1. Contents of the Kit

	Symbol	Description	Qty	Units	Colour code	Stability of opened/diluted components
1	SORB MTP	<i>Helicobacter pylori</i> IgM EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp. date
2	CONTROL - CONTROL +	Control sera (0.5 ml and 0.2 ml, resp.)	2	pcs	colourless; red	2 months
3	CONJ HRP	Conjugate, 14 ml	1	pcs	green	until exp. date
4	DIL	EIA Sample buffer 14 ml	1	pcs	purple	until exp. date
5	SUBS TMB	Substrate solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp. date
6	BUF WASH 26X	Washing solution concentrate 26x, 22 ml	1	pcs	colourless	Concentrate - until exp.date
7	STOP	Stop solution, 14 ml	1	pcs	Diluted washing solution - 1 month at 2-8 °C or 5 days at RT	until exp. date
8	N003	Plate sealing tape	2	pcs	colourless	until exp. date
9	K119MI	Instruction <i>Helicobacter pylori</i> IgM EIA	1	pcs	-	N/A
10	K119MQ	QC data sheet <i>Helicobacter pylori</i> IgM EIA	1	pcs	-	N/A

5.2. Equipment and material required but not provided

- Distilled or deionized water;
- Automatic or semiautomatic multichannel micropipettes, 90-250 µl, is useful but not essential;
- Calibrated micropipettes with variable volume, range volume 10-250 µl;
- Dry thermostat for 37 °C ±2 °C;
- Calibrated microplate photometer with 450 nm wavelength and OD measuring range 0-3.0.

5.3. Storage and stability of the Kit

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

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

6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE.

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

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

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

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

7.2. Procedural Note:

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

7.3. Assay flowchart

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

7.4. Alternative units:

7.5. Assay procedure:

1	Put the desired number of microstrips into the frame; allocate 4 wells for control samples CONTROL - CONTROL + (3 and 1 wells resp.) and two wells for each unknown sample. DO NOT REMOVE ADHESIVE SEALING TAPE FROM UNUSED STRIPS.
2	Pipet 90 µl of EIA Sample buffer into each well.
3	Pipet 10 µl of control samples CONTROL - CONTROL + and unknown samples into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape (included into the kit).
4	Incubate 30 minutes at 37 °C.
5	Prepare washing solution by 26x dilution of washing solution concentrate BUF WASH 26X with distilled water. Minimal quantity of washing solution should be 250 µl per well. Wash strips 3 times.
6	Dispense 100 µl of CONJ HRP into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape.
7	Incubate 30 minutes at 37 °C.
8	Wash the strips 5 times.
9	Dispense 100 µl of SUBS TMB into the wells.
10	Incubate 10-20 minutes at 18-25 °C.
11	Dispense 100 µl of STOP into the wells.
12	Measure OD (optical density) at 450 nm.
13	Set photometer blank on air.

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

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

8. EXPECTED VALUES

CALCULATION OF RESULTS.

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

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

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

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

If PI value is between 0.9 and 1.1, the result is EQUIVOCAL. Such samples should be retested. If the result is equivocal again, a new sample should be obtained 2-4 weeks later and tested again. If the result remains equivocal, the sample should be considered negative. Therapeutic consequences should not be based on results of IVD methods alone – all available clinical and laboratory findings should be used by a physician to elaborate therapeutic measures. NOTE: the patients that have received murine monoclonal antibodies for radioimaging or immunotherapy develop high titered anti-mouse antibodies (HAMA). The presence of these antibodies may cause false results in the present assay. Sera from HAMA positive patients should be treated with depleting adsorbents before assaying.

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1 Analytical specificity.

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

11.2 Analytical sensitivity.

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
















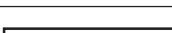
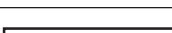
11.3 Precision.

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

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

Inter-assay precision is shown below:

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

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

Уважаемый Клиент!

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

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

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

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



Russian Diagnostic
Manufacturers Association



Классический российский
профессиональный союз клинических
лабораторных диагностов



Russian Association
of Medical Laboratory
Diagnosticians



Российская Ассоциация
Медицинской Лабораторной
Диагностики

Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

8 800 505 23 45

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

Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

105043, г. Москва, а/я 58

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

тел.: +7 (495) 510-57 07, 737-39-36;

факс: +7 (495) 737-00-40

e-mail: info@xema.ru

www.xema-medica.com

ФООО «Хема», тел.: +7 (812) 271-24-41

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

e-mail: spb@xema.ru

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

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

литер А, корп. 8/К, офис 416

e-mail: hemma-test@yandex.ru

ТОВ «Хема», тел.: (044) 422-62-16;

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

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com





Instruction for use



**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
НАБОРА РЕАГЕНТОВ
ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
АУТОАНТИТЕЛ К ТИРЕОПЕРОКСИДАЗЕ В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ)
КРОВИ**

«АТ - ТПО - ИФА»

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

aTPO EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ REF **K131**

ТУ № 9398-131-18619450-2010

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

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



For 96 determinations / На 96 определений



Для *in vitro* диагностики

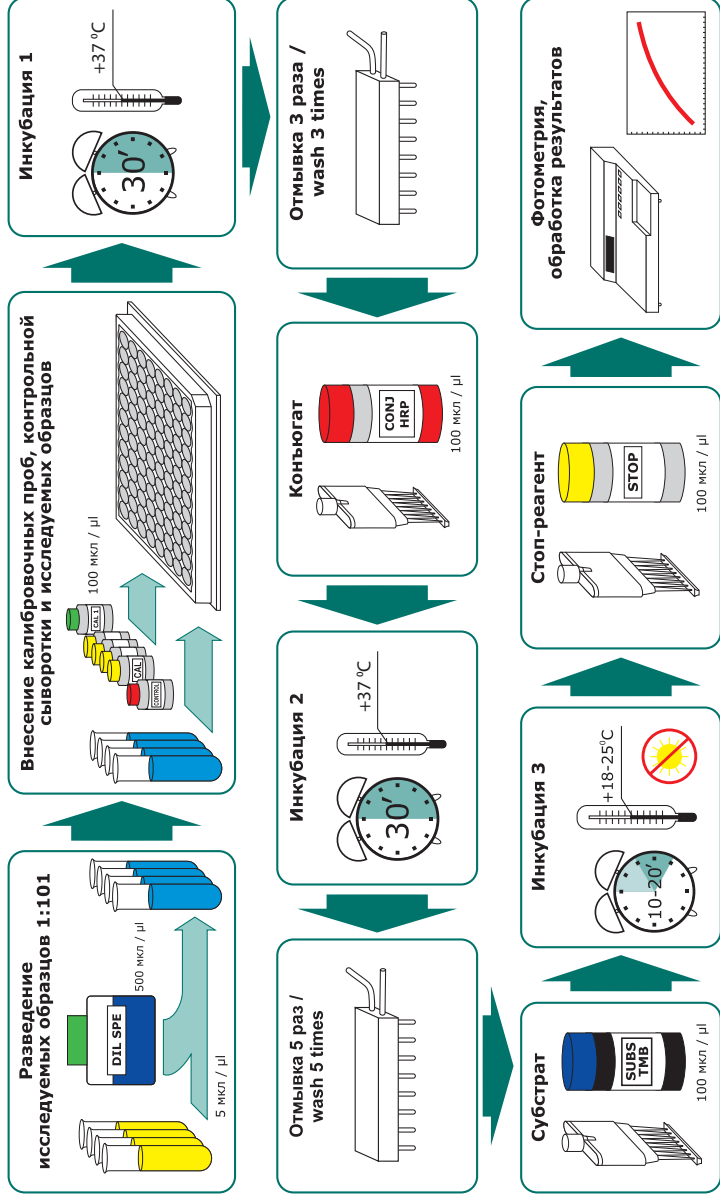


XEMA Co., Ltd.
The 9th Parkovaya str., 48
105264 Moscow, Russia
Telephone/fax: +7(495) 737-39-36; 737-00-40
e-mail: redkin@xema-medica.com
internet: www.xema-medica.com



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

Схема проведения анализа / Test procedure



K131

СОДЕРЖАНИЕ

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

CONTENT

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

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

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

1. НАЗНАЧЕНИЕ

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

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

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

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

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

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

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

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

3.2. Воспроизводимость.

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

3.3. Линейность.

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

3.4. Точность.

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

3.5. Чувствительность.

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

4. СОСТАВ НАБОРА

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

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

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

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

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

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

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

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

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

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

7.2. Приготовление планшета.

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

7.3. Приготовление отмывочного раствора.

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

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

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

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

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

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

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

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

8.4. Для проведения анализа не следует использовать 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 аутоантител к тиреопероксидазе в контрольной сыворотке.

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

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

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов – исследуемые образцы в 2 повторах и 12 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки.
2	Разбавьте образцы сыоротки (плазмы) крови в 101 раз, используя ИФА-Буфер (S011Z3). Пример: 5 мкл образца + 500 мкл ИФА-Буфера. Не разбавляйте калибровочные пробы и контрольную сыворотку.
3	Если предполагаемая концентрация АТ-ТПО в исследуемом образце превышает 1000 МЕ/мл, его следует дополнительно развести, используя ИФА-Буфер (S011Z3). Использование других буферов и реагентов для разбавления образцов может исказить результаты определения! Примечание. Для получения надежных результатов рекомендуется использовать несколько последовательных разведений исследуемого образца сыоротки (плазмы) крови.
4	Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 100 мкл калибровочной пробы и контрольной сыоротки. В остальные лунки внесите в дубликатах по 100 мкл разбавленных исследуемых образцов сыоротки (плазмы) крови. Внесение калибровочных проб, контрольной сыоротки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
5	Аккуратно перемешайте содержимое планшета круговыми движениями по горизонтальной поверхности, закройте планшет бумагой для заклеивания планшета. 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 добавляйте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п.7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок.
7	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 содержащее лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.

Продолжение таблицы на стр. 8

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

Таблица М

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

10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ

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

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

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

11. ЛИТЕРАТУРА

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

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

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

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

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

1. INTENDED USE

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

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

2. SUMMARY AND EXPLANATION

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

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

3. PRINCIPLE OF THE TEST

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

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

4.1. For professional use only.

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

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

4.4. Avoid contact with stop solution containing 5.0% 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	aTPO EIA strips 8x12 wells	1	pcs		until exp.date
2 CAL 1-5	Calibrator set, 1.1 ml each. The set contains 5 calibrators: 0: 30; 100; 300; 1000 IU/ml	5	pcs	red (CI – colourless)	2 months
3 CONTROL	Control serum (1.1 ml)	1	pcs	colourless	2 months
4 CONJ HRP	Conjugate, 14 ml	1	pcs	red	until exp.date
5 DIL SPE	EIA buffer 50 ml	1	pcs	blue	until exp.date
6 SUBS TMB	Substrate solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
7 BUF WASH 26X	Washing solution concentrate 26X, 22 ml	1	pcs	colourless	Concentrate – until exp.date Diluted washing solution – 45 days at 2-8 °C or 15 days at RT
8 STOP	Stop solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
9 N003	Plate sealing tape	2	pcs		N/A
10 K131I	Instruction aTPO EIA	1	pcs		N/A
11 K131Q	QC data sheet aTPO EIA	1	pcs		N/A

5.2. Equipment and material required but not provided

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

5.3. Storage and stability of the Kit

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

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

6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

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

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

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

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

7.2. Procedural Note:

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

7.3. Assay flowchart

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

7.4. Assay procedure

1	Put the desired number of microstrips into the frame; allocate 12 wells for the calibrators CAL 1-5 and control samples CONTROL and two wells for each unknown sample. DO NOT REMOVE ADHESIVE SEALING TAPE FROM UNUSED STRIPS.
2	Dilute all samples using buffer DIL SPE (EIA buffer) 101 fold. (5 µl of sample + 500 µl of diluent) . Do not dilute control sample and calibrators.
3	If suggested analyte concentration in the sample exceeds the highest calibrator, additionally dilute this sample accordingly, using DIL SPE (EIA buffer). Use of other buffers or reagents for sample dilution may lead to incorrect measurement.
4	Pipet 100 µl of calibrators CAL 1-5, control sample CONTROL and unknown samples into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape (included into the kit).
5	Incubate 30 minutes at +37 °C.
6	Prepare washing solution by 26X dilution of washing solution concentrate BUF WASH 26X by distilled water. Minimal quantity of washing solution should be 250 µl per well. Wash strips 3 times.
7	Dispense 100 µl of CONJ HRP into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape (included into the kit).
8	Incubate 30 minutes at +37 °C.
9	Wash the strips 5 times.
10	Dispense 100 µl of SUBS TMB into the wells.
11	Incubate 10-20 minutes at +18...+25 °C.
12	Dispense 100 µl of STOP into the wells.
13	Measure OD (optical density) at 450 nm.
14	Set photometer blank on first calibrator.
15	Apply point-by-point method for data reduction.

7.5. Sample processing

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

8. QUALITY CONTROL

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

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

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

9. CALCULATION OF RESULTS

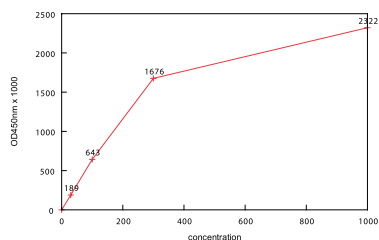
9.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

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

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

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

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



10. EXPECTED VALUES

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

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

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical sensitivity

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

11.2. Linearity


















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

11.3. Recovery

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

12. LITERATURE

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

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

Уважаемый Клиент!

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

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

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

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



Russian Diagnostic
Manufacturers Association



Ассоциация российских
производителей 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
АУТОАНТИТЕЛ К ТИРЕОГЛОБУЛИНУ В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ
«АТ-ТГ-ИФА»**

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

aTG EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF** **K132**

ТУ № 9398-132-18619450-2010

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

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



For 96 determinations / На 96 определений



Для *in vitro* диагностики



XEMA Co., Ltd.

The 9th Parkovaya str., 48

105264 Moscow, Russia

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

e-mail: redkin@xema-medica.com

internet: www.xema-medica.com



Authorized Representative in EU:

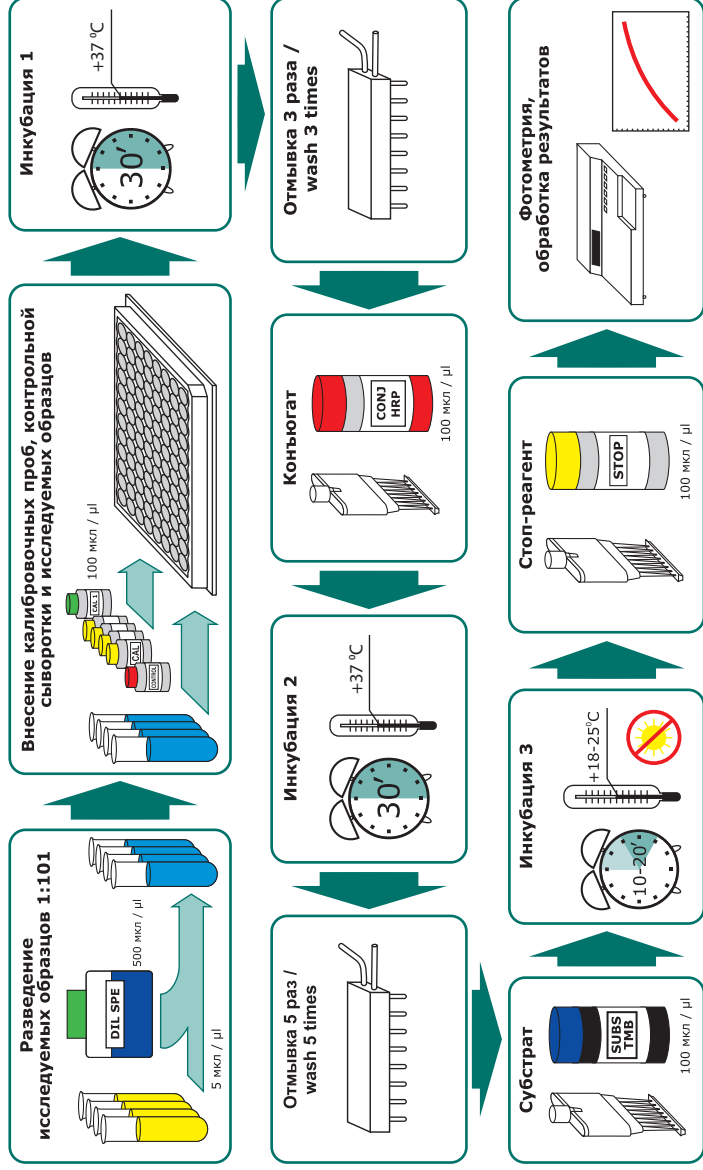
Polmed.de

Steinacker 20, D-73773

Aichwald, Germany

e-mail: info@polmed.de

Схема проведения анализа / Test procedure



K131; K132

СОДЕРЖАНИЕ

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

CONTENT

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

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

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

1. НАЗНАЧЕНИЕ

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

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

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

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

эффективности лечения и нормализации функций ЩЖ наиболее результативно совместно с определением уровня Т3, Т4 и ТТГ. Однако при лечении тиреозита Хашимото признаком результативности является понижение уровня АТГ (АТПО понижается намного быстрее). При болезни Грейвса титр антител падает после субтотальной тиреоидэктомии или антитиреоидной терапии, но слегка увеличивается при использовании йода-131. Низкие концентрации АТГ наблюдаются у здоровых людей, особенно у женщин. Диагностическая и прогностическая значимость данного критерия пока мало изучена.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

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

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

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

3.2. Воспроизводимость.

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

3.3. Линейность.

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

3.4. Точность.

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

3.5. Чувствительность.

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

4. СОСТАВ НАБОРА

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

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

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

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

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

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

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность содержимого лунок планшета при длине волны 450 нм;
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы в диапазоне 5–250 мкл;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- бумага фильтровальная.

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

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

7.2. Приготовление планшета.

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

7.3. Приготовление отмывочного раствора.

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

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

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

Допускается хранение (транспортировка) Набора при температуре до +25 °С не более 15 суток.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов – исследуемые образцы в 2 повторах и 12 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки.
2	Разбавьте образцы сыворотки (плазмы) крови в 101 раз, используя ИФА-Буфер (S011Z3). Пример: 5 мкл образца + 500 мкл ИФА-Буфера. Не разбавляйте калибровочные пробы и контрольную сыворотку.
3	Если предполагаемая концентрация АТ-ТГ в исследуемом образце превышает 3000 МЕ/мл, его следует дополнительно развести, используя ИФА-Буфер (S011Z3). Использование других буферов и реагентов для разбавления образцов может исказить результаты определения! Примечание. Для получения надежных результатов рекомендуется использовать несколько последовательных разведений исследуемого образца сыворотки (плазмы) крови.
4	Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 100 мкл калибровочной пробы и контрольной сыворотки. В остальные лунки внесите в дубликатах по 100 мкл разбавленных исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови. Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
5	Аккуратно перемешайте содержимое планшета круговыми движениями по горизонтальной поверхности, закройте планшет бумагой для заклеивания планшета. 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 добавляйте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п. 7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок.
7	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.

Продолжение таблицы на стр. 8

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-реактента. Бланк фотометра выставляйте по калибровочной пробе С1.
13	Постройте в линейных координатах калибровочный график: ось абсцисс (X) – концентрация АТ-ТГ в калибровочных пробах (МЕ/мл), ось ординат (Y) – оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма обсчета (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод.
14	Определите по калибровочному графику содержание АТ-ТГ в исследуемых образцах. . Если исследуемый образец предразводили (см. п. 3), умножьте полученный результат на фактор разведения.

Таблица М

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

10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ

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

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

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

11. ЛИТЕРАТУРА

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

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

электронная почта: info@xema.ru; 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 AUTOANTIBODIES TO THYROGLOBULIN IN HUMAN SERUM OR PLASMA

1. INTENDED USE

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

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

2. SUMMARY AND EXPLANATION

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

3. PRINCIPLE OF THE TEST

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

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

4.1. For professional use only.

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

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

4.4. Avoid contact with stop solution containing 5.0% 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	aTG EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp.date
2 CAL 1-5	Calibrator set, 1.1 ml each. The set contains 5 calibrators: 0; 100; 300; 1000; 3000 IU/ml	5	pcs	blue (C1 – colourless)	2 months
3 CONTROL	Control serum (1.1 ml)	1	pcs	colourless	2 months
4 CONJ HRP	Conjugate, 14 ml	1	pcs	purple	until exp.date
5 DIL SPE	EIA buffer 50 ml	1	pcs	blue	until exp.date
6 SUBS TMB	Substrate solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
7 BUF WASH 26X	Washing solution concentrate 26X, 22 ml	1	pcs	colourless	Concentrate – until exp.date Diluted washing solution – 45 days at 2-8 °C or 15 days at RT
8 STOP	Stop solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
9 N003	Plate sealing tape	2	pcs		N/A
10 K1321	Instruction aTG EIA	1	pcs		N/A
11 K132Q	QC data sheet aTG EIA	1	pcs		N/A

5.2. Equipment and material required but not provided

- Distilled or deionized water;
- Automatic or semiautomatic multichannel micropipettes, 100–250 µl, is useful but not essential;
- Calibrated micropipettes with variable volume, range volume 5–250 µl;
- Calibrated microplate photometer with 450 nm wavelength and OD measuring range 0–3.0.

5.3. Storage and stability of the Kit

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

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

6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

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

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

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

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

7.2. Procedural Note:

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

7.3. Assay flowchart

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

7.4. Assay procedure

1	Put the desired number of microstrips into the frame; allocate 12 wells for the calibrators CAL 1-5 and control samples CONTROL and two wells for each unknown sample. DO NOT REMOVE ADHESIVE SEALING TAPE FROM UNUSED STRIPS.
2	Dilute all samples using buffer DIL SPE (EIA buffer) 101 fold. (5 µl of sample + 500 µl of diluent) . Do not dilute control sample and calibrators.
3	If suggested analyte concentration in the sample exceeds the highest calibrator, additionally dilute this sample accordingly, using DIL SPE (EIA buffer). Use of other buffers or reagents for sample dilution may lead to incorrect measurement.
4	Pipet 100 µl of calibrators CAL 1-5, control sample CONTROL and unknown samples into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape (included into the kit).
5	Incubate 30 minutes at +37 °C.
6	Prepare washing solution by 26X dilution of washing solution concentrate BUF WASH 26X by distilled water. Minimal quantity of washing solution should be 250 µl per well. Wash strips 3 times.
7	Dispense 100 µl of CONJ HRP into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape.
8	Incubate 30 minutes at +37 °C.
9	Wash the strips 5 times.
10	Dispense 100 µl of SUBS TMB into the wells.
11	Incubate 10-20 minutes at +18...+25 °C.
12	Dispense 100 µl of STOP into the wells.
13	Measure OD (optical density) at 450 nm.
14	Set photometer blank on first calibrator.
15	Apply point-by-point method for data reduction.

7.5. Sample processing

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

8. QUALITY CONTROL

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

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

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

9. CALCULATION OF RESULTS

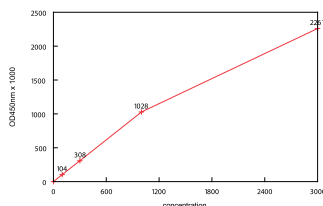
9.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

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

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

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

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



10. EXPECTED VALUES

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

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

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical sensitivity

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

11.2. Linearity


















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

11.3. Recovery

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

12. LITERATURE

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

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

Уважаемый Клиент!

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

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

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

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



Russian Diagnostic
Manufacturers Association



Ассоциация российских
производителей средств лабораторной диагностики



Russian Association
of Medical Laboratory
Diagnosticians



Российская ассоциация
медицинских лабораторных
диагностиков

Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

8 800 505 23 45

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

Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

105043, г. Москва, а/я 58

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

тел.: +7 (495) 510-57 07, 737-39-36;

факс: +7 (495) 737-00-40

e-mail: info@xema.ru

www.xema-medica.com

ФООО «Хема», тел.: +7 (812) 271-24-41

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

e-mail: spb@xema.ru

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

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

литер А, корп. 8/К, офис 416

e-mail: hemma-test@yandex.ru

ТОВ «Хема», тел.: (044) 422-62-16;

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

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com





Instruction for use

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

«антиЛЯМБЛИЯ-ИФА»

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

anti-Giardia Lamblia-EIA



НОМЕР ПО КАТАЛОГУ REF **K171**

ТУ № 9398-171-18619450-2012

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

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



На 96, 192 или 480 определений



Для *in vitro* диагностики



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



ООО "ХЕМА"

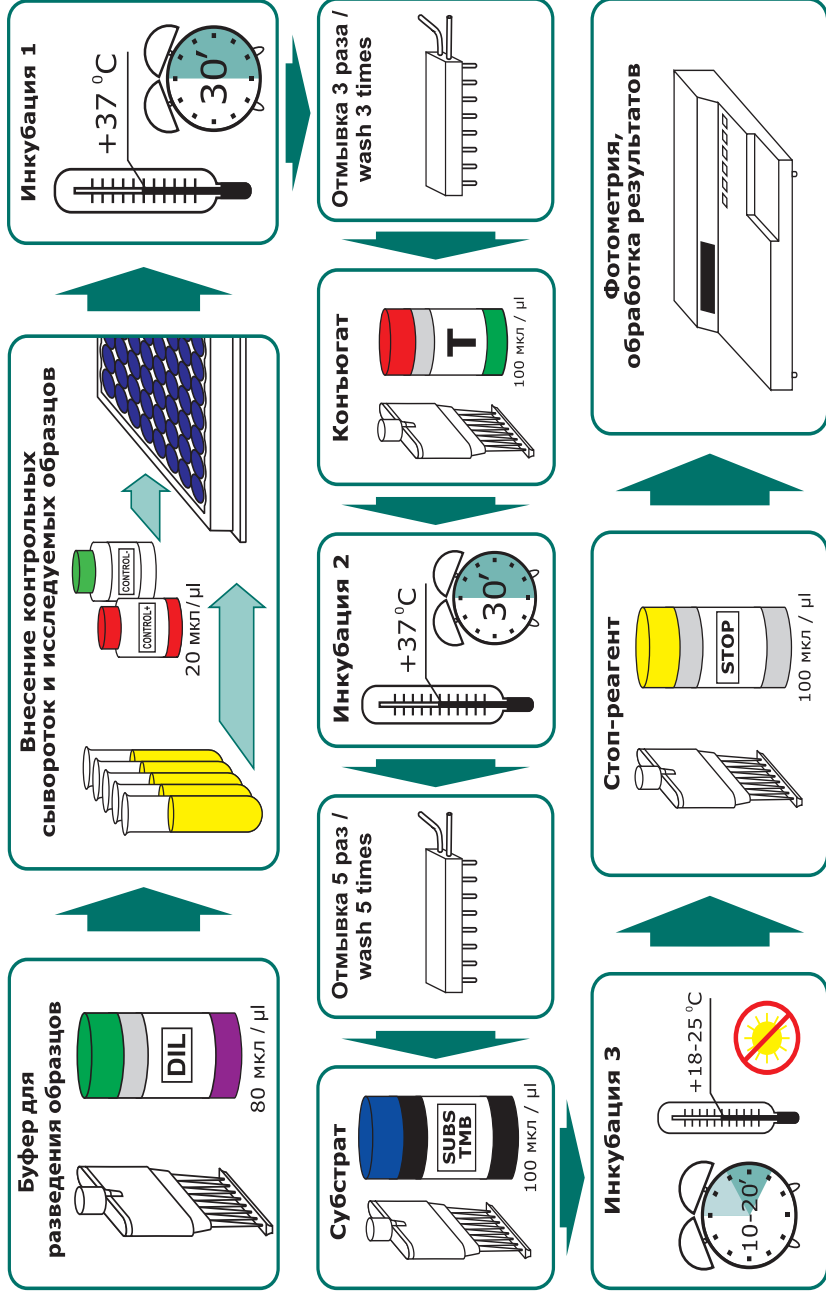
105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48

+7(495) 510-57-07

redkin@xema-medica.com

www.xema-medica.com

Схема проведения анализа / Test procedure



K171

СОДЕРЖАНИЕ

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

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

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

1. НАЗНАЧЕНИЕ

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

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

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

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

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

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение антител к антигенам лямблий основано на использовании непрямого варианта твердофазного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы антигены *Giardia lamblia*. Антитела из образца связываются с антигеном на поверхности лунки. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата – смеси антивидовых (специфических к антителам классов IgG, IgM, IgA) моноклональных антител с пероксидазой хрена. В результате образуется связанный с пластиком «сэндвич», содержащий пероксидазу. Во время инкубации с раствором субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) происходит окрашивание растворов в лунках. Интенсивность окраски прямо пропорциональна содержанию специфических антител к антигенам лямблий. Индекс позитивности (ИП, %) антител к антигенам лямблий в исследуемых образцах рассчитывается по формуле, приведенной в инструкции.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

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

3.2. Воспроизводимость.

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

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

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

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

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

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

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

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

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

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

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

5. СОСТАВ НАБОРА

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

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ,
НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность содержимого лунок планшета при длине волны 450 нм;
- термостат, поддерживающий температуру +37 °C ± 0.1 °C;
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы в диапазоне 10–250 мкл;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки одноразовые резиновые или пластиковые;
- бумага фильтровальная.

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

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

7.2. Приготовление планшета.

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

7.3. Приготовление отмывочного раствора.

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

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

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

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

8.2. Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 46 исследуемых образцов и 2 проб контрольной сыворотки (всего 96 определений).

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

- оставшиеся неиспользованными стрипы необходимо тщательно заклеить Бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- Буфер для разведения образцов, Конъюгат, Раствор субстрата ТМБ, Стоп-реагент – после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- Контрольные сыворотки после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °С не более 2 месяцев;
- оставшийся неиспользованным Концентрат отмывочного раствора следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- приготовленный отмывочный раствор следует хранить при комнатной температуре (+18...+25 °С) не более 15 суток или при температуре +2...+8 °С не более 45 суток.

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

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

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

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

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

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

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

10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ

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

10.2. Интерпретация результатов:

- при $ИП > 1.1$ образец положительный;

- при $ИП < 0.9$ образец отрицательный;

- при значении ИП, лежащем в промежутке от 0,91 до 1,09 – результат в пограничной зоне (+/-). Такие сыворотки рекомендуется исследовать повторно. Если повторный полученный результат будет неопределенным, то следует провести тестирование сыворотки, полученной через 2-4 недели. В случае получения неопределенных результатов такие образцы считать отрицательными.

11. ЛИТЕРАТУРА

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

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

105043, г. Москва, а/я 58

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


















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

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

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

Руководитель службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА»,

к. б. н. Д. С. Кострикин

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

Уважаемый Клиент!

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

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

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

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



Russian Diagnostic
Manufacturers Association



Классический российский
профессиональный союз клинических
лабораторных диагностов



Russian Association
of Medical Laboratory
Diagnosticians



Российская ассоциация
медицинской лабораторной
диагностики

Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

8 800 505 23 45

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

Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

105043, г. Москва, а/я 58

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

тел.: +7 (495) 510-57 07, 737-39-36;

факс: +7 (495) 737-00-40

e-mail: info@xema.ru

www.xema-medica.com

ФООО «Хема», тел.: +7 (812) 271-24-41

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

e-mail: spb@xema.ru

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

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

литер А, корп. 8/К, офис 416

e-mail: hemma-test@yandex.ru

ТОВ «Хема», тел.: (044) 422-62-16;

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

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com





Instruction for use



**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
НАБОРА РЕАГЕНТОВ
ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
ОБЩЕГО ИММУНОГЛОБУЛИНА КЛАССА E (IgE)
В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ**

«ОБЩИЙ IgE-ИФА»

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

Total IgE EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ REF **K200**

ТУ № 9398-200-18619450-2010

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
№ ФСР 2009/04488 от 11 июня 2010 года

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



For 96 determinations



Для *in vitro* диагностики

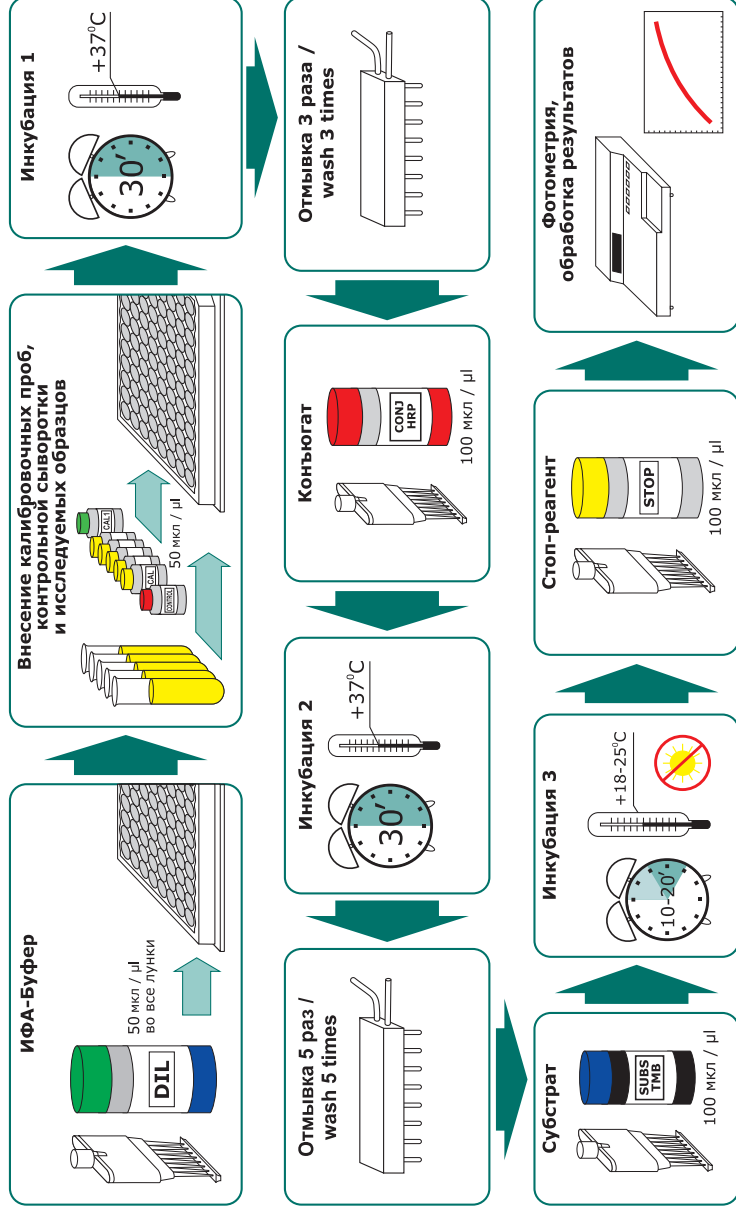


XEMA Co., Ltd.
The 9-ya Parkovaya str., 48
105264 Moscow, Russia
Tel./fax: +7(495) 510-57-07
e-mail: redkin@xema-medica.com
internet: www.xema-medica.com



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

Схема проведения анализа / Test procedure



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	9
4. WARNINGS AND PRECAUTIONS	10
5. KIT COMPONENTS	11
6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE	12
7. TEST PROCEDURE	12
8. QUALITY CONTROL	14
9. CALCULATION OF RESULTS	14
10. EXPECTED VALUES	15
11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS	15
12. LITERATURE	15

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

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОБЩЕГО ИММУНОГЛОБУЛИНА КЛАССА E (IgE) В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «Общий IgE-ИФА»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «Общий IgE-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации общего иммуноглобулина класса E (IgE) в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Общий иммуноглобулин E (IgE) считается лабораторным маркером atopических заболеваний (атопической астмы, дерматита и риноконъюнктивита). Атопический (IgE-зависимый) механизм может также лежать в основе гастроэнтероколита, крапивницы, других форм васкулитов (в том числе системных), холецистита, вульвовагинита и цистита. Часть лекарственной аллергии (преимущественно на пенициллины и белковые препараты) также развивается по IgE-зависимому механизму. При всех вышеперечисленных состояниях выработка высоких титров специфических антител класса IgE может приводить к повышению уровня общего IgE в сыворотке. Особенно высокий уровень общего IgE характерен для atopического дерматита. Кроме atopических заболеваний, общий IgE сыворотки крови значительно повышается при паразитарных инвазиях и микозах (особенно системных), редко – при системных аутоиммунных заболеваниях и иммунодефицитных состояниях (особенно при гипер-IgE синдроме), а также при мастоцитозе (опухоль из тучных клеток) и чрезвычайно редкой IgE-миеломе. Снижение уровня общего IgE в сыворотке (ниже 15 МЕ/мл у взрослых) – явление редкое и малоизученное, описано при гипогаммаглобулинемиях, некоторых аутоиммунных заболеваниях, язвенном колите и первичном билиарном циррозе.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

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

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

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

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

3.2. Воспроизводимость.

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

3.3. Линейность.

Зависимость концентрации общего IgE в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей общий IgE, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 50-1000 МЕ/мл и составляет $\pm 10.0\%$.

3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации общего IgE предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 200 МЕ/мл. Процент «открытия» составляет 90-110%.

3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «Общий IgE-ИФА» концентрация общего IgE в сыворотке (плазме) крови не превышает 3.0 МЕ/мл.

4. СОСТАВ НАБОРА

Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1 P200Z	SORB MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2 C200Z	CAL 1-5	Калибровочные пробы на основе фосфатного буфера (рН 7.2-7.4), содержащие известные количества общего иммуноглобулина класса E (IgE) – 0; 50; 200; 500; 1000 МЕ/мл , готовы к использованию (по 0.8 мл каждая)	5	шт.	прозрачные жидкости красного цвета (калибровочная проба 0 – прозрачная бесцветная жидкость)
3 Q200Z	CONTROL	Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием общего иммуноглобулина класса E (IgE), готова к использованию (0.8 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
4 T200Z	CONJ HRP	Конъюгат , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость красного цвета
5 S011Z	DIL	ИФА-Буфер , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость синего цвета
6 R055Z	SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
7 S008Z	BUF WASH 26X	Концентрат отмывочного раствора (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26х-кратный (22 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
8 R050Z	STOP	Стоп-реагент , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
9 N003	-	Бумага для заклеивания планшета	2	шт.	-
10 K200I	-	Инструкция по применению Набора реагентов «Общий IgE-ИФА»	1	шт.	-
11 K200Q	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «Общий IgE-ИФА»	1	шт.	-

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

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

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

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

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

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность содержимого лунок планшета при длине волны 450 нм;
- термостат, поддерживающий температуру $+37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$;
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы в диапазоне 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 выдерживать при комнатной температуре ($+18...+25\text{ }^{\circ}\text{C}$) не менее 30 мин.

7.2. Приготовление планшета.

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

7.3. Приготовление отмывочного раствора.

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

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

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

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

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

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

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

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

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

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

8.6. При использовании Набора для проведения нескольких независимых серий анализов следует иметь в виду, что для каждого независимого определения необходимо построение нового калибровочного графика; кроме этого, рекомендуется определение концентрации общего иммуноглобулина класса E (IgE) 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 сывотки (плазмы) крови. Внесение калибровочных проб, контрольной сывотки 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 лунок аспирацией (например, с помощью водоструйного насоса) или декантированием и отмойте лунки 3 раза. При каждой отмывке добавьте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п. 7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок.
6	Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.
7	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте его в течение 30 минут при температуре +37 °С.
8	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз.
9	Внесите во все лунки по 100 мкл раствора тетраметилбензидаина. Внесение раствора субстрата тетраметилбензидаина 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 тетраметилбензидаина, по 100 мкл стоп-реакента , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
11	Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм. Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реакента. Бланк фотометра выставляйте по калибровочной пробе С1.
12	Постройте в линейных координатах калибровочный график: ось абсцисс (x) – концентрация общего IgE в калибровочных пробах (МЕ/мл), ось ординат (y) – оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма обсчета (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод.
13	Определите по калибровочному графику содержание общего IgE 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 общего IgE в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (3.0 МЕ/мл), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (1000 МЕ/мл) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация общего IgE ниже 3.0 МЕ/мл или выше 1000 МЕ/мл.

В Наборе «Общий IgE-ИФА» значения концентраций калибровочных проб выражены в МЕ/мл. Для пересчета концентраций в нг/мл, полученное значение концентрации в МЕ/мл следует умножить на 2.4.

$$1 \text{ МЕ/мл} = 2.4 \text{ нг/мл}$$

Исследуемая группа	Единицы, МЕ/мл		Единицы доп., нг/мл	
	Нижний предел	Верхний предел	Нижний предел	Верхний предел
до 6 месяцев	-	12	-	28.8
6-12 месяцев	-	30	-	72.0
1-3 года	-	45	-	108.0
4-6 лет	-	70	-	168.0
7-9 лет	-	90	-	216.0
10-15 лет	-	120	-	288
>15 лет	-	130	-	312.0

11. ЛИТЕРАТУРА

1. Zetterstrom and Hohansson S.G.O. Allergy 1981; 36:537.
2. Buckley R. H. Immunopharmacology of Allergic Disease 1979; 117.
3. Michel f. B., Bousquet J. and Greilier P. J. Allergy Clin. Immunol. 1980; 64:422.
4. Ishizaka T. Ann Allergy 1982; 48: 313.
5. Kulczycki A. Jr. J. Allergy Clin. Immunol. 1981; 68:5.

По вопросам, касающимся качества Набора «Общий IgE-ИФА», следует обращаться в ООО «ХЕМА» по адресу:
105264, 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 TOTAL IgE IN HUMAN SERUM OR PLASMA

1. INTENDED USE

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

This kit is designed for measurement of total IgE 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

Total immunoglobulin E (IgE) serum level is widely reported as the laboratory marker of atopic diseases such as atopic asthma, atopic dermatitis, and pollenosis. Separately, high levels of total serum IgE are characteristic for parasitic infestations and some other clinical disorders including superficial and systemic mycosis. Decreased levels of IgE are found in cases of hypogammaglobulinemia, autoimmune diseases, ulcerative colitis, and primary biliary cirrhosis.

In allergic patients, serum total IgE level in general corresponds to the severity of the allergic disease and may be therefore used for monitoring of all kinds of anti-allergic therapy or allergen elimination.

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 mAb to IgE epsilon. Antigen from the specimen is captured by the antibodies coated onto the microwell surface. Unbound material is removed by washing procedure. Second antibodies – rabbit polyclonal antibodies to IgE, labelled with peroxidase enzyme, are then added into the microwells. After subsequent washing procedure, the remaining enzymatic activity bound to the microwell surface is detected and quantified by addition of chromogen-substrate mixture, stop solution and photometry at 450 nm. Optical density in the microwell is directly related to the quantity of the measured analyte in the specimen.

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

4.1. For professional use only.

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

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

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

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

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

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

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

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

4.10. Do not mix reagents from different lots.

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

4.12. Do not pipette reagents by mouth.

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

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

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

5.1. Contents of the Kit

5. KIT COMPONENTS

Symbol	Description	Qty	Units	Colour code	Stability of opened/diluted components
1 SORB MTP	Total IgE EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp.date
2 CAL 1-5	Calibrator set, 0.8 ml each. The set contains 5 calibrators: 0; 50; 200; 500; 1000 IU/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 DIL	EIA buffer, 14 ml	1	pcs	blue	until exp.date
6 SUBS TMB	Substrate solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
7 BUF WASH 26X	Washing solution concentrate 26x, 22 ml	1	pcs	colourless	Concentrate – until exp.date Diluted washing solution – 45 days at 2-8 °C or 15 days at RT
8 STOP	Stop solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
9 N003	Plate sealing tape	2	pcs		N/A
10 K200I	Instruction Total IgE EIA	1	pcs		N/A
11 K200Q	QC data sheet Total IgE 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...+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 = 2.4 ng/ml

7.5. Assay procedure

1	Put the desired number of microstrips into the frame; allocate 12 wells for the calibrators CAL 1-5 and control samples CONTROL and two wells for each unknown sample. DO NOT REMOVE ADHESIVE SEALING TAPE FROM UNUSED STRIPS.
2	Pipet 50 µl of EIA buffer into each well.
3	Pipet 50 µl of calibrators CAL 1-5, control sample CONTROL and unknown samples into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape (included into the kit).
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.

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

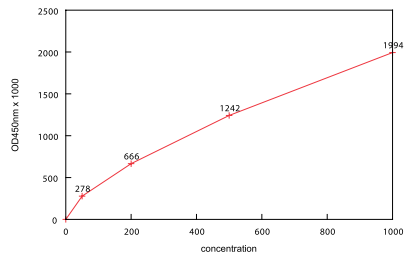
1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

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

3. Determine the corresponding concentration of total IgE 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)
CAL 1	0 IU/ml	0.08
CAL 2	50 IU/ml	0.36
CAL 3	200 IU/ml	0.75
CAL 4	500 IU/ml	1.32
CAL 5	1000 IU/ml	2.08



10. EXPECTED VALUES

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

Sex, age	Units, IU/ml		Units alternative, ng/ml	
	Lower limit	Upper limit	Lower limit	Upper limit
<6 months	-	12	-	28.8
6-12 months	-	30	-	72.0
1-3 years	-	45	-	108.0
4-6 years	-	70	-	168.0
7-9 years	-	90	-	216.0
10-15 years	-	120	-	288
>15 years	-	130	-	312.0

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

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

11.2. Analytical sensitivity.

Sensitivity of the assay was assessed as being 3.0 IU/ml.

11.3. Linearity.


















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

11.4. Recovery.

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

12. LITERATURE

1. Zetterstrom and Hohansson S.G.O. Allergy 1981; 36:537.
2. Buckley R. H. Immunopharmacology of Allergic Disease 1979; 117.
3. Michel f. B., Bousquet J. and Greillier P. J. Allergy Clin. Immunol. 1980; 64:422.
4. Ishizaka T. Ann Allergy 1982; 48: 313.
5. Kulczynski A. Jr. J. Allergy Clin. Immunol. 1981; 68:5.

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

Уважаемый Клиент!

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

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

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

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



Russian Diagnostic Manufacturers Association



Ассоциация российских производителей средств лабораторной диагностики



RUSSIAN ASSOCIATION OF MEDICAL LABORATORY DIAGNOSTICS



РОССИЙСКАЯ АССОЦИАЦИЯ МЕДИЦИНСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

8 800 505 23 45

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

Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

105264, 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

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) 521-3-521;

03179 Киев, ул. Васильковская, д. 98, 2 этаж;

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com





Instruction for use



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

«ТТГ-ИФА»

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

TSH EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ REF **K201**

ТУ № 9398-201-18619450-2010

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

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



For 96 determinations/На 96 определений



Для *ин vitro* диагностики

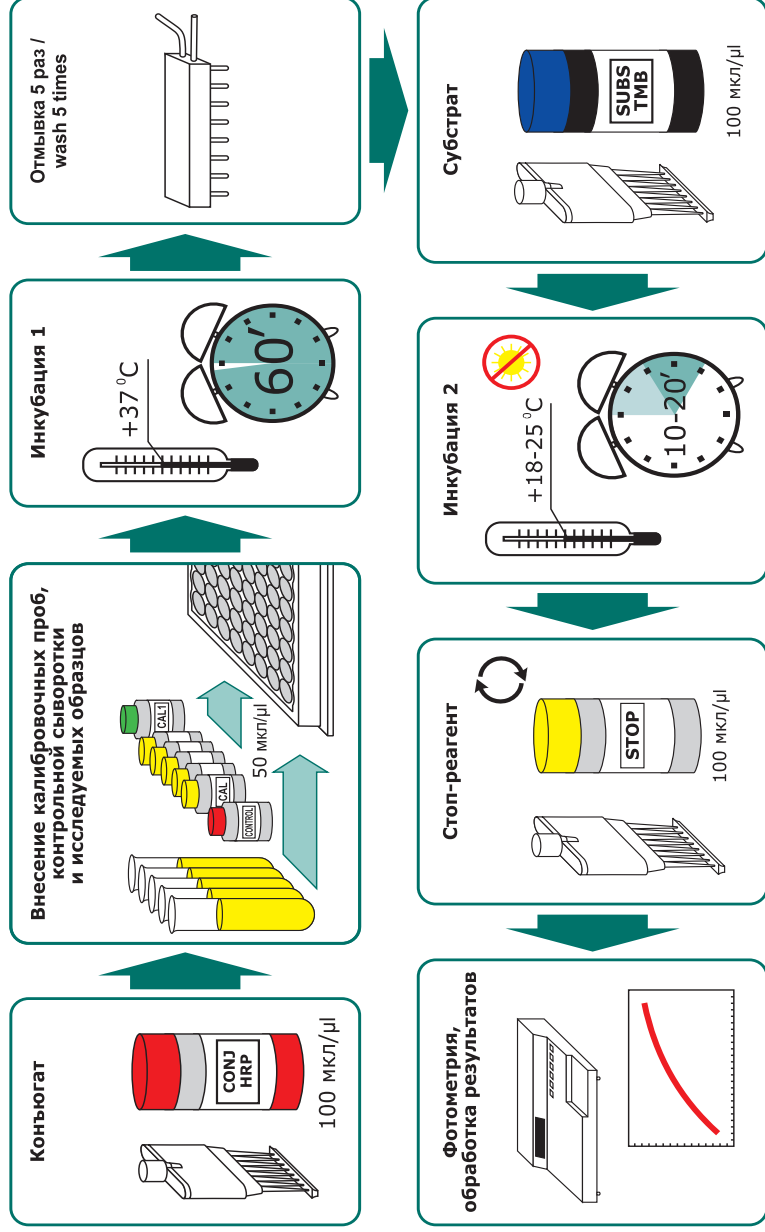


XEMA Co., Ltd.
The 9th Parkovaya str., 48
105264 Moscow, Russia
Telephone/fax: +7(495) 737-39-36; 737-00-40
e-mail: redkin@xema-medica.com
internet: www.xema-medica.com



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

Схема проведения анализа / Test procedure



K201; K202-206; K221; K224; K225

СОДЕРЖАНИЕ

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

CONTENT

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

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

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

1. НАЗНАЧЕНИЕ

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

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

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

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

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

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

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

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

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

3.2. Воспроизводимость.

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

3.3. Линейность.

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

3.4. Точность.

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

3.5. Чувствительность.

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

4. СОСТАВ НАБОРА

Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1 P201Z	SORB MTP	Планишет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2 C201Z	CAL 1-6	Калибровочные пробы на основе фосфатного буфера (рН 7.2-7.4), содержащие известные количества тиреотропного гормона – 0; 0.2; 1; 5; 10; 20 мМЕ/л , готовы к использованию (калибровочная проба 0 мМЕ/л – 2 мл, остальные – по 0.8 мл каждая)	6	шт.	прозрачные жидкости красного цвета (калибровочная проба 0 – прозрачная бесцветная жидкость)
3 Q201Z	CONTROL	Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием тиреотропного гормона, готова к использованию (0.8 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
4 T201Z	CONJ HRP	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 K201I	-	Руководство пользователя по применению Набора реагентов «ТТГ-ИФА»	1	шт.	-
10 K201Q	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «ТТГ-ИФА»	1	шт.	-

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

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

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

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

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

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

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

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

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

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

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

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

7.2. Приготовление планшета.

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

7.3. Приготовление отмывочного раствора.

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

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов – исследуемые образцы в 2 повторах и 14 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки.
2	Если предполагаемая концентрация ТТГ в исследуемом образце превышает 20 мМЕ/л, его следует дополнительно развести, используя калибровочную пробу 0. Использование других буферов и реагентов для разбавления образцов может искажать результаты определения! Примечание. Для получения надежных результатов рекомендуется использовать несколько последовательных разведений исследуемого образца сыворотки (плазмы) крови.
3	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 тетраметилбензидаина. Внесение раствора субстрата тетраметилбензидаина в лунки необходимо произвести в течение 2–3 минут. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °С) в течение 10–20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.
8	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.
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 (х) – концентрация ТТГ в калибровочных пробах (мМЕ/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.
11	Определите по калибровочному графику содержание ТТГ в исследуемых образцах. Если исследуемый образец предразводили (см. п.2), умножьте полученный результат на фактор разведения.

10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ

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

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

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

11. ЛИТЕРАТУРА

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

Instruction for use

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

1. INTENDED USE

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

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

2. SUMMARY AND EXPLANATION

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

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

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

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

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

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

3. PRINCIPLE OF THE TEST

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

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

4.1. For professional use only.

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

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

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

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

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

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

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

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

4.10. Do not mix reagents from different lots.

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

4.12. Do not pipette reagents by mouth.

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

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

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

5.1. Contents of the Kit

5. KIT COMPONENTS

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

5.2. Equipment and material required but not provided

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

5.3. Storage and stability of the Kit

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

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

6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

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

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

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

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

7.2. Procedural Note:

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

7.3. Assay flowchart

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

7.4. Assay procedure

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

7.5. Handling notes

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

8. QUALITY CONTROL

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

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

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

9. CALCULATION OF RESULTS

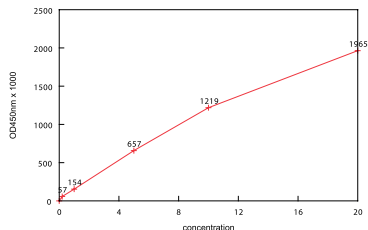
9.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

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

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

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

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



10. EXPECTED VALUES

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

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

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

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

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

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

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

12. LITERATURE

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

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

ИНСТРУКЦИЯ

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

«ТТГ-ИФА»

1. НАЗНАЧЕНИЕ.

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

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

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

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

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

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

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

1.3. Диагностическая значимость определения.

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

1.4. Область применения – клиническая лабораторная диагностика.

2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

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

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

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

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

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

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

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

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

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

3.6. Клиническая проверка. Нормальные значения.

Исследуемая группа	Нижний предел	Верхний предел
Здоровые доноры	0.3	4.0

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

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

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

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

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

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА.

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

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

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

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

6.5. Приготовление планшета.

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

6.6. Приготовление отмывочного раствора.

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

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

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

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

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

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

7.2. Внести во все лунки по 100 мкл конъюгата.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

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

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

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

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

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

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

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

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

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

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

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

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


















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

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

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

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

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

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

Уважаемый Клиент!

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

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

Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

8 800 505 23 45

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

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

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

Вопросы сотрудничества на рынках РФ:

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

Вопросы международного сотрудничества (страны ближнего и дальнего зарубежья):

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

Отдел клиентского сервиса:

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



Russian Diagnostic
Manufacturers Association



Ассоциация российских
производителей оборудования
лабораторий диагностики



RUSSIAN ASSOCIATION
OF MEDICAL LABORATORY
TECHNOLOGISTS



РОССИЙСКАЯ АССОЦИАЦИЯ
МЕДИЦИНСКИХ ЛАБОРАТОРИЙ



xemahelp



xemahelp@gmail.com





Instruction for use



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

«ЛГ-ИФА»

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

LH EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF** **K202**

ТУ № 9398-202-18619450-2010

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
№ ФСР 2007/00620 от 25 октября 2010 г.

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



For 96 determinations/На 96 определений



Для *in vitro* диагностики



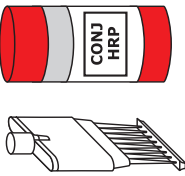
XEMA Co., Ltd.
The 9th Parkovaya str., 48
105264 Moscow, Russia
Tel./fax: +7(495) 510-57-07
e-mail: redkin@xema-medica.com
internet: www.xema-medica.com



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

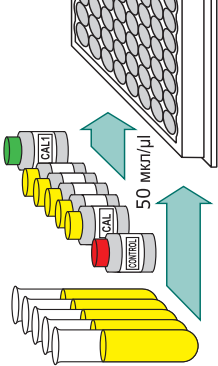
Схема проведения анализа / Test procedure

Конъюгат



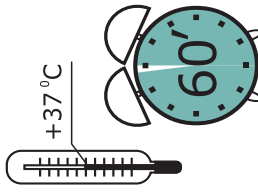
100 мкл/μl

Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов



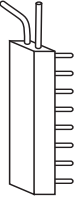
50 мкл/μl

Инкубация 1

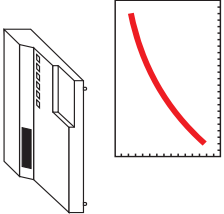


+37 °C
60'

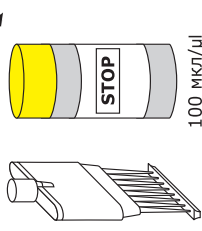
Отмывка 5 раз / wash 5 times



Фотометрия, обработка результатов

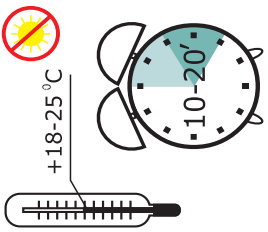


Стоп-реагент



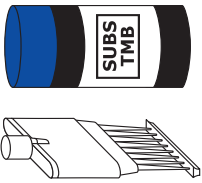
100 мкл/μl

Инкубация 2



+18-25 °C
10-20'

Субстрат



100 мкл/μl

K201; K202-206; K221; K224; K225

СОДЕРЖАНИЕ

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

CONTENT

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

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

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

1. НАЗНАЧЕНИЕ

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

1.2. Лютеотропный гормон (ЛГ) – гликопротеид с молекулярной массой около 28000 Да. Он секретируется гонадотропными клетками передней доли гипофиза. У женщин ЛГ регулирует функцию желтого тела и стимулирует биосинтез прогестерона. У мужчин ЛГ стимулирует образование тестостерона в интерстициальных клетках Лейдига. Уровень гормона в течение менструального цикла остается низким, за исключением середины цикла, когда его концентрация может возрастать в 5–10 раз. Примерно за 12 часов до возникновения пика ЛГ ему предшествует пик эстрадиола, а сама овуляция происходит спустя 12-20 часов после достижения максимальной концентрации ЛГ. У женщин гормон стимулирует разрыв яичника и образование желтого тела, которое начинает секретировать в кровь прогестерон, увеличивая таким образом его концентрацию в лютеиновую фазу. Содержание ЛГ в крови как у мужчин, так и у женщин зависит от суточного ритма, поэтому определение этого гормона следует проводить в одно и то же время. Периодические увеличения концентрации ЛГ более выражены у женщин (в зависимости от стадии менструального цикла). Так, колебания уровня гормона становятся менее частыми в конце лютеиновой стадии, а их выраженность – в конце фолликулиновой. Увеличение концентрации ЛГ наблюдается при первичной дисфункции половых желез; аменорее, вызванной недостаточностью яичников; синдроме Штейна-Левенталя; менопаузе. Снижение концентрации ЛГ наблюдается при нарушении функции гипофиза или гипоталамуса; синдроме галактореи-аменорреи; изолированном дефиците гонадотропных гормонов; изолированном дефиците ЛГ («фертильный евнух»); невротической анорексии; задержке роста и полового созревания; приеме дигоксина, мегестрола, фенотиазина, прогестерона, эстрогенов.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

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

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность.

Перекрестная реакция мышинных моноклональных антител к бета-цепи ЛГ с другими анализатами приведена в таблице:

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

3.2. Воспроизводимость.

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

3.3. Линейность.

Зависимость концентрации ЛГ в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей ЛГ, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 5–100 МЕ/л и составляет $\pm 10.0\%$.

3.4. Точность.

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

3.5. Чувствительность.

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

4. СОСТАВ НАБОРА

Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1 P20ZZ	SORB MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт	-
2 C20ZZ	CAL 1-5	Калибровочные пробы на основе сыворотки, содержащие известные количества лютеотропного гормона – 0; 5; 25; 50; 100 МЕ/л , готовы к использованию (калибровочная проба 0 МЕ/л – 2 мл, остальные – по 0.8 мл каждая)	5	шт	прозрачные жидкости красного цвета (калибровочная проба 0 – прозрачная бесцветная жидкость)
3 Q20ZZ	CONTROL	Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием лютеотропного гормона, готова к использованию (0.8 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
4 T20ZZ	CONJ HRP	Конъюгат , готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная жидкость красного цвета
5 R055Z	SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидаина (ТМБ) , готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
6 S008Z	BUF WASH 26X	Концентрат отмывочного раствора (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26х-кратный (22 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
7 R050Z	STOP	Стоп-реагент , готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
8 N003	-	Бумага для заклеивания планшета	2	шт	-
9 K20Z1	-	Инструкция по применению Набора реагентов «ЛГ-ИФА»	1	шт	-
10 K202Q	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «ЛГ-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 $+37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$;
- 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 «ЛГ-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. 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 лютеотропного гормона 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 ЛГ в исследуемом образце превышает 100 МЕ/л, его следует дополнительно развести, используя калибровочную пробу 0. Использование других буферов и реагентов для разбавления образцов может искажать результаты определения! Примечание. Для получения надежных результатов рекомендуется использовать несколько последовательных разведений исследуемого образца сыворотки (плазмы) крови.
3	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 сыоротки (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 выставляйте по калибровочной пробе С1.
10	Постройте в линейных координатах калибровочный график: ось абсцисс (х) – концентрация ЛГ в калибровочных пробах (МЕ/л), ось ординат (у) – оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма обчета (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод.
11	Определите по калибровочному графику содержание ЛГ 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 ЛГ в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0.15 МЕ/л), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (100 МЕ/л) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация ЛГ ниже 0.15 МЕ/л или выше 100 МЕ/л.

Исследуемая группа	Единицы: МЕд/л	
	Нижний предел	Верхний предел
Дети до 11 лет	1.0	5.0
Мужчины	1.5	9.0
Женщины		
Фазы цикла:		
фолликулярная	2.0	9.5
овуляция	10.0	45
лютеиновая	0.5	17
менопауза	5.0	57

11. ЛИТЕРАТУРА

1. Pierce, J.G. and Parsons, T.F. Glycoprotein hormones: Structure and Function, Annual Rev. Biochem., 50, 465-495 (1981).
2. Harris, G.W. and Naftolin, The Hypothalamus and Control of Ovulation, Brit. Med. Bullet., 26, 1-9 (1970).
3. Knobil, E., The Neuroendocrine Control of the Menstrual Cycle, Rec. Prog. Horm Res., 36, 52...+88 (1980).
4. Jeffcoate, S.L., Clinics in Endocrinol. Metab., 4, 521-543 (1975).
5. Whitely, R.J., Keutmann, H.T. and Ryan, R.J., Endocrinology, 102, 1874 (1978).

По вопросам, касающимся качества Набора **«ЛГ-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 LH IN HUMAN SERUM OR PLASMA

1. INTENDED USE

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

This kit is designed for measurement of LH 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

Luteinizing hormone (LH) is produced in both men and women by the anterior pituitary gland in response to luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH or Gn-RH), which is released by the hypothalamus. LH, also called interstitial cell-stimulating hormone (ICSH) in men, is a glycoprotein with a molecular weight of approximately 30,000 daltons. It is composed of two noncovalently associated amino acid chains: alpha and beta.

The basal secretion of LH in men is episodic and has the primary function of stimulating the interstitial cells (Leydig cells) to produce testosterone. The variation in LH concentrations in women is subject to the complex ovulatory cycle of healthy menstruating women, and depends on sequence of hormonal events along the gonado-hypothalamus-pituitary axis. During the cycle, LH level is low except for the middle of the cycle when its concentration may increase up to 5–10 fold. LH peak is preceded by a peak of Estradiol which occurs approximately 12 hours earlier. Ovulation occurs 12-120 hrs after LH peak. When the ovum is released, the corpus luteum is formed which secretes progesterone and estradiol, these latter exerting negative feedback effects on LH and FSH levels through hypothalamo-pituitary axis.

LH concentration in blood is subject to circadian rhythms; therefore blood sample for LH assay should always be taken at the same time of the day. Circadian variations of LH level are more pronounced in women depending of the stage of menstrual cycle: they become less frequent at the end of luteinic phase and less pronounced – at the end of follicular stage. Increased LH levels are found in primary dysfunction of gonadal glands, in amenorrhea caused by ovarian insufficiency, in Stein-Leventhal syndrome, after menopause. Increased concentrations of LH are also present during renal failure, cirrhosis, hyperthyroidism, and severe starvation.

Decreased LH concentrations are seen in dysfunction of hypophysis or hypothalamus, in galactorrhea-amenorrhea syndrome, in isolated decrease of gonadotropins, in isolated LH decrease; in neurotic anorexia, in patients with retardation of growth and sexual development, after intake of digoxin, phenothiazine, progesterone, estrogens.

In the differential diagnosis of hypothalamic, pituitary, or gonadal dysfunction, assays of LH concentration are routinely performed in conjugation with FSH assays since their roles are closely interrelated. Furthermore, the hormone levels are used to determine menopause, pinpoint ovulation, and monitor endocrine therapy.

3. PRINCIPLE OF THE TEST

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

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

4.1. For professional use only.

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

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

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

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

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

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

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

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

4.10. Do not mix reagents from different lots.

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

4.12. Do not pipette reagents by mouth.

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

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

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

5.1. Contents of the Kit

5. KIT COMPONENTS

Symbol	Description	Qty	Units	Colour code	Stability of opened/diluted components
1	LH EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp.date
2	polystyrene microwells coated with murine monoclonal to β chain human LH human LH diluted in a preselected animal serum preservative – 0.01% Bronidox L, 0.01% 2-Methyl-4-isothiazolin-3-one-hydrochloride; also contains red dye	5	pcs	red (C1 – colourless)	2 months
3	Control 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 LH EIA	1	pcs		N/A
10	QC data sheet LH EIA	1	pcs		N/A

5.2. Equipment and material required but not provided

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

5.3. Storage and stability of the Kit

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

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

6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

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

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

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

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

7.2. Procedural Note:

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

7.3. Assay flowchart

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

7.4. Assay procedure

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

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

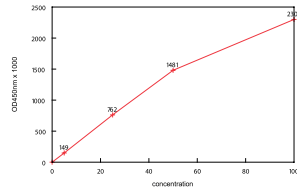
9.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

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

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

9.4. Below is presented a typical example of a standard curve with the XEMA Co. Not for calculations!

Calibrators	Value	Absorbance Units (450 nm)
CAL 1	0 IU/l	0.09
CAL 2	5 IU/l	0.24
CAL 3	25 IU/l	0.85
CAL 4	50 IU/l	1.57
CAL 5	100 IU/l	2.39



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 LH. Based on data obtained by XEMA, the following normal range is recommended (see below). NOTE: the patients that have received murine monoclonal antibodies for radioimaging or immunotherapy develop high titered anti-mouse antibodies (HAMA). The presence of these antibodies may cause false results in the present assay. Sera from HAMA positive patients should be treated with depleting adsorbents before assaying.

Sex, age	Units, IU/l	
	Lower limit	Upper limit
Children under 11 yrs	1.0	5.0
Males	1.5	9.0
Females		
Menstrual cycle:		
follicular phase	2.0	9.5
luteinic phase	0.5	17
ovulation	10.0	45
post menopausal	5.0	57

11. PERFORMANCE CHARACTERISTIC

11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

Analyte	Cross-reactivity, % wt/wt
HCG	<0.1
FSH	<0.1
TSH	<0.1

11.2. Analytical sensitivity

Sensitivity of the assay was assessed as being 0.15 IU/l.

11.3. Linearity


















Linearity was checked by assaying dilution series of 5 samples with different LH concentrations. Linearity percentages obtained ranged within 90 to 110%.

11.4. Recovery

Recovery was estimated by assaying 5 mixed samples with known LH concentrations. The recovery percentages ranged from 90 to 110%.

12. LITERATURE

1. Pierce, J.G. and Parsons, T.F. Glycoprotein hormones: Structure and Function, Annual Rev. Biochem., 50, 465-495 (1981).
2. Harris, G.W. and Naftolin, The Hypothalamus and Control of Ovulation, Brit. Med. Bullet., 26, 1-9 (1970).
3. Knobil, E., The Neuroendocrine Control of the Menstrual Cycle, Rec. Prog. Horm Res., 36, 52...+88 (1980).
4. Jeffcoate, S.L., Clinics in Endocrinol. Metab., 4, 521-543 (1975).
5. Whitely, R.J., Keutmann, H.T. and Ryan, R.J., Endocrinology, 102, 1874 (1978).

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



Российское профессиональное
ассоциация производителей
клинических лабораторной диагностики



RUSSIAN ASSOCIATION
OF MEDICAL LABORATORY
DIAGNOSTICS



РОССИЙСКОЕ ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ
АССОЦИАЦИЯ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ
КЛИНИЧЕСКОЙ 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:

105264, 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

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
ФОЛЛИКУЛОСТИМУЛИРУЮЩЕГО ГОРМОНА
В СЫВОРOTКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ**

«ФСГ-ИФА»

**A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY
FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION
OF FSH IN HUMAN SERUM OR PLASMA**

FSH EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF** **K203**

ТУ № 9398-203-18619450-2010

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
№ ФСР 2007/00664 от 25 октября 2010 г.

Антитела к ВИЧ 1,2, вирусу гепатита С и HBsAg отсутствуют
Контрольные сыворотки, входящие в состав набора, инактивированы.



For 96 determinations/На 96 определений



Для *in vitro* диагностики

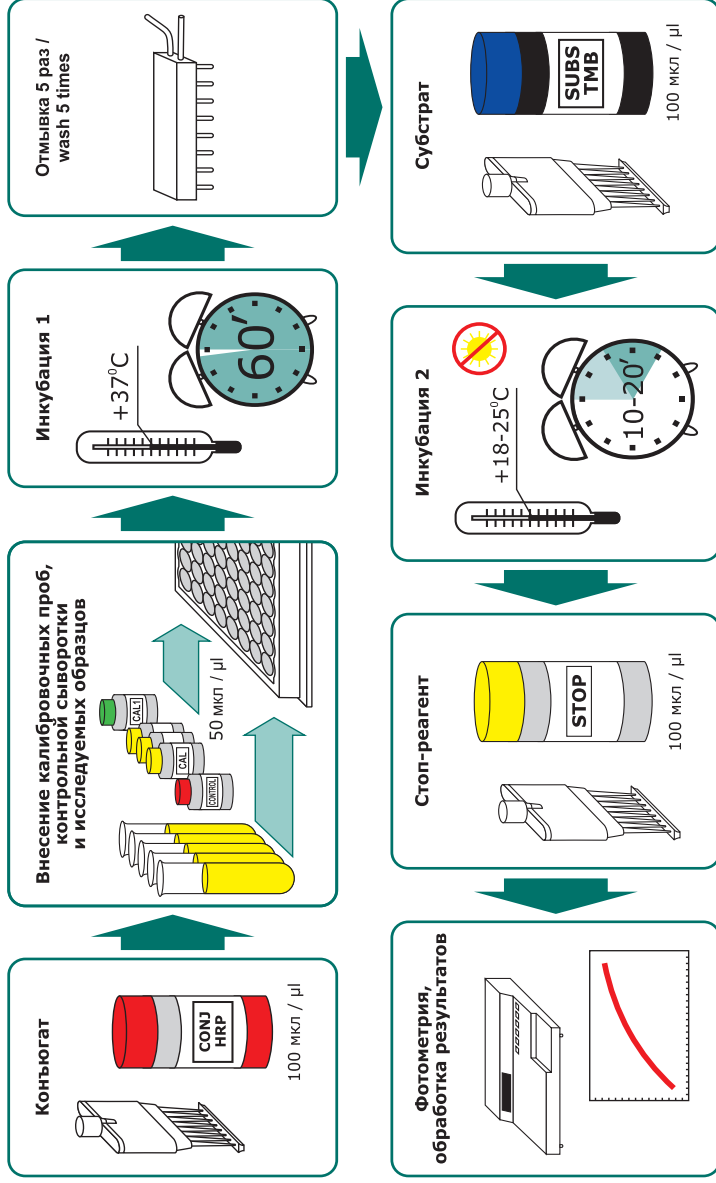


XEMA Co., Ltd.
The 9th Parkovaya str., 48
105264 Moscow, Russia
Tel./fax: +7(495) 510-57-07
e-mail: redkin@xema-medica.com
internet: www.xema-medica.com



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	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 ФОЛЛИКУЛОСТИМУЛИРУЮЩЕГО ГОРМОНА В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «ФСГ-ИФА»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «ФСГ-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации фолликулостимулирующего гормона в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Фолликулостимулирующий гормон (ФСГ) - гликопротеид с молекулярной массой около 30000 Да. Он секретируется базофильными клетками аденогипофиза. У женщин ФСГ контролирует циклические изменения в яичниках во время нормального менструального цикла. У мужчин ФСГ контролирует рост и функцию семенных канальцев, особенно сперматогенез в клетках Сертоли. В начале нормального менструального цикла уровень ФСГ выше, чем в заключительной стадии фолликулярной фазы. Пик концентрации ФСГ наблюдается в середине цикла, одновременно с пиком ЛГ. В лютеиновой фазе концентрация гормона падает в ответ на продукцию эстрадиола и прогестерона желтым телом. Снижение концентрации эстрогенов и прогестерона в конце менструального цикла приводит к повышению уровня ФСГ (по принципу обратной связи), и начинается новый цикл. Повышенные концентрации ФСГ определяются при дисгенезии семенных канальцев, задержке полового созревания, первичной недостаточности функции яичек, недостаточности клеток Сертоли у мужчин; менопаузе, преждевременном угасании функции яичников, агенезии яичников у женщин; дисфункции гипофиза; приеме кломифена, леводопа. Сниженные концентрации ФСГ определяются при гипопитуитаризме; приеме пероральных контрацептивов, фенотиазин, эстрогенов.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение фолликулостимулирующего гормона основано на использовании «сэндвич»-варианта твердофазного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы мышинные моноклональные антитела к бета-цепи ФСГ человека. В лунках планшета, при добавлении исследуемого образца, происходит связывание ФСГ, содержащегося в исследуемом образце, с антителами на твердой фазе. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата мышинных моноклональных антител к альфа-цепи ЛГ/ФСГ/ХГ человека с пероксидазой хрена. В результате образуется связанный с пластиком «сэндвич», содержащий пероксидазу. Во время инкубации с раствором субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) происходит окрашивание растворов в лунках. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации фолликулостимулирующего гормона в исследуемом образце. Концентрацию фолликулостимулирующего гормона в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания фолликулостимулирующего гормона в калибровочных пробах.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность.

Перекрестная реакция мышинных моноклональных антител к бета-цепи ФСГ с другими анализатами приведена в таблице:

Аналит	Перекрестная реакция, %
ТТГ	<0.1
ЛГ	<0.1
ХГ	<0.1

3.2. Воспроизводимость.

Коэффициент вариации результатов определения содержания ФСГ в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «ФСГ-ИФА» не превышает 8.0%.

3.3. Линейность.

Зависимость концентрации ФСГ в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей ФСГ, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 5–100 МЕ/л и составляет $\pm 10.0\%$.

3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации ФСГ предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 25 МЕ/л. Процент «открытия» составляет 90–110%.

3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «ФСГ-ИФА» концентрация ФСГ в сыворотке (плазме) крови не превышает 0.15 МЕ/л.

4. СОСТАВ НАБОРА

Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1 P203Z	SORB MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт	-
2 C203Z	CAL 1-5	Калибровочные пробы на основе сыворотки, содержащие известные количества фолликулостимулирующего гормона – 0; 5; 25; 50; 100 МЕ/л , готовы к использованию (калибровочная проба 0 МЕ/л – 2 мл, остальные – по 0.8 мл каждая)	5	шт	прозрачные жидкости зеленого цвета (калибровочная проба 0 - прозрачная бесцветная жидкость)
3 Q203Z	CONTROL	Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием фолликулостимулирующего гормона, готова к использованию (0.8 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
4 T203Z	CONJ HRP	Конъюгат , готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная жидкость зеленого цвета
5 R055Z	SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидаина (ТМБ) , готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
6 S008Z	BUF WASH 26X	Концентрат отмывочного раствора (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26х-кратный (22 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
7 R050Z	STOP	Стоп-реагент , готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
8 N003	-	Бумага для заклеивания планшета	2	шт	-
9 K203I	-	Инструкция по применению Набора реагентов «ФСГ-ИФА»	1	шт	-
10 K203Q	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «ФСГ-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 $+37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$;
- 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 «ФСГ-ИФА» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности, указанного на упаковке Набора.

Допускается хранение (транспортировка) Набора при температуре до +25 °С не более 15 суток. Не допускается замораживание целого набора.

8.2. Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 42 исследуемых образцов, 5 калибровочных проб и 1 пробы контрольной сыворотки (всего 96 определений).

8.3. В случае дробного использования Набора компоненты следует хранить следующим образом:

- оставшиеся неиспользованными стрипы необходимо тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- конъюгат, субстрат, стоп-реагент после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- калибровочные пробы и контрольную сыворотку после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °С не более 2 месяцев;
- оставшийся неиспользованным концентрат отмывочного раствора следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- приготовленный отмывочный раствор следует хранить при комнатной температуре (+18...+25 °С) не более 15 суток или при температуре +2...+8 °С не более 45 суток;

Примечание. После использования реагента немедленно закрывайте крышку флакона. Закрывайте каждый флакон своей крышкой.

8.4. Для проведения анализа не следует использовать гемолизированную, мутную сыворотку (плазму) крови, а также сыворотку (плазму) крови, содержащую азид натрия. Если анализ производится не в день взятия крови, сыворотку (плазму) следует хранить при температуре -20 °С. Повторное замораживание-оттаивание образцов сыворотки (плазмы) крови не допускается. Допускается исследование сывороток, хранение которых с момента забора крови осуществлялось при температуре от +2 °С до +8 °С не более 7 суток.

8.5. Исключается использование для анализа образцов сыворотки (плазмы) крови людей, получавших в целях диагностики или терапии препараты, в состав которых входят 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 фолликулостимулирующего гормона 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 калибровочной проб и контрольной сыворотки.
2	Если предполагаемая концентрация ФСГ в исследуемом образце превышает 100 МЕ/л, его следует дополнительно развести, используя калибровочную пробу 0. Использование других буферов и реагентов для разбавления образцов может искажать результаты определения! Примечание. Для получения надежных результатов рекомендуется использовать несколько последовательных разведений исследуемого образца сыворотки (плазмы) крови.
3	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 сыоротки (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 яркий 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 (х) – концентрация ФСГ в калибровочных пробах (МЕ/л), ось ординат (у) – оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма обчета (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод.
11	Определите по калибровочному графику содержание ФСГ 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 ФСГ в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0.15 МЕ/л), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (100 МЕ/л) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация ФСГ ниже 0.15 МЕ/л или выше 100 МЕ/л.

Исследуемая группа	Единицы, МЕ/л	
	Нижний предел	Верхний предел
Дети до 11 лет	-	4.0
Мужчины	0.8	25
Женщины		
Фазы цикла:		
фолликулярная	3.0	12
лютеиновая	2.0	12
овуляция	6.0	25
менопауза	10.0	150

1. ЛИТЕРАТУРА

1. Ross, F. T., Vande Wiele, R. L. and Franty, A. G.: Text of Endocrinol., Chapter 7, Ed.: R. H. Williams, W. B. Saunders, Philadelphia (1981).
2. Marshall, J. C.: Clinic in Endocrinol. Metab., 4, 545 (1975).
3. Jeffcoate, S. L.: Clinic. in Endocrinol. Metab. 4, 521 (1975).
4. Cohen, K. L.: Metabolism, 26, 1165 (1977).
5. Shome, B. and Parlow, A. F.: J. Clin. Endocrinol. Metab., 39, 199 (1974).
6. Lundy, L. E., Lee, S. G., Levy, W., et al.: Obstet. Gynecol., 44, 14 (1974).
7. Speroff, L.: Clinic. Gynecol. Endocrinol. and Infert., Chapter 3, Ed: L. Speroff, R. H. Glass and M. G. Kase, Williams & Wilkins Baltimore (1978).

По вопросам, касающимся качества Набора **«ФСГ-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 FSH IN HUMAN SERUM OR PLASMA

1. INTENDED USE

A solid-phase enzyme immunoassay for the quantitative determination of FSH in blood serum or plasma.

This kit is designed for measurement of FSH 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

Follicle stimulating hormone (FSH) is a glycoprotein with molecular weight 28 kDa secreted by basophil cells in hypophysis. Gonadotropin releasing hormone (GnRH) produced by the hypothalamus controls the release of FSH from anterior pituitary. Follicle-stimulating hormone (FSH) and Luteinizing hormone (LH) are intimately involved in the control of the growth and reproductive activities of the gonadal tissues, which synthesize and secrete male and female sex hormones. The levels of circulating FSH and LH are controlled by these sex hormones through a negative feedback. Like LH, TSH and HCG, FSH consists of two subunits – alpha and beta, its biological and immunological properties being dependent on the hormone-specific beta subunit.

In females, FSH stimulates the growth and maturation of ovarian follicles. At the beginning of normal menstrual cycle FSH level is higher than at the final stage of follicular phase. Peak FSH levels are seen in the middle of the cycle concomitantly with LH peak levels. Increased estradiol and progesterone production during luteal phase leads to decreased FSH blood concentrations by negative feedback mechanism. The same mechanism leads to elevation of FSH levels at the end of the cycle due to decreased estrogen and progesterone concentrations, and the new cycle is initiated.

In men, FSH regulates growth of seminiferous tubules and maintenance of spermatogenesis. However, androgens, unlike estrogen, do not lower FSH level, therefore demonstrating a feedback relationship only with serum LH. High levels of FSH in women are seen in menopause, preliminary ovarian failure, agenesis of ovaries; in men elevated FSH levels may be found in primary testicular failure, dysgenesis of seminiferous tubules, delayed sexual maturation, and Klinefelter syndrome. Elevated concentrations are also found in cases of starvation, renal failure, hyperthyroidism, cirrhosis and after intake of clomifen, L-DOPA.

Decreased FSH levels are found in hypopituitarism and after intake of oral contraceptives, phenothiazine, estrogens.

3. PRINCIPLE OF THE TEST

This test is based on two-site sandwich enzyme immunoassay principle. Tested specimen is placed into the microwells coated by specific murine monoclonal to β chain human FSH-antibodies. Antigen from the specimen is captured by the antibodies coated onto the microwell surface. Second antibodies - murine monoclonal to α chain human LH/FSH/HCG, labelled with peroxidase enzyme, are then added into the microwells. After washing procedure, the remaining enzymatic activity bound to the microwell surface is detected and quantified by addition of chromogen-substrate mixture, stop solution and photometry at 450 nm. Optical density in the microwell is directly related to the quantity of the measured analyte in the specimen.

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

4.1. For professional use only.

4.2. This kit is intended for in vitro diagnostic use only.

4.3. INFECTION HAZARD: There is no available test methods that can absolutely assure that Hepatitis B and C viruses, HIV-1/2, or other infectious agents are not present in the reagents of this kit. All human products, including patient samples, should be considered potentially infectious. Handling and disposal should be in accordance with the procedures defined by an appropriate national biohazard safety guidelines or regulations.

4.4. Avoid contact with stop solution containing 5.0% H_2SO_4 . It may cause skin irritation and burns.

4.5. Wear disposable latex gloves when handling specimens and reagents. Microbial contamination of reagents may give false results.

4.6. Do not use the kit beyond the expiration date.

4.7. All indicated volumes have to be performed according to the protocol. Optimal test results are only obtained when using calibrated pipettes and microplate readers.

4.8. Do not smoke, eat, drink or apply cosmetics in areas where specimens or kit reagents are handled.

4.9. Chemicals and prepared or used reagents have to be treated as hazardous waste according to the national biohazard safety guidelines or regulations.

4.10. Do not mix reagents from different lots.

4.11. Replace caps on reagents immediately. Do not swap caps.

4.12. Do not pipette reagents by mouth.

4.13. Specimens must not contain any AZIDE compounds – they inhibit activity of peroxidase.

4.14. Material Safety Data Sheet for this product is available upon request directly from XEMA Co., Ltd.

4.15. The Material Safety Data Sheet fit the requirements of EU Guideline 91/155 EC.

5.1. Contents of the Kit

5. KIT COMPONENTS

Symbol	Description	Qty	Units	Colour code	Stability of opened/diluted components
1 SORB MTP	FSH EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp.date
2 CAL 1 - 5	polystyrene microwells coated with murine monoclonal to β chain human FSH	5	pcs	green (C1 - colourless)	2 months
3 CONTROL	human FSH diluted in a preselected animal serum preservative - 0.01% Bronidox L, 0.01% 2-Methyl-4-isothiazolin-3-one-hydrochloride; also contains green dye	1	pcs	colourless	2 months
4 CONJ HRP	dilution of preselected human serum, with high content of FSH with casein solution; preservative - 0.1% phenol, colourless	1	pcs	green	until exp.date
5 SUBS TMB	aqueous solution of murine monoclonal to a chain human LH/FSH/HCG 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 green dye	1	pcs	colourless	until exp.date
6 BUF WASH 26X	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
7 STOP	aqueous solution of sodium chloride and detergent (Tween 20), contains proClin300 as a preservative	1	pcs	colourless	until exp.date
8 N003	5.0% vol/vol solution of sulphuric acid	2	pcs		N/A
9 K2031	Stop solution, 14 ml Plate sealing tape Instruction FSH EIA	1	pcs		N/A
10 K203Q	QC data sheet FSH EIA	1	pcs		N/A

5.2. Equipment and material required but not provided

- Distilled or deionized water;
- Automatic or semiautomatic multichannel micropipettes, 100–250 µl, is useful but not essential;
- Calibrated micropipettes with variable volume, range volume 25–250 µl;
- Dry thermostat for +37 °C ±0.1 °C;
- Calibrated microplate photometer with 450 nm wavelength and OD measuring range 0–3.0

5.3. Storage and stability of the Kit

Store the whole kit at +2...+8 °C upon receipt until the expiration date.

After opening the pouch keep unused microtiter wells **TIGHTLY SEALED BY ADHESIVE TAPE (INCLUDED)** to minimize exposure to moisture.

6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

This kit is intended for use with serum or plasma (ACD- or heparinized). Grossly hemolytic, lipemic, or turbid samples should be avoided.

Specimens may be stored for up to 48 hours at +2...+8 °C before testing. For a longer storage, the specimens should be frozen at -20 °C or lower. Repeated freezing/thawing should be avoided.

7. TEST PROCEDURE**7.1. Reagent Preparation**

- All reagents (including unsealed microstrips) should be allowed to reach room temperature (+18...+25 °C) before use.
- All reagents should be mixed by gentle inversion or vortexing prior to use. Avoid foam formation.
- It is recommended to spin down shortly the tubes with calibrators on low speed centrifuge.
- Prepare washing solution from the concentrate BUF WASH 26X by 26 dilutions in distilled water.

7.2. Procedural Note:

It is recommended that pipetting of all calibrators and samples should be completed within 3 minutes.

7.3. Assay flowchart

See the example of calibration graphic in Quality Control data sheet.

7.4. Assay procedure

1	Put the desired number of microstrips into the frame; allocate 12 wells for the calibrators CAL 1–5 and control samples CONTROL and two wells for each unknown sample. DO NOT REMOVE ADHESIVE SEALING TAPE FROM UNUSED STRIPS.
2	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

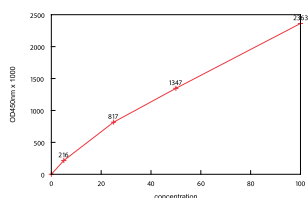
9.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

9.2. Plot a calibration curve on graph paper: OD versus FSH concentration.

9.3. Determine the corresponding concentration of FSH in unknown samples from the calibration curve. Manual or computerized data reduction is applicable on this stage. Point-by-point or linear data reduction is recommended due to non-linear shape of curve.

9.4. Below is presented a typical example of a standard curve with the XEMA Co. Not for calculations!

Calibrators	Value	Absorbance Units (450 nm)
CAL 1	0 IU/l	0.05
CAL 2	5 IU/l	0.27
CAL 3	25 IU/l	0.87
CAL 4	50 IU/l	1.40
CAL 5	100 IU/l	2.41



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 FSH. Based on data obtained by XEMA, the following normal range is recommended (see below). NOTE: the patients that have received murine monoclonal antibodies for radioimaging or immunotherapy develop high titered anti-mouse antibodies (HAMA). The presence of these antibodies may cause false results in the present assay. Sera from HAMA positive patients should be treated with depleting adsorbents before assaying.

Sex, age	Units, IU/l	
	Lower limit	Upper limit
Children under 11 yrs	-	4.0
Males	0.8	25
Females		
Menstrual cycle:		
follicular phase	3.0	12
luteinic phase	2.0	12
ovulation	6.0	25
post menopausal	10.0	150

11. PERFORMANCE CHARACTERISTIC**11.1.** Analytical specificity / Cross reactivity

Analyte	Cross-reactivity, % wt/wt
TSH	<0.1
LH	<0.1
HCG	<0.1

11.2. Analytical sensitivity

Sensitivity of the assay was assessed as being 0.15 IU/l.

11.3. Linearity


















Linearity was checked by assaying dilution series of 5 samples with different FSH concentrations. Linearity percentages obtained ranged within 90 to 110%.

11.4. Recovery

Recovery was estimated by assaying 5 mixed samples with known FSH concentrations. The recovery percentages ranged from 90 to 110%.

12. LITERATURE

1. Ross, F. T., Vande Wiele, R. L. and Franty, A. G.: Text of Endocrinol., Chapter 7, Ed.: R. H. Williams, W. B. Saunders, Philadelphia (1981).
2. Marshall, J. C.: Clinic in Endocrinol. Metab., 4, 545 (1975).
3. Jeffcoate, S. L.: Clinic. in Endocrinol. Metab. 4, 521 (1975).
4. Cohen, K. L.: Metabolism, 26, 1165 (1977).
5. Shome, B. and Parlow, A. F.: J. Clin. Endocrinol. Metab., 39, 199 (1974).
6. Lundy, L. E., Lee, S. G., Levy, W., et al.: Obstet. Gynecol., 44, 14 (1974).
7. Speroff, L.: Clinic. Gynecol. Endocrinol. and Infert., Chapter 3, Ed: L. Speroff, R. H. Glass and M. G. Kase, Williams & Wilkins Baltimore (1978).

Символ / Symbol	Значение символа / Symbolize
	Производитель / Manufacturer
	Дата производства / Date of manufacture
	Номер по каталогу / Catalogue number
	Номер серии / Batch code
	Использовать до (год-месяц) / Use By
	Ограничение температуры / Temperature limitation
	Только для ин витро диагностики / In Vitro Diagnostic Medical Device
	Внимание! / Caution, consult accompanying documents
	Не использовать при нарушении целостности упаковки / Do not use if package damaged
	Планшет / EIA strips
	Калибровочные пробы / Calibrator set
	Контрольная сыворотка / Control sera
	Конъюгат / Conjugate
	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) / Substrate solution
	Концентрат отмывочного раствора / Washing solution concentrate
	Стоп-реагент / Stop solution
	ИФА-Буфер / EIA buffer

Уважаемый Клиент!

Если в процессе работы с нашими наборами Вам понадобились пластиковые ванночки для жидких реагентов, одноразовые наконечники для дозаторов или дополнительные объемы реагентов (концентрат отмывочного раствора, ИФА-Буфер, раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), стоп-реагент), входящих в состав Набора, просим Вас обратиться к поставщику продукции ООО «ХЕМА» в Вашем регионе.

Все указанные расходные материалы предоставляются бесплатно, в необходимом для проведения анализа количестве.

Перечень наборов реагентов для диагностики инфекционных заболеваний производства ООО «ХЕМА»

№ по каталогу	Наименование
K101	«Toxoplasma IgG-ИФА»
K101M	«Toxoplasma IgM-ИФА»
K102	«Rubella IgG-ИФА»
K102M	«Rubella IgM-ИФА»
K103	«Cytomegalovirus IgG-ИФА»
K103M	«Cytomegalovirus IgM-ИФА»
K104	«HSV 1,2 IgG-ИФА»
K104M	«HSV 1,2 IgM-ИФА»
K105	«Chlamydia IgG-ИФА»
K106	«Mycoplasma IgG-ИФА»
K111G	«Сифилис IgG-ИФА»
K111	«Сифилис суммарные антитела-ИФА»
K121	«Aspergillus IgG-ИФА»



Russian Diagnostic
Manufacturers Association



Классический российский
производитель средств лабораторной
диагностики



Russian Association
of Medical Laboratory
Diagnosticians



Российская ассоциация
медицинской лабораторной
диагностики

Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

8 800 505 23 45

Все звонки на номер горячей линии бесплатны для звонящего с любого мобильного или стационарного телефона по всей территории России.

Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

105043, г. Москва, а/я 58

105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1-й под., 5 этаж

тел.: +7 (495) 510-57 07, 737-39-36;

факс: +7 (495) 737-00-40

e-mail: info@xema.ru

www.xema-medica.com

ФООО «Хема», тел.: +7 (812) 271-24-41

191144, Санкт-Петербург, Дегтярный пер., д. 8-10, литер А

e-mail: spb@xema.ru

СП ООО «Хемма-Тест», тел.: (17) 211-80-39

Офис: 220029, Минск, Проспект Машерова, д. 11,

литер А, корп. 8/К, офис 416

e-mail: hemma-test@yandex.ru

ТОВ «Хема», тел.: (044) 422-62-16;

03179, г. Киев, ул. Академика Ефремова, д. 23;

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com





Instruction for use



**НАБОР РЕАГЕНТОВ
ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
ПРОЛАКТИНА В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ**

«ПРОЛАКТИН-ИФА»

**A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY
FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION
OF PROLACTIN IN HUMAN SERUM OR PLASMA**

Prolactin EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF** **K206**

ТУ № 9398-206-18619450-2010

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
№ ФСР 2010/09710 от 30 декабря 2010 г.



For 96 determinations/На 96 определений



Для *in vitro* диагностики

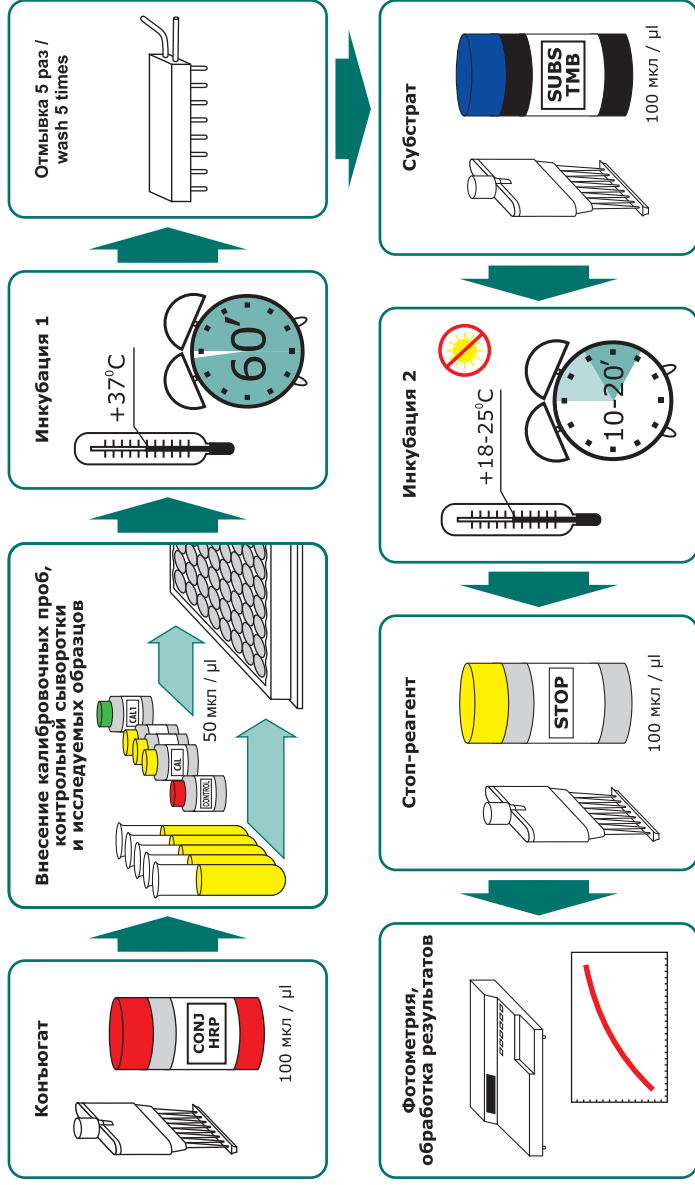


XEMA Co., Ltd.
The 9th Parkovaya str., 48
105264 Moscow, Russia
Tel./fax: +7(495) 510-57-07
e-mail: redkin@xema-medica.com
internet: www.xema-medica.com



Authorized Representative in EU:
Polmed.de
Steinacker 20, D-73773
Aichwald, Germany
e-mail: info@polmed.de

Схема проведения анализа / Test procedure



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	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 ПРОЛАКТИНА В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «ПРОЛАКТИН-ИФА»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «ПРОЛАКТИН-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации пролактина в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Пролактин представляет собой полипептид из 198 аминокислот с молекулярной массой около 22500 Да, секретируемый эозинофилами передней доли гипофиза. Одной из основных причин бесплодия являются гиперплазия и аденомы гипофиза. Кроме того, функциональные изменения в регуляции репродуктивной функции также связаны с нарушениями в секреции гипофизарных гормонов. Одним из маркеров этих нарушений является нарушенная секреция пролактина. В связи с этим ВОЗ рекомендовала использовать определение уровня пролактина в крови в качестве скринингового теста при первичном обследовании супругов, обращающихся в медицинские учреждения по поводу бесплодия. До наступления менархе уровень пролактина в крови низкий и повышается в пубертатный период. В это время пролактин стимулирует развитие молочных желез. В течение менструального цикла уровень пролактина непостоянен. Он повышается в перiovуляторный период и во вторую половину лютеиновой фазы (его уровень может достигать 900 мМЕд/л), поэтому определять уровень пролактина рекомендуется в первую фазу цикла. Во время беременности и лактации секреция гормона возрастает. Кроме того, физиологическая гиперпролактинемия наблюдается при стрессовой ситуации и при физической нагрузке. Секреция пролактина осуществляется в определенном суточном ритме: максимум приходится на период сна (в 3–7 раз выше, чем в течение дня). В связи с этим очень важным является время отбора образцов крови для анализа. Увеличение концентрации пролактина отмечено при пролактинпродуцирующих опухолях гипофиза; идиопатических гиперпролактинемиях (симптомы: у женщин – нарушение менструаций, у мужчин – импотенция); гипофункции щитовидной железы; почечной недостаточности; приеме производных фенотиазина, галоперидола, имизина, эстрогенов, пероральных контрацептивов, гистаминных препаратов, опиатов; постинсулиновой гипогликемии. Уменьшение концентрации пролактина наблюдается при: хирургическом удалении гипофиза; лечении бромкриптином; приеме тироксина; рентгенотерапии.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение пролактина основано на использовании «сэндвич»-варианта твердофазного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы мышинные моноклональные антитела к пролактину человека. В лунках планшета, при добавлении исследуемого образца, происходит связывание пролактина, содержащегося в исследуемом образце, с антителами на твердой фазе. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата мышинных моноклональных антител к пролактину 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 пролактина в исследуемом образце. Концентрацию пролактина в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания пролактина в калибровочных пробах.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Перекрестная реакция мышинных моноклональных антител к пролактину человека с другими анализитами приведена в таблице:

Аналит	Перекрестная реакция, %
гормон роста	<0.1
плацентарный лактоген	<0.1
ТТГ	<0.1
ЛГ	<0.1
ФСГ	<0.1

3.2. Воспроизводимость.

Коэффициент вариации результатов определения содержания пролактина в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «ПРОЛАКТИН-ИФА» не превышает 8.0 %.

3.3. Линейность.

Зависимость концентрации пролактина в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей пролактин, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 100–2000 мМЕ/л и составляет ± 10.0 %.

3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации пролактина предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 200 мМЕ/л. Процент «открытия» составляет 90–110 %.

3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «ПРОЛАКТИН-ИФА» концентрация пролактина в сыворотке (плазме) крови не превышает 5.0 мМЕ/л.

4. СОСТАВ НАБОРА

Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1	P206Z	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2	C206Z	Калибровочные пробы на основе сыворотки крови человека, содержащие известные количества пролактина - 0; 100; 200; 1000; 2000 мМЕ/л, готовы к использованию (калибровочная проба 0 мМЕ/л – 2 мл, остальные – по 0.8 мл каждая)	5	шт	прозрачные жидкости красного цвета, калибровочная проба 0 – прозрачная бесцветная жидкость
3	Q206Z	Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием пролактина, готова к использованию (0.8 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
4	T206Z	Конъюгат, 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	K206I	Инструкция по применению Набора реагентов «ПРОЛАКТИН-ИФА»	1	шт.	-
10	K206Q	Паспорт контроля качества Набора реагентов «ПРОЛАКТИН-ИФА»	1	шт.	-

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

5.1. Потенциальный риск применения Набора – класс 1 (ГОСТ Р 51609-2000).

5.2. Все компоненты Набора, за исключением стоп-реагента (5.0 % раствор серной кислоты), в используемых концентрациях являются нетоксичными.

Раствор серной кислоты обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. При попадании на кожу и слизистые пораженный участок следует промыть большим количеством проточной воды.

5.3. При работе с Набором следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

5.4. При работе с Набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированный материал, способный длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность содержимого лунок планшета при длине волны 450 нм;
- термостат, поддерживающий температуру $+37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$;
- 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 ($+18\dots+25\text{ }^{\circ}\text{C}$) 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 «ПРОЛАКТИН-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 пролактина 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 пролактина в исследуемом образце превышает 2000 мМЕ/л, 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 разбавца 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 выставляйте по калибровочной пробе С1.
10	Постройте в линейных координатах калибровочный график: ось абсцисс (x) – концентрация пролактина в калибровочных пробах (мМЕ/л), ось ординат (y) – оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма обочета (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод.
11	Определите по калибровочному графику содержание пролактина 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 пролактина в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (5.0 мМЕ/л), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (2000 мМЕ/л) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация пролактина ниже 5.0 мМЕ/л или выше 2000 мМЕ/л.

Исследуемая группа	Единицы, мМЕ/л	
	Нижний предел	Верхний предел
Мужчины	60	560
Женщины		
Беременные:		
1-й триместр	-	2000
2-й триместр	-	6000
3-й триместр	-	10000
Фазы цикла:		
фолликулярная	60	600
лютеиновая	120	900
менопауза	40	550

11. ЛИТЕРАТУРА

1. Caufriez A. Menstrual disorders associated with hyperprolactinemia. *Hormone Res.* 1985; 22:209-14.
2. Niall, M.D. et al, «The Chemistry of Growth Hormone and the Lactogenic Hormones»; *Recent Progr. Horm. Res.* 29,471 (1974).
3. Frantz A.G. Physiology in medicine: prolactin. *New Engl. J Med* 1978; 298: 201-7.
4. Kato Y. et al. Regulation of prolactin secretion. In: *The Pituitary Gland*. Ed. H. Imura. New York, Raven Press. 1985; pp.261-278.
5. Thorner, M.O., Edwards, C.R.W., Haker, J.P., Abraham, G., and Besser, G.M., «The Testes in Normal and Infertile Men», Troen, P. and Nankin, H.R. (eds.), Raven Press, New York, 351-366, (1977).
6. Daughday, W.H., «The Adenohypophysis, Textbook of Endocrinology»; Williams, 6th Ed., Chapter 3, 87-87, (1981).

По вопросам, касающимся качества Набора **«ПРОЛАКТИН-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 PROLACTIN IN HUMAN SERUM OR PLASMA

1. INTENDED USE

A solid-phase enzyme immunoassay for the quantitative determination of Prolactin in blood serum or plasma.

This kit is designed for measurement of Prolactin 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

Prolactin is a 198 aminoacids polypeptide with molecular weight ca. 22.5 kDa which is secreted by eosinophil cells of hypophysis.

Hyperplasia and adenomas of hypophysis are the main causes of infertility. Functional changes in regulation of reproductory function are also caused by alterations in secretion of hormones of hypophysis. One of markers of such alterations is changes in Prolactin secretion. That is why WHO recommended to use determination of Prolactin level as a screening test in primary laboratory investigation of couples claiming for infertility.

In women Prolactin level remains low before menarche and elevates during puberty. During this period, Prolactin stimulates development of mammary glands. Prolactin level changes during menstrual cycle with elevations up to 900 mIU/l seen during periovulatory period and the second stage of luteinic phase. That is why it is recommended to evaluate Prolactin level during the first stage of the cycle. Besides, physiological hyperprolactinemia is seen in stress conditions and after physical exercises.

Prolactin secretion is subject to circadian rhythms with maximal levels found during the night (3-7 fold higher than during the day). That is why time of sampling is extremely important.

Elevated Prolactin levels are seen in Prolactin-producing tumours of hypophysis, idiopathic hyperprolactinemias (symptoms: in women – alteration of menstrual cycle, in men – impotence), hypofunction of the thyroid gland, renal insufficiency, after intake of phenothiazine derivatives, haloperidol, estrogens, oral contraceptives, histamine preparations, opiates, in hypoglycemia caused by insuline intake.

Low Prolactin levels are found after surgical resection of hypophysis, after X-ray therapy, after bromocriptin therapy, after intake of T4.

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 Prolactin-antibodies. Antigen from the specimen is captured by the antibodies coated onto the microwell surface. Second antibodies – murine monoclonal to human Prolactin, 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 Prolactin EIA strips, 8x12 wells	polystyrene microwells coated with murine monoclonal to human Prolactin	1	pcs	until exp. date	
2	CAL 1-5 Calibrator set, 0.8 ml each, zero calibrator C1 – 2 ml. The set contains 5 calibrators: 0; 100; 200; 1000; 2000 mIU/l	human Prolactin diluted in a preselected animal serum preservative - 0.01% Bronidox L, 0.01% 2-Methyl-4-isothiazolin-3-one-hydrochloride; also contains red dye, ready to use	5	pcs	red (C1 – colourless) 2 months	
3	CONTROL Control serum (0.8 ml)	dilution of preselected human serum, with high content of Prolactin with preservative - 0.01% Bronidox L, 0.01% 2-Methyl-4-isothiazolin-3-one-hydrochloride, colourless, ready to use	1	pcs	colourless	2 months
4	CONJ HRP Conjugate, 14 ml	aqueous solution of murine monoclonal to human Prolactin 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	K206I Instruction Prolactin EIA		1	pcs		N/A
10	K206Q QC data sheet Prolactin EIA		1	pcs		N/A

5.2. Equipment and material required but not provided

- Distilled or deionized water;
- Automatic or semiautomatic multichannel micropipettes, 100–250 µl, is useful but not essential;
- Calibrated micropipettes with variable volume, range volume 25–250 µl;
- Dry thermostat for +37 °C ±0.1 °C;
- Calibrated microplate photometer with 450 nm wavelength and OD measuring range 0–3.0

5.3. Storage and stability of the Kit

Store the whole kit at +2...+8 °C upon receipt until the expiration date.

After opening the pouch keep unused microtiter wells TIGHTLY SEALED BY ADHESIVE TAPE (INCLUDED) to minimize exposure to moisture.

6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

This kit is intended for use with serum or plasma (ACD- or heparinized). Grossly hemolytic, lipemic, or turbid samples should be avoided.

Specimens may be stored for up to 48 hours at +2...+8 °C before testing. For a longer storage, the specimens should be frozen at -20 °C or lower. Repeated freezing/thawing should be avoided.

7. TEST PROCEDURE**7.1.** Reagent Preparation

- All reagents (including unsealed microstrips) should be allowed to reach room temperature (+18...+25 °C) before use.
- All reagents should be mixed by gentle inversion or vortexing prior to use. Avoid foam formation.
- It is recommended to spin down shortly the tubes with calibrators on low speed centrifuge.
- Prepare washing solution from the concentrate BUF WASH 26X by 26 dilutions in distilled water.

7.2. Procedural Note:

It is recommended that pipetting of all calibrators and samples should be completed within 3 minutes.

7.3. Assay flowchart

See the example of calibration graphic in Quality Control data sheet.

7.4. Assay procedure

1	Put the desired number of microstrips into the frame; allocate 12 wells for the calibrators CAL 1–5 and control samples CONTROL and two wells for each unknown sample. DO NOT REMOVE ADHESIVE SEALING TAPE FROM UNUSED STRIPS.
2	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

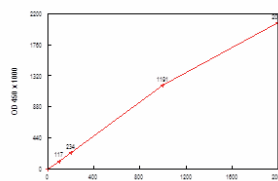
9.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

9.2. Plot a calibration curve on graph paper: OD versus Prolactin concentration.

9.3. Determine the corresponding concentration of Prolactin in unknown samples from the calibration curve. Manual or computerized data reduction is applicable on this stage. Point-by-point or linear data reduction is recommended due to non-linear shape of curve.

9.4. Below is presented a typical example of a standard curve with the XEMA Co. Not for calculations!

Calibrators	Value	Absorbance Units (450 nm)
CAL 1	0 mIU/l	0.06
CAL 2	100 mIU/l	0.33
CAL 3	200 mIU/l	0.61
CAL 4	1000 mIU/l	1.57
CAL 5	2000 mIU/l	2.21



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 Prolactin. Based on data obtained by XEMA, the following normal range is recommended (see below). NOTE: the patients that have received murine monoclonal antibodies for radioimaging or immunotherapy develop high titered anti-mouse antibodies (HAMA). The presence of these antibodies may cause false results in the present assay. Sera from HAMA positive patients should be treated with depleting adsorbents before assaying.

Sex, age	Units, mIU/l	
	Lower limit	Upper limit
Males	60	560
Females		
Pregnancy week:		
1st trimester	-	2000
2nd trimester	-	6000
3rd trimester	-	10000
Menstrual cycle:		
follicular phase	60	600
luteinic phase	120	900
post menopausal	40	550

11. PERFORMANCE CHARACTERISTIC

11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

Analyte	Cross-reactivity, % wt/wt
hGH	<0.1
lactogen	<0.1
TSH	<0.1
LH	<0.1
FSH	<0.1

11.2. Analytical sensitivity

Sensitivity of the assay was assessed as being 5.0 mIU/l.

11.3. Linearity


















Linearity was checked by assaying dilution series of 5 samples with different Prolactin concentrations. Linearity percentages obtained ranged within 90 to 110 %.

11.4. Recovery

Recovery was estimated by assaying 5 mixed samples with known Prolactin concentrations. The recovery percentages ranged from 90 to 110 %.

12. LITERATURE

1. Caufriez A. Menstrual disorders associated with hyperprolactinemia. *Hormone Res.* 1985; 22:209-14.
2. Niall, M.D. et al, «The Chemistry of Growth Hormone and the Lactogenic Hormones»; *Recent Progr. Horm. Res.* 29,471 (1974).
3. Frantz A.G. Physiology in medicine: prolactin. *New Engl. J Med* 1978; 298: 201-7.
4. Kato Y. et al. Regulation of prolactin secretion. In: *The Pituitary Gland*. Ed. H. Imura. New York, Raven Press. 1985; pp.261-278.
5. Thorner, M.O., Edwards, C.R.W., Hanker, J.P., Abraham, G., and Besser, G.M., «The Testes in Normal and Infertile Men», Troen, P. and Nankin, H.R. (eds.), Raven Press, New York, 351-366, (1977).
6. Daughday, W.H., «The Adenohypophysis, Textbook of Endocrinology»; Williams, 6th Ed., Chapter 3, 87-87, (1981).

Символ / Symbol	Значение символа / Symbolize
	Производитель / Manufacturer
	Дата производства / Date of manufacture
	Номер по каталогу / Catalogue number
	Номер серии / Batch code
 YYYY-MM	Использовать до (год-месяц) / Use By
	Ограничение температуры / Temperature limitation
	Только для ин витро диагностики / In Vitro Diagnostic Medical Device
	Внимание! / Caution, consult accompanying documents
	Не использовать при нарушении целостности упаковки / Do not use if package damaged
	Планшет / EIA strips
	Калибровочные пробы / Calibrator set
	Контрольная сыворотка / Control sera
	Конъюгат / Conjugate
	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) / Substrate solution
	Концентрат отмывочного раствора / Washing solution concentrate
	Стоп-реагент / Stop solution
	ИФА-Буфер / EIA buffer

Уважаемый Клиент!

Если в процессе работы с нашими наборами Вам понадобились пластиковые ванночки для жидких реагентов, одноразовые наконечники для дозаторов или дополнительные объемы реагентов (концентрат отмывочного раствора, ИФА-Буфер, раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), стоп-реагент), входящих в состав Набора, просим Вас обратиться к поставщику продукции ООО «ХЕМА» в Вашем регионе.

Все указанные расходные материалы предоставляются бесплатно, в необходимом для проведения анализа количестве.

Перечень наборов реагентов для диагностики инфекционных заболеваний производства ООО «ХЕМА»

№ по каталогу	Наименование
K101	«Toxoplasma IgG-ИФА»
K101M	«Toxoplasma IgM-ИФА»
K102	«Rubella IgG-ИФА»
K102M	«Rubella IgM-ИФА»
K103	«Cytomegalovirus IgG-ИФА»
K103M	«Cytomegalovirus IgM-ИФА»
K104	«HSV 1,2 IgG-ИФА»
K104M	«HSV 1,2 IgM-ИФА»
K105	«Chlamydia IgG-ИФА»
K106	«Mycoplasma IgG-ИФА»
K111G	«Сифилис IgG-ИФА»
K111	«Сифилис суммарные антитела-ИФА»
K121	«Aspergillus IgG-ИФА»



Russian Diagnostic
Manufacturers Association



Классический российский
профессиональный союз клинических
лабораторных диагностов



Russian Association
of Medical Laboratory
Diagnosticians



РОССИЙСКАЯ АССОЦИАЦИЯ
МЕДИЦИНСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ
ДИАГНОСТИКИ

Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

8 800 505 23 45

Все звонки на номер горячей линии бесплатны для звонящего с любого мобильного или стационарного телефона по всей территории России.

Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

105043, г. Москва, а/я 58

105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1-й под., 5 этаж

тел.: +7 (495) 510-57 07, 737-39-36;

факс: +7 (495) 737-00-40

e-mail: info@xema.ru

www.xema-medica.com

ФООО «Хема», тел.: +7 (812) 271-24-41

191144, Санкт-Петербург, Дегтярный пер., д. 8-10, литер А

e-mail: spb@xema.ru

СП ООО «Хемма-Тест», тел.: (17) 211-80-39

Офис: 220029, Минск, Проспект Машерова, д. 11,

литер А, корп. 8/К, офис 416

e-mail: hemma-test@yandex.ru

ТОВ «Хема», тел.: (044) 422-62-16;

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 ПРОГЕСТЕРОНА В
СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ**

«ПРОГЕСТЕРОН-ИФА»

**A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY
FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION
OF PROGESTERONE IN HUMAN SERUM OR PLASMA**

PROGESTERONE EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF K207**

ТУ № 9398-036-18619450-2007

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
№ ФСР 2009/04162 от 3 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

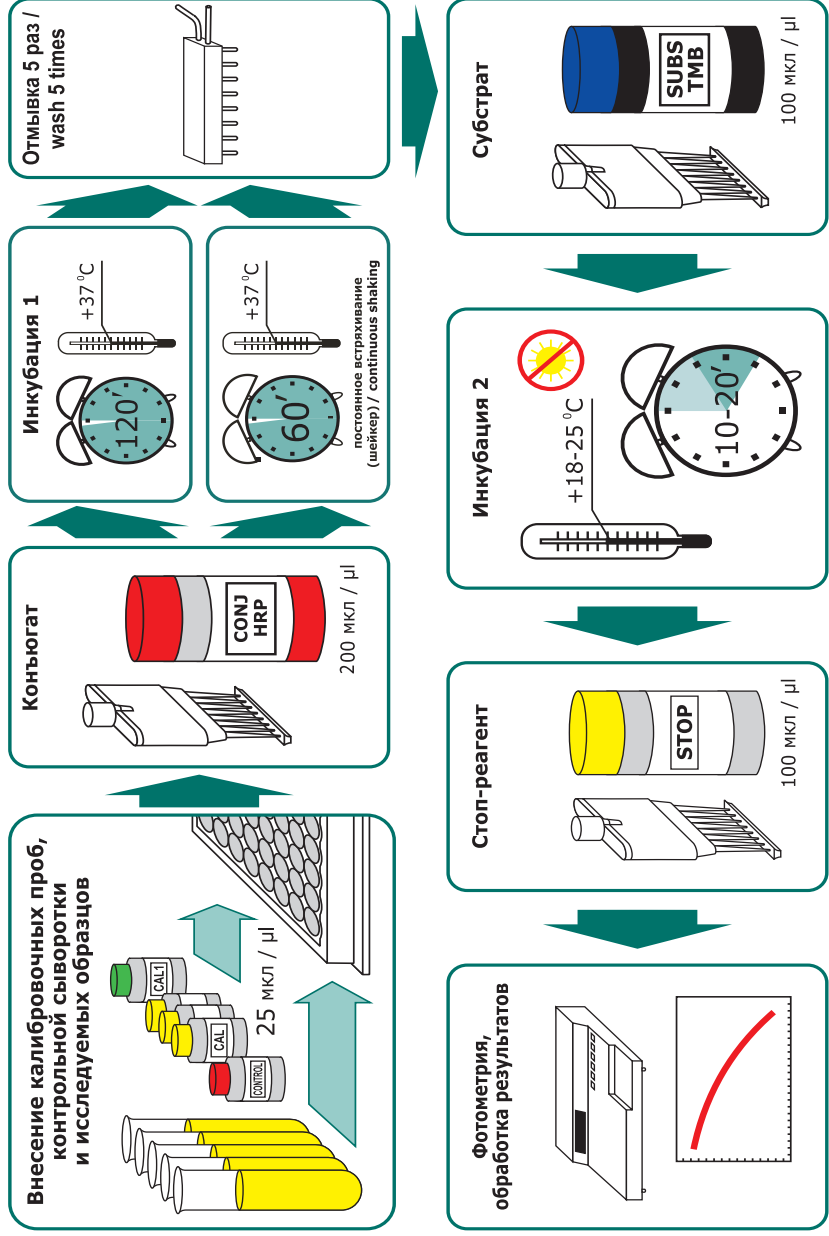
e-mail: redkin@xema-medica.com

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



K207

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 ПРОГЕСТЕРОНА В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «ПРОГЕСТЕРОН-ИФА»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «ПРОГЕСТЕРОН-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации прогестерона в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Прогестерон – гестаген с молекулярной массой 314.5 дальтон, секретируемый желтым телом, а также корой надпочечников и яичками; является предшественником для биосинтеза кортикостероидов и андрогенов. Являясь антагонистом эстрогенов, прогестерон вызывает характерные изменения эндометрия, необходимые для имплантации оплодотворенной яйцеклетки. В течение нормального менструального цикла концентрация прогестерона остается низкой до момента окончания пика ЛГ; одновременно с пиком ЛГ наблюдается небольшое, но достоверное повышение концентрации прогестерона с последующим снижением. Во вторую половину цикла уровень прогестерона вместе с эстрадиолом начинает снова подниматься, завершая лютеинизацию. К концу цикла уровень прогестерона снова падает до значений фолликулиновой фазы. Это резкое уменьшение уровня прогестерона вызывает менструальное кровотечение. В период беременности концентрация прогестерона нарастает, он вызывает пролиферацию и развитие молочных желез и способствует угнетению процесса овуляции. В первом триместре прогестерон секретируется в желтом теле беременности, а с 3–4 месяца – в митохондриях трофобласта. Содержание прогестерона в крови матери быстро увеличивается, повышаясь в 2 раза к 7–8 неделе, и продолжает постепенно расти до 37–38 недели. Снижение уровня прогестерона указывает на патологию беременности, а увеличение уровня гормона – на почечную недостаточность. Повышение концентрации прогестерона наблюдается при беременности; опухолях надпочечников и яичек; липидоклеточной опухоли яичника; хорионэпителиоме; приеме лекарственных препаратов прогестерона и его аналогов. Снижение концентрации прогестерона наблюдается при угрозе выкидыша; синдроме галактореи-аменореи; замершей беременности; приеме ампициллина, динопроста, трометацина, эстрадиола, пероральных контрацептивов.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение прогестерона основано на использовании конкурентного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы мышинные моноклональные антитела к прогестерону. Прогестерон из образца конкурирует с конъюгированным прогестероном за связывание с антителами на поверхности лунки. В результате образуется связанный с пластиком «сэндвич», содержащий пероксидазу. Во время инкубации с раствором субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) происходит окрашивание растворов в лунках. Интенсивность окраски обратно пропорциональна концентрации прогестерона в исследуемом образце. Концентрацию прогестерона в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания прогестерона в калибровочных пробах.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Перекрестная реакция мышинных моноклональных антител к прогестерону с другими анализатами приведена в таблице:

Аналит	Перекрестная реакция, %
Прогестерон	100
17-ОН Прогестерон	1.0
11-ОН Прогестерон	25
Кортикостерон	0.01
Прегненолон	0.9
Деоксикортикостерон	0.3
Деоксикортизол	0.03
Кортизол	0.002

3.2. Воспроизводимость.

Коэффициент вариации результатов определения содержания прогестерона в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «ПРОГЕСТЕРОН-ИФА» не превышает 8.0%.

3.3. Линейность.

Зависимость концентрации прогестерона в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей Прогестерон, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 1–300 нмоль/л и составляет ± 10.0 %.

3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации прогестерона предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 3 нмоль/л. Процент «открытия» составляет 90–110%.

3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «ПРОГЕСТЕРОН-ИФА» концентрация прогестерона в сыворотке (плазме) крови не превышает 0.25 нмоль/л.

4. СОСТАВ НАБОРА

Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1 P207Z	SORB MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2 C207Z	CAL 1-7	Калибровочные пробы на основе сыворотки крови человека, содержащие известные количества прогестерона – 0; 1; 3; 10; 30; 100; 300 нмоль/л , готовы к использованию (по 0.8 мл каждая)	7	шт.	прозрачные жидкости пурпурного цвета (калибровочная проба 0 – прозрачная бесцветная жидкость)
3 Q207Z	CONTROL	Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием прогестерона, готова к использованию (0.8 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
4 T207Z	CONJ HRP	Конъюгат , готов к использованию (22 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 K2071	-	Инструкция по применению Набора реагентов «ПРОГЕСТЕРОН-ИФА»	1	шт.	-
10 K207Q	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «ПРОГЕСТЕРОН-ИФА»	1	шт.	-

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

5.1. Потенциальный риск применения Набора – класс 2а (ГОСТ Р 51609-2000).

5.2. Все компоненты Набора, за исключением стоп-реагента (5.0 % раствор серной кислоты), в используемых концентрациях являются нетоксичными.

Раствор серной кислоты обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. При попадании на кожу и слизистые пораженный участок следует промыть большим количеством проточной воды.

5.3. При работе с Набором следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, 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 выдерживать при комнатной температуре ($+18...+25\text{ }^{\circ}\text{C}$) не менее 30 мин.

7.2. Приготовление планшета.

Вскрыть пакет с планшетом и установить на рамку необходимое количество стрипов. Оставшиеся неиспользованными стрипы, чтобы предотвратить воздействие на них влаги, тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре $+2...+8\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности Набора.

7.3. Приготовление отмывочного раствора.

Содержимое флакона с концентратом отмывочного раствора (22 мл), перенести в мерный цилиндр вместимостью 1000 мл, добавить 550 мл дистиллированной воды и тщательно перемешать. В случае дробного использования Набора следует отобрать необходимое количество концентрата отмывочного раствора и развести дистиллированной водой в 26 раз (1 мл концентрата отмывочного раствора + 25 мл дистиллированной воды).

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

8.1. Набор реагентов «ПРОГЕСТЕРОН-ИФА» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности, указанного на упаковке Набора. Допускается хранение (транспортировка) Набора при температуре до +25 °С не более 15 суток. Не допускается замораживание целого набора.

8.2. Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 40 исследуемых образцов, 7 калибровочных проб и 1 пробы контрольной сыворотки (всего 96 определений).

8.3. В случае дробного использования Набора компоненты следует хранить следующим образом:

- оставшиеся неиспользованными стрипы необходимо тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- конъюгат, субстрат, стоп-реагент после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- калибровочные пробы и контрольную сыворотку после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °С не более 2 месяцев;
- оставшийся неиспользованным концентрат отмывочного раствора следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- приготовленный отмывочный раствор следует хранить при комнатной температуре (+18...+25 °С) не более 15 суток или при температуре +2...+8 °С не более 45 суток;

Примечание. После использования реагента немедленно закрывайте крышку флакона. Закрывайте каждый флакон своей крышкой.

8.4. Для проведения анализа не следует использовать гемолизированную, мутную сыворотку (плазму) крови, а также сыворотку (плазму) крови, содержащую азид натрия. Если анализ производится не в день взятия крови, сыворотку (плазму) следует хранить при температуре -20 °С. Повторное замораживание-оттаивание образцов сыворотки (плазмы) крови не допускается.

8.5. Исключается использование для анализа образцов сыворотки (плазмы) крови людей, получавших в целях диагностики или терапии препараты, в состав которых входят мышиные антитела.

8.6. При использовании Набора для проведения нескольких независимых серий анализов следует иметь в виду, что для каждого независимого определения необходимо построение нового калибровочного графика; кроме этого, рекомендуется определение концентрации прогестерона в контрольной сыворотке.

8.7. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение Инструкции по применению Набора.

8.8. Не используйте компоненты из других наборов или из аналогичных наборов других серий.

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов – исследуемые образцы в 2 повторах и 16 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 200 мкл конъюгата.
4	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте его в течение 120 минут при температуре +37 °С. Альтернативная инкубация: 37 °С при постоянном встряхивании 600 об/мин в течение 60 минут.
5	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз. При каждой отмывке добавляйте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п. 7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок постукиванием планшета в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.
6	Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина. Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2–3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25°C) в течение 10–20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.
7	Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
8	Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм. Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра выставьте по воздуху.
9	Постройте в полулогарифмических координатах калибровочный график: ось абсцисс (х) – десятичный логарифм концентрации прогестерона в калибровочных пробах (нмоль/л), ось ординат (у) – оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма обчета (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод. Приравняйте концентрацию калибровочной пробы 0 нмоль/л к несущественно малой величине, например, 0.001 нмоль/л.
10	Определите по калибровочному графику содержание прогестерона в исследуемых образцах.

10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ

10.1. Основываясь на результатах исследований, проведенных ООО «ХЕМА», рекомендуем пользоваться нормами, приведенными ниже. Вместе с тем, в соответствии с правилами GLP (Хорошей лабораторной практики), каждая лаборатория должна сама определить параметры нормы, характерные для обследуемой популяции.

Примечание. Значения концентраций прогестерона в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0.25 нмоль/л), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (300 нмоль/л) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация прогестерона ниже 0.25 нмоль/л или выше 300 нмоль/л.

10.2. В Наборе «ПРОГЕСТЕРОН-ИФА» значения концентраций калибровочных проб выражены в нмоль/л. Для пересчета концентраций в нг/мл, полученное значение концентрации в нмоль/л следует умножить на 0.318.

1 нмоль/л = 0.318 нг/мл

Исследуемая группа	Единицы, нмоль/л		Единицы доп., нг/мл	
	Нижний предел	Верхний предел	Нижний предел	Верхний предел
Мужчины	-	4.0	-	1.27
12-17 лет	0.3	4.3	0.1	1.37
Женщины				
12-17 лет	0.3	41	0.1	13
менопауза	-	2.3	-	0.73
Беременные:				
1-й триместр	36	240	11.4	76.3
2-й триместр	60	240	19.1	76.3
3-й триместр	156	722	49.6	229.6
Фазы цикла:				
фолликулярная	0.6	4.6	0.19	1.46
лютеиновая	7.5	80	2.39	25.4
овуляция	11	80	3.5	25.4

11. ЛИТЕРАТУРА

1. Christian De Geyter, Maria De Geyter, Peter R. Huber, Eberhard Nieschlag, and Wolfgang Holzgreve – Progesterone serum levels during the follicular phase of the menstrual cycle originate from the crosstalk between the ovaries and the adrenal cortex. Hum. Reprod., Apr 2002; 17: 933 – 939.
2. J. Jaroslav Stern, F. Voss, and C. B. Coulam – Early diagnosis of ectopic pregnancy using receiver – operator characteristic curves of serum progesterone concentrations. Hum. Reprod., May 1993; 8: 775 – 779.
3. B. Gellersen, M. S. Fernandes, and J. J. Brosens – Non-genomic progesterone actions in female reproduction. Hum. Reprod. Update, Jan 2009; 15: 119 – 138.
4. J. Dinny Graham and Christine L. Clarke – Physiological Action of Progesterone in Target Tissues. Endocr. Rev., Aug 1997; 18: 502 – 519.

По вопросам, касающимся качества Набора **«ПРОГЕСТЕРОН-ИФА»**, следует обращаться в ООО «ХЕМА» по адресу:
105043, г. Москва, а/я 58
105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1-й под., 5 этаж,
тел/факс (495) 737-39-36, 737-00-40, 510-57-07 (многоканальный)

электронная почта: info@xema.ru; qsc@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 PROGESTERONE IN HUMAN SERUM OR PLASMA

1. INTENDED USE

A solid-phase enzyme immunoassay for the quantitative determination of progesterone in blood serum or plasma.

This kit is designed for measurement of progesterone in blood serum or plasma. For possibility of use with other sample types, please, refer to Application Notes (on request). The kit contains reagents sufficient for 96 determinations and allows to analyze 41 unknown samples in duplicates.

2. SUMMARY AND EXPLANATION

Progesterone is a gestagen with a MW of 314.5 Dalton. Progesterone is secreted by corpus luteum, adrenals and testis; it plays a role of a precursor for corticosteroids and androgens. Being an estrogen antagonist, Progesterone induces characteristic changes in endometrium necessary for implantation of an impregnated ovum.

During normal menstrual cycle, Progesterone level remains low until LH peak level begins to drop: only slight but statistically significant elevation of Progesterone level occurs concomitantly with LH peak followed by a decrease of Progesterone concentration. During second stage of the cycle, Progesterone and Estradiol levels increase again to complete luteinization. By the end of the cycle, Progesterone level drops again up to levels seen during follicular phase. This quick drop causes menstrual bleeding.

During pregnancy, Progesterone concentration continuously increases, and it induces proliferation and development of mammary glands and inhibits ovulation. During the first trimester, Progesterone is secreted by corpus luteum while from month 3–4 – by mitochondria of the trophoblast. Progesterone level in maternal blood increases rapidly – by week 7–8 it increases 2-fold and continues to increase by week 37–38. Decreased Progesterone levels indicate pathology of pregnancy while elevated levels suggest renal insufficiency.

Elevated Progesterone levels are found in pregnancy, tumours of adrenals or testicles, chorionepithelioma, in lipid tumours of ovaries as well as after intake of preparations of Progesterone or its analogues.

Decreased Progesterone levels are seen in galactorrhea-amenorrhea syndrome, in pregnant women at risk of premature delivery, and in persons taking some drugs such as oral contraceptives, ampicilline, ethynilestradiol.

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 progesterone-antibodies simultaneously with conjugated Progesterone-peroxidase. Progesterone from the specimen competes with the conjugated Progesterone for coating antibodies. After washing procedure, the remaining enzymatic activity bound to the microwell surface is detected and quantified by addition of chromogen-substrate mixture, stop solution and photometry at 450 nm. Optical density in the microwell is inversely related to the quantity of the measured analyte in the specimen.

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

4.1. For professional use only.

4.2. This kit is intended for in vitro diagnostic use only.

4.3. INFECTION HAZARD: There is no available test methods that can absolutely assure that Hepatitis B and C viruses, HIV-1/2, or other infectious agents are not present in the reagents of this kit. All human products, including patient samples, should be considered potentially infectious. Handling and disposal should be in accordance with the procedures defined by an appropriate national biohazard safety guidelines or regulations.

4.4. Avoid contact with stop solution containing 5.0% 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	Progesterone EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp.date
2 CAL 1-7	Calibrator set, 0.8 ml each. The set contains 7 calibrators: 0; 1; 3; 10; 30; 100, 300 nmol/l	7	pcs	purple (C1 – colourless)	2 months
3 CONTROL	Control serum (0.8 ml)	1	pcs	colourless	2 months
4 CONJ HRP	Conjugate, 22 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 – 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 K2071	Instruction Progesterone EIA	1	pcs		N/A
10 K207Q	QC data sheet Progesterone EIA	1	pcs		N/A

5.2. Equipment and material required but not provided

- Distilled or deionized water;
- Automatic or semiautomatic multichannel micropipettes, 100–250 µl, is useful but not essential;
- Calibrated micropipettes with variable volume, range volume 25–250 µl;
- Dry thermostat for +37 °C ±0.1 °C;
- Calibrated microplate photometer with 450 nm wavelength and OD measuring range 0–3.0.

5.3. Storage and stability of the Kit

Store the whole kit at +2...+8 °C upon receipt until the expiration date.

After opening the pouch keep unused microtiter wells TIGHTLY SEALED BY ADHESIVE TAPE (INCLUDED) to minimize exposure to moisture.

6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

This kit is intended for use with serum or plasma (ACD- or heparinized). Grossly hemolytic, lipemic, or turbid samples should be avoided.

Specimens may be stored for up to 48 hours at +2...+8 °C before testing. For a longer storage, the specimens should be frozen at -20 °C or lower. Repeated freezing/thawing should be avoided.

7. TEST PROCEDURE

7.1. Reagent Preparation

- All reagents (including unsealed microstrips) should be allowed to reach room temperature (+18...+25 °C) before use.
- All reagents should be mixed by gentle inversion or vortexing prior to use. Avoid foam formation.
- It is recommended to spin down shortly the tubes with calibrators on low speed centrifuge.
- Prepare washing solution from the concentrate BUF WASH 26X by 26 dilutions in distilled water.

7.2. Procedural Note:

It is recommended that pipetting of all calibrators and samples should be completed within 3 minutes.

7.3. Assay flowchart

See the example of calibration graphic in Quality Control data sheet.

7.4. Alternative units:

1 nmol/l = 0.318 ng/ml

7.5. Assay procedure

1	Put the desired number of microstrips into the frame; allocate 16 wells for the calibrators CAL 1-7 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 1-7, control samples CONTROL and unknown samples into the wells.
3	Dispense 200 µl of CONJ HRP into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape (included into the kit).
4	Incubate 120 minutes at 37 °C. OR: incubate at 37 °C with continuous shaking 600 rpm, 60 min.
5	Prepare washing solution by 26X dilution of washing solution concentrate (BUF WASH 26X) by distilled water. Wash the strips 5 times.
6	Dispense 100 µl of SUBS TMB into the wells.
7	Incubate 10-20 minutes at +18...+25 °C.
8	Dispense 100 µl of STOP into the wells.
9	Measure OD (optical density) at 450 nm.
10	Set photometer blank on air.
11	Apply lin-log method for data reduction.

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

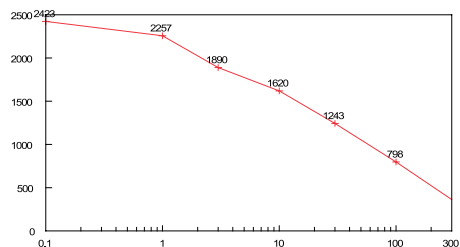
1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

2. Plot a calibration curve on graph paper: OD versus progesterone concentration.

3. Determine the corresponding concentration of progesterone in unknown samples from the calibration curve. Manual or computerized data reduction is applicable on this stage. Point-by-point or linear data reduction is recommended due to non-linear shape of curve.

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	2473
CAL 2	1 nmol/l	2315
CAL 3	3 nmol/l	2007
CAL 4	10 nmol/l	1769
CAL 5	30 nmol/l	1427
CAL 6	100 nmol/l	942
CAL 7	300 nmol/l	464



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 Progesterone. Based on data obtained by XEMA, the following normal range is recommended (see below). NOTE: the patients that have received murine monoclonal antibodies for radioimaging or immunotherapy develop high titered anti-mouse antibodies (HAMA). The presence of these antibodies may cause false results in the present assay. Sera from HAMA positive patients should be treated with depleting adsorbents before assaying.

Sex, age	Units, nmol/l		Units alternative, ng/ml	
	Lower limit	Upper limit	Lower limit	Upper limit
Males	-	4.0	-	1.27
12-17 yrs	0.3	4.3	0.1	1.37
Females				
12-17 yrs	0.3	41	0.1	13
post menopausal	-	2.3	-	0.73
Pregnancy:				
1st trimester	36	240	11.4	76.3
2nd trimester	60	240	19.1	76.3
3rd trimester	156	722	49.6	229.6
Menstrual cycle:				
follicular phase	0.6	4.6	0.19	1.46
luteinic phase	7.5	80	2.39	25.4
ovulation	11	80	3.5	25.4

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

Analyte	Cross-reactivity, % wt/wt
Progesterone	100
17-Hydroxyprogesterone	1
11-Hydroxyprogesterone	25
Corticosterone	0.01
Pregnenolone	0.9
Deoxycorticosterone	0.3
Deoxycortisol	0.03
Cortisol	0.002


















11.2. Analytical sensitivity. Sensitivity of the assay was assessed as being 0.25 nmol/l.

11.3. Linearity. Linearity was checked by assaying dilution series of 5 samples with different progesterone concentrations. Linearity percentages obtained ranged within 90 to 110%.

11.4. Recovery. Recovery was estimated by assaying 5 mixed samples with known progesterone concentrations. The recovery percentages ranged from 90 to 110%.

12. LITERATURE

1. Christian De Geyter, Maria De Geyter, Peter R. Huber, Eberhard Nieschlag, and Wolfgang Holzgreve – Progesterone serum levels during the follicular phase of the menstrual cycle originate from the crosstalk between the ovaries and the adrenal cortex. Hum. Reprod., Apr 2002; 17: 933–939.
2. J. Jaroslav Stern, F. Voss, and C.B. Coulam – Early diagnosis of ectopic pregnancy using receiver – operator characteristic curves of serum progesterone concentrations. Hum. Reprod., May 1993; 8: 775 – 779.
3. B. Gellersen, M.S. Fernandes, and J.J. Brosens – Non-genomic progesterone actions in female reproduction. Hum. Reprod. Update, Jan 2009; 15: 119 – 138.
4. J. Dinny Graham and Christine L. Clarke – Physiological Action of Progesterone in Target Tissues. Endocr. Rev., Aug 1997; 18: 502 – 519.

Символ / Symbol	Значение символа / Symbolize
	Производитель / Manufacturer
	Дата производства / Date of manufacture
	Номер по каталогу / Catalogue number
	Номер серии / Batch code
	Использовать до (год-месяц) / Use By
	Ограничение температуры / Temperature limitation
	Только для ин витро диагностики / In Vitro Diagnostic Medical Device
	Внимание! / Caution, consult accompanying documents
	Не использовать при нарушении целостности упаковки / Do not use if package damaged
	Планшет / EIA strips
	Калибровочные пробы / Calibrator set
	Контрольная сыворотка / Control sera
	Конъюгат / Conjugate
	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) / Substrate solution
	Концентрат отмывочного раствора / Washing solution concentrate
	Стоп-реагент / Stop solution
	ИФА-Буфер / EIA buffer

Уважаемый Клиент!

Если в процессе работы с нашими наборами Вам понадобились пластиковые ванночки для жидких реагентов, одноразовые наконечники для дозаторов или дополнительные объемы реагентов (концентрат отмывочного раствора, ИФА-Буфер, раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), стоп-реагент), входящих в состав Набора, просим Вас обратиться к поставщику продукции ООО «ХЕМА» в Вашем регионе.

Все указанные расходные материалы предоставляются бесплатно, в необходимом для проведения анализа количестве.

Перечень наборов реагентов для диагностики инфекционных заболеваний производства ООО «ХЕМА»

№ по каталогу	Наименование
K101	«Toxoplasma IgG-ИФА»
K101M	«Toxoplasma IgM-ИФА»
K102	«Rubella IgG-ИФА»
K102M	«Rubella IgM-ИФА»
K103	«Cytomegalovirus IgG-ИФА»
K103M	«Cytomegalovirus IgM-ИФА»
K104	«HSV 1,2 IgG-ИФА»
K104M	«HSV 1,2 IgM-ИФА»
K105	«Chlamydia IgG-ИФА»
K106	«Mycoplasma IgG-ИФА»
K111G	«Сифилис IgG-ИФА»
K111	«Сифилис суммарные антитела-ИФА»
K121	«Aspergillus IgG-ИФА»



Russian Diagnostic
Manufacturers Association



Российская ассоциация
профессионалов сферы клинической
лабораторной диагностики



Russian Association
of Medical Laboratory
Diagnosticians



Российская ассоциация
медицинской лабораторной
диагностики

Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

8 800 505 23 45

Все звонки на номер горячей линии бесплатны для звонящего с любого мобильного или стационарного телефона по всей территории России.

Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

105043, г. Москва, а/я 58

105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1-й под., 5 этаж

тел.: +7 (495) 510-57 07, 737-39-36;

факс: +7 (495) 737-00-40

e-mail: info@xema.ru

www.xema-medica.com

ФООО «Хема», тел.: +7 (812) 271-24-41

191144, Санкт-Петербург, Дегтярный пер., д. 8-10, литер А

e-mail: spb@xema.ru

СП ООО «Хемма-Тест», тел.: (17) 211-80-39

Офис: 220029, Минск, Проспект Машерова, д. 11,

литер А, корп. 8/К, офис 416

e-mail: hemma-test@yandex.ru

ТОВ «Хема», тел.: (044) 422-62-16;

03176, г. Киев, ул. Академика Ефремова, д. 23;

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com





Instruction for use



**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
НАБОРА РЕАГЕНТОВ
ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
ЭСТРАДИОЛА В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ**

«ЭСТРАДИОЛ-ИФА»

**A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY
FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION
OF ESTRADIOL IN HUMAN SERUM OR PLASMA**

ESTRADIOL EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF** **K208**

ТУ № 9398-032-18619450-2007

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
№ ФСР 2007/00736 от 04 сентября 2013 года



For 96 determinations/На 96 определений



Для *in vitro* диагностики



XEMA Co., Ltd.

The 9th Parkovaya str., 48

105264 Moscow, Russia

Tel./fax: +7(495) 510-57-07

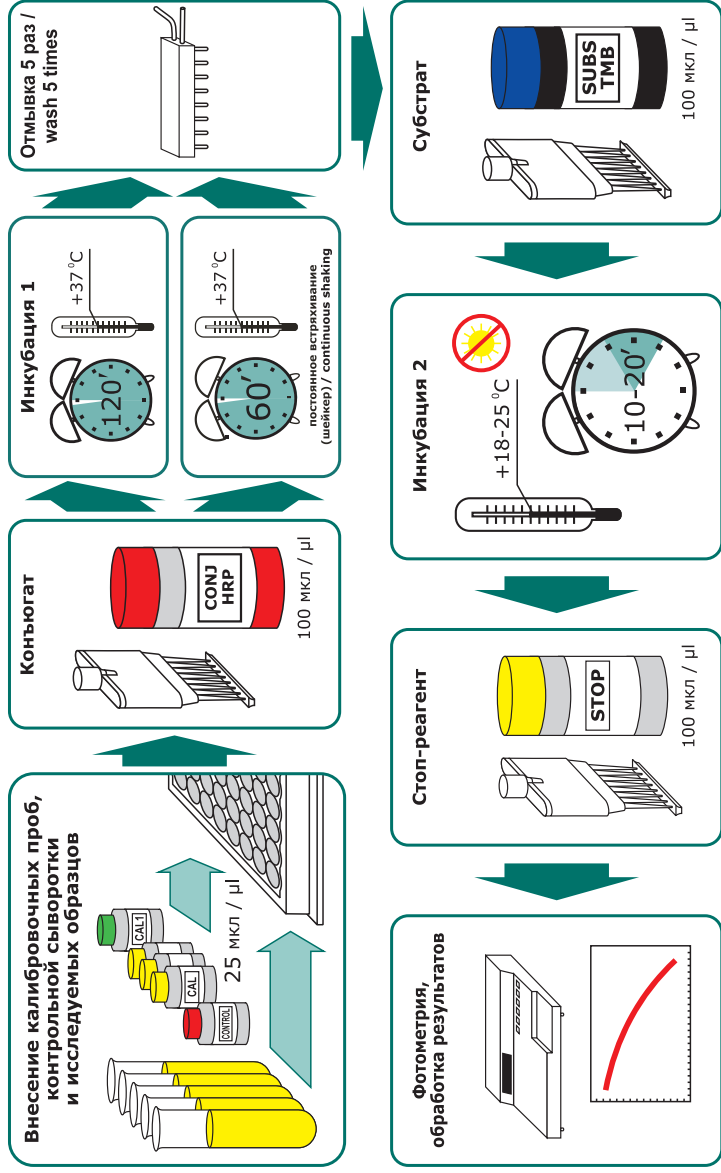
e-mail: redkin@xema-medica.com

internet: www.xema-medica.com



Authorized Representative in EU:
Polmed.de
Steinacker 20, D-73773
Aichwald, Germany
e-mail: info@polmed.de

Схема проведения анализа / Test procedure



K208; K209

СОДЕРЖАНИЕ

1. НАЗНАЧЕНИЕ	2
2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА	3
3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	3
4. СОСТАВ НАБОРА	4
5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	5
6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ	5
7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА	5
8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА	6
9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА	7
10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ	8
11. ЛИТЕРАТУРА	9

CONTENT

1. INTENDED USE	10
2. SUMMARY AND EXPLANATION	10
3. PRINCIPLE OF THE TEST	11
4. WARNINGS AND PRECAUTIONS	11
5. KIT COMPONENTS	12
6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE	13
7. TEST PROCEDURE	13
8. QUALITY CONTROL	14
9. CALCULATION OF RESULTS	15
10. EXPECTED VALUES	15
11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS	16
12. LITERATURE	16

Инструкция составлена Руководителем службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА»,
к. б. н. Д. С. Кострикиным

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭСТРАДИОЛА В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «ЭСТРАДИОЛ-ИФА»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «ЭСТРАДИОЛ-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации эстрадиола в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Эстрадиол (E2) – стероидный гормон с молекулярным весом 272.4 Да. Это наиболее активный из эстрогенов в организме человека. Считается, что у мужчин незначительное количество эстрадиола вырабатывается в коре надпочечников и в яичках. В женском организме он образуется в яичниках, оболочке и гранулезных клетках фолликулов. Физиологическая роль E2 заключается в формировании специфических функций женского организма. Секреция E2 регулируется взаимодействием гормонов гипоталамуса, гипофиза и яичников при участии либеринов, гонадотропинов, пролактина и половых стероидов. Уровень эстрадиола остается низким в начале и середине фолликулярной фазы нормального менструального цикла. За 3–5 дней до пика ЛГ уровень E2 начинает расти и достигает максимального значения примерно за 12 часов до пика ЛГ. После резкого падения до минимальных значений (спустя 48 часов после пика ЛГ), уровень E2 начинает снова расти. Максимальная концентрация гормона в лютеиновой фазе наблюдается на 9-й день после овуляции, а к концу цикла вновь падает по мере атрезии желтого тела. Во время беременности определение уровня эстрадиола в крови позволяет контролировать состояние фетоплацентарной системы. Содержание E2 в крови матери в начале беременности соответствует его содержанию у небеременных женщин во время овуляции. Резкий подъем его уровня наблюдается к 9-й – 10-й неделе (в 12 раз), затем постепенно увеличивается до конца беременности. Снижение концентрации эстрадиола при динамическом исследовании является показателем нарушения развития плода. Повышенные уровни эстрадиола в сыворотке крови наблюдаются при маточных кровотечениях в период менопаузы; гиперплазии надпочечников; эстрогенпродуцирующих опухолях; циррозе печени; феминизации у детей; приеме гонадотропинов, кломифена, эстрогенов. Снижение уровня эстрадиола наблюдается при синдроме Тернера, первичном и вторичном гипогонадизме, гермафродитизме, климактерическом и постклимактерическом синдромах, нарушении состояния плода во время беременности, приеме оральных контрацептивов.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение эстрадиола основано на использовании конкурентного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы кроличьи поликлональные антитела к эстрадиолу. Эстрадиол из образца конкурирует с конъюгированным эстрадиолом за связывание с антителами на поверхности лунки. В результате образуется связанный с пластиком «сэндвич», содержащий пероксидазу. Во время инкубации с раствором субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) происходит окрашивание растворов в лунках. Интенсивность окраски обратно пропорциональна концентрации эстрадиола в исследуемом образце. Концентрацию эстрадиола в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания эстрадиола в калибровочных пробах.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Перекрестная реакция кроличьих поликлональных антител к эстрадиолу с другими анализитами приведена в таблице:

Аналит	Перекрестная реакция, %
Эстрадиол	100
Эстрон	0.2
Эстриол	0.6
Кортизол	0.06
Преднизолон	0.09
Кортикостерон	<0.01
Прогестерон	<0.01
17-ОН Прогестерон	<0.05
Прегненолон	<0.05
Тестостерон	<0.01

3.2. Воспроизводимость.

Коэффициент вариации результатов определения содержания эстрадиола в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «ЭСТРАДИОЛ-ИФА» не превышает 8.0%.

3.3. Линейность.

Зависимость концентрации эстрадиола в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей эстрадиол, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 0,1–20 нмоль/л и составляет $\pm 10.0\%$.

3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации эстрадиола предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 0.3 нмоль/л. Процент «открытия» составляет 90–110%.

3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «ЭСТРАДИОЛ-ИФА» концентрация эстрадиола в сыворотке (плазме) крови не превышает 0.025 нмоль/л.

4. СОСТАВ НАБОРА

Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1 P208Z	SORB MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2 C208Z	CAL 1-6	Калибровочные пробы на основе сыворотки крови человека, содержащие известные количества эстрадиола – 0; 0.1; 0.3; 1; 3; 20 нмоль/л , готовы к использованию (по 0.8 мл каждая)	6	шт.	прозрачные жидкости ярко-красного цвета (калибровочная проба 0 – прозрачная бесцветная жидкость)
3 Q208Z	CONTROL	Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием эстрадиола, готова к использованию (0.8 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
4 T208Z	CONJ HRP	Конъюгат , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость красного цвета
5 R055Z	SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидаина (ТМБ), готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
6 S008Z	BUF WASH 26X	Концентрат отмывочного раствора (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26х-кратный (22 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
7 R050Z	STOP	Стоп-реагент , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
8 N003	-	Бумага для заклеивания планшета	2	шт.	-
9 K208I	-	Инструкция по применению Набора реагентов «ЭСТРАДИОЛ-ИФА»	1	шт.	-
10 K208Q	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «ЭСТРАДИОЛ-ИФА»	1	шт.	-

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

5.1. Потенциальный риск применения Набора – класс 26 (ГОСТ Р 51609-2000).

5.2. Все компоненты Набора, за исключением стоп-реагента (5.0% раствор серной кислоты), в используемых концентрациях являются нетоксичными.

Раствор серной кислоты обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. При попадании на кожу и слизистые пораженный участок следует промыть большим количеством проточной воды.

5.3. При работе с Набором следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противозидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

5.4. При работе с Набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированный материал, способный длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность содержимого лунок планшета при длине волны 450 нм;
- термостат, поддерживающий температуру $+37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$ (или термоста-тируемый шейкер);
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы в диапазоне 25–250 мкл;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- бумага фильтровальная.

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

7.1. Перед проведением анализа компоненты Набора и исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови следует выдержать при комнатной температуре ($+18\dots+25\text{ }^{\circ}\text{C}$) 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 добавьтe во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п. 7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок постукиванием планшета в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.
6	Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина. Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2–3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °С) в течение 10–20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.
7	Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
8	Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм. Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра представляйте по воздуху.
9	Постройте в полулогарифмических координатах калибровочный график: ось абсцисс (х) – десятичный логарифм концентрации эстрадиола в калибровочных пробах (нмоль/л), ось ординат (у) – оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма обсчета (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод. Приравняйте концентрацию калибровочной пробы 0 нмоль/л к несущественно малой величине, например, 0.001 нмоль/л
10	Определите по калибровочному графику содержание эстрадиола в исследуемых образцах.

10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ

10.1. Основываясь на результатах исследований, проведенных ООО «ХЕМА», рекомендуем пользоваться нормами, приведенными ниже. Вместе с тем, в соответствии с правилами *GLP* (Хорошей лабораторной практики), каждая лаборатория должна сама определить параметры нормы, характерные для обследуемой популяции.

Примечание. Значения концентраций эстрадиола в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0.025 нмоль/л), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (20 нмоль/л) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация эстрадиола ниже 0.025 нмоль/л или выше 20 нмоль/л.

10.2. В Наборе «ЭСТРАДИОЛ-ИФА» значения концентраций калибровочных проб выражены в нмоль/л. Для пересчета концентраций в пг/мл, полученное значение концентрации в нмоль/л следует умножить на 272.

1 нмоль/л = 272 пг/мл

Исследуемая группа	Единицы, нмоль/л		Единицы доп., пг/мл	
	Нижний предел	Верхний предел	Нижний предел	Верхний предел
дети до 11 лет	-	0.2	-	54.4
Мужчины	0.029	0.3	7.9	81.6
Женщины				
Беременные:				
1-й триместр	0.1	10.5	27	2856
2-й триместр	3.0	21	816	5712
3-й триместр	6.0	80	1632	21760
Фазы цикла:				
фолликулярная	0.05	0.7	13.6	190.4
лютеиновая	0.1	1.1	27.2	299.2
овуляция	0.34	1.8	92.5	489.6
менопауза	-	0.23	-	62.6

11. ЛИТЕРАТУРА

1. Hall, P. F., Testicular Steroid Synthesis: Organization and Regulation. In: The Physiology of Reproduction, Ed.: Knobil, E., and Neill, J. et al., pp 975-98. Raven Press, New York (1988).
2. Tsang, B. K., Armstrong, D. T. and Whitfield, J. F., Steroid biosyntheses by isolated human ovarian follicular cells in vitro, J. Clin. Endocrinol. Metab. 51:1407 - 11 (1980).
3. Gore-Langton, R. E. and Armstrong, D. T., Follicular steroidogenesis and its control. In: The physiology of Reproduction, Ed.: Knobil, E., and Neill, J. et al., pp. 331-85. Raven Press, New York (1988).
4. Siiteri, P. K. Murai, J. T., Hammond, G. L., Nisker, J. A., Raymoure, W. J. and Kuhn, R. W., The serum transport of steroid hormones, Rec. Prog. Horm. Res. 38:457- 510 (1982).
5. Martin, B., Rotten, D., Jolivet, A. and Gautray, J-P-. Binding of steroids by proteins in follicular fluid of the human ovary, J.Clin. Endocrinol. Metab. 35: 443-47 (1981).
6. Baird, D. T., Ovarian steroid secretion and metabolism in women. In: The Endocrine Function of the Human Ovary. Eds.: James, V.H:T., Serio, M. and Giusti, G. pp. 125-33, Academic Press, New York (1976).
7. McNastty, K. P., Baird, D. T., Bolton, a., Chambers, P., Corker, C.S. and McLean, H., concentration of oestrogens and androgens in human ovarian venous plasma and follicular fluid throughout the menstrual cycle, J. Endocrinol. 71:77-85 (1976).

По вопросам, касающимся качества Набора **«ЭСТРАДИОЛ-ИФА»**, следует обращаться в ООО «ХЕМА» по адресу:

105043, г. Москва, а/я 58

105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1-й под., 5 этаж,

тел/факс (495) 737-39-36, 737-00-40, 510-57-07 (многоканальный)

электронная почта: info@xema.ru; rqc@xema.ru

интернет: www.xema.ru; www.xema-medica.com

Руководитель службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА»,

к. б. н. Д. С. Кострикин

Instruction for use

A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF ESTRADIOL IN HUMAN SERUM OR PLASMA

1. INTENDED USE

A solid-phase enzyme immunoassay for the quantitative determination of estradiol in blood serum or plasma.

This kit is designed for measurement of estradiol in blood serum or plasma. For possibility of use with other sample types, please, refer to Application Notes (on request). The kit contains reagents sufficient for 96 determinations and allows to analyze 41 unknown samples in duplicates.

2. SUMMARY AND EXPLANATION

Estradiol (E2) is a steroid hormone with molecular weight 272.4 Da. In humans, E2 shows the highest physiological activity among the estrogens. In males, minor quantities of E2 are produced by adrenals and testicles. In females, E2 is produced by ovarian follicles. The physiological activity of E2 involves multiple functions in female reproductive system. Regulation of E2 production and secretion is complex and depends on pituitary and ovarian hormones.

Serum E2 level is low in follicular phase of the menstrual cycle; 3–5 days before serum LH peak, serum E2 level begins to rise and reaches a maximum ca. 12 hours before LH peak. After LH peak, E2 level drops dramatically to the minimal level and starts to rise again. The maximal E2 level in serum is observed in luteal phase, at day 9 after ovulation; then the decline of serum E2 reflects the degradation of corpus luteum.

During pregnancy, the determination of serum E2 reflects the status of fetoplacental system. In first trimester, serum E2 level is in the range corresponding to the ovulation levels. Sharp increase of serum E2 in pregnant women is observed between 9th and 10th week; then the increase continues less sharply by the end of pregnancy.

Increased levels of serum estradiol are characteristic for metrorrhagias in post-menopausal age; adrenal hyperplasia; estrogen-secreting tumours; liver cirrhosis; feminization in children and males; intake of gonadotropins and estrogens.

Decreased levels of serum estradiol are observed in Turner syndrome, primary or secondary hypogonadism; germaphroditism; post-climacteric syndrome; fetal dysfunctions; intake of oral contraceptives.

3. PRINCIPLE OF THE TEST

This test is based on competition enzyme immunoassay principle. Tested specimen is placed into the microwells coated by specific rabbit polyclonal to estradiol-antibodies simultaneously with conjugated Estradiol-peroxidase. Estradiol from the specimen competes with the conjugated Estradiol for coating antibodies. After washing procedure, the remaining enzymatic activity bound to the microwell surface is detected and quantified by addition of chromogen-substrate mixture, stop solution and photometry at 450 nm. Optical density in the microwell is inversely related to the quantity of the measured analyte in the specimen.

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

4.1. For professional use only.

4.2. This kit is intended for in vitro diagnostic use only.

4.3. INFECTION HAZARD: There is no available test methods that can absolutely assure that Hepatitis B and C viruses, HIV-1/2, or other infectious agents are not present in the reagents of this kit. All human products, including patient samples, should be considered potentially infectious. Handling and disposal should be in accordance with the procedures defined by an appropriate national biohazard safety guidelines or regulations.

4.4. Avoid contact with stop solution containing 5.0% H₂SO₄. It may cause skin irritation and burns.

4.5. Wear disposable latex gloves when handling specimens and reagents. Microbial contamination of reagents may give false results.

4.6. Do not use the kit beyond the expiration date.

4.7. All indicated volumes have to be performed according to the protocol. Optimal test results are only obtained when using calibrated pipettes and microplate readers.

4.8. Do not smoke, eat, drink or apply cosmetics in areas where specimens or kit reagents are handled.

4.9. Chemicals and prepared or used reagents have to be treated as hazardous waste according to the national biohazard safety guidelines or regulations.

4.10. Do not mix reagents from different lots.

4.11. Replace caps on reagents immediately. Do not swap caps.

4.12. Do not pipette reagents by mouth.

4.13. Specimens must not contain any AZIDE compounds – they inhibit activity of peroxidase.

4.14. Material Safety Data Sheet for this product is available upon request directly from XEMA Co., Ltd.

4.15. The Material Safety Data Sheet fit the requirements of EU Guideline 91/155 EC.

5.1. Contents of the Kit

5. KIT COMPONENTS

Symbol	Description	Qty	Units	Colour code	Stability of opened/diluted components
1 SORB MTP	Estradiol EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp.date
2 CAL 1-6	Calibrator set, 0.8 ml each. The set contains 6 calibrators: 0: 0.1; 0.3; 1; 3; 20 nmol/l	6	pcs	bright red (C1 – colourless)	2 months
3 CONTROL	Control serum (0.8 ml)	1	pcs	colourless	2 months
4 CONJ HRP	Conjugate, 14 ml	1	pcs	red	until exp.date
5 SUBS TMB	Substrate solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
6 BUF WASH 26X	Washing solution concentrate 26X, 22 ml	1	pcs	colourless	Concentrate – until exp.date Diluted washing solution – 45 days at 2-8 °C or 15 days at RT
7 STOP	Stop solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
8 N003	Plate sealing tape	2	pcs		N/A
9 K2081	Instruction Estradiol EIA	1	pcs		N/A
10 K208Q	QC data sheet Estradiol EIA	1	pcs		N/A

5.2. Equipment and material required but not provided

- Distilled or deionized water;
- Automatic or semiautomatic multichannel micropipettes, 100–250 µl, is useful but not essential;
- Calibrated micropipettes with variable volume, range volume 25–250 µl;
- Dry thermostat for 37 °C ±0.1 °C (optional: with shaking 600 rpm);
- Calibrated microplate photometer with 450 nm wavelength and OD measuring range 0–3.0.

5.3. Storage and stability of the Kit

Store the whole kit at +2...+8 °C upon receipt until the expiration date.

After opening the pouch keep unused microtiter wells TIGHTLY SEALED BY ADHESIVE TAPE (INCLUDED) to minimize exposure to moisture.

6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

This kit is intended for use with serum or plasma (ACD- or heparinized). Grossly hemolytic, lipemic, or turbid samples should be avoided.

Specimens may be stored for up to 48 hours at +2...+8 °C before testing. For a longer storage, the specimens should be frozen at -20 °C or lower. Repeated freezing/thawing should be avoided.

7. TEST PROCEDURE**7.1. Reagent Preparation**

- All reagents (including unsealed microstrips) should be allowed to reach room temperature (+18...+25 °C) before use.
- All reagents should be mixed by gentle inversion or vortexing prior to use. Avoid foam formation.
- It is recommended to spin down shortly the tubes with calibrators on low speed centrifuge.
- Prepare washing solution from the concentrate BUF WASH 26X by 26 dilutions in distilled water.

7.2. Procedural Note:

It is recommended that pipetting of all calibrators and samples should be completed within 3 minutes.

See the example of calibration graphic in Quality Control data sheet.

7.3. Assay flowchart

1 nmol/l = 272 pg/ml

7.4. Assay procedure

1	Put the desired number of microstrips into the frame; allocate 14 wells for the calibrators CAL 1–6 and control samples CONTROL and two wells for each unknown sample. DO NOT REMOVE ADHESIVE SEALING TAPE FROM UNUSED STRIPS.
2	Pipet 25 µl of calibrators CAL 1–6, control samples CONTROL and unknown samples into the wells.
3	Dispense 100 µl of CONJ HRP into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape (included into the kit).
4	Incubate 120 minutes at 37 °C. OR: Incubate at +37 °C with continuous shaking (ca 600 rpm) during 60 min.
5	Prepare washing solution by 26X dilution of washing solution concentrate (BUF WASH 26X) by distilled water. Wash the strips 5 times.
6	Dispense 100 µl of SUBS TMB into the wells.
7	Incubate 10–20 minutes at +18...+25 °C.
8	Dispense 100 µl of STOP into the wells.
9	Measure OD (optical density) at 450 nm.
10	Set photometer blank on air.
11	Apply lin-log method for data reduction.

7.5. Handling notes

Calibrators and control sample(s) – only one freezing/thawing cycle is allowed

Incubation at +37 °C may be replaced by incubation at +37 °C with continuous shaking (ca 600 rpm) during 60 min

8. QUALITY CONTROL

It is recommended to use control samples according to state and federal regulations. The use of control samples is advised to assure the day to day validity of results.

The test must be performed exactly as per the manufacturer's instructions for use. Moreover the user must strictly adhere to the rules of GLP (Good Laboratory Practice) or other applicable federal, state, and local standards and/or laws. This is especially relevant for the use of control reagents. It is important to always include, within the test procedure, a sufficient number of controls for validating the accuracy and precision of the test.

The test results are valid only if all controls are within the specified ranges and if all other test parameters are also within the given assay specifications.

9. CALCULATION OF RESULTS

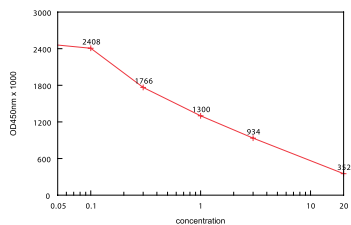
1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

2. Plot a calibration curve on graph paper: OD versus estradiol concentration.

3. Determine the corresponding concentration of estradiol in unknown samples from the calibration curve. Manual or computerized data reduction is applicable on this stage. Point-by-point or linear data reduction is recommended due to non-linear shape of curve.

4. Below is presented a typical example of a standard curve with the XEMA Co. Not for calculations!

Calibrators	Value	Absorbance Units (450 nm) x 1000
CAL 1	0 nmol/l	2579
CAL 2	0.1 nmol/l	2408
CAL 3	0.3 nmol/l	1766
CAL 4	1 nmol/l	1300
CAL 5	3 nmol/l	934
CAL 6	20 nmol/l	352



10. EXPECTED VALUES

Therapeutical consequences should not be based on results of IVD methods alone – all available clinical and laboratory findings should be used by a physician to elaborate therapeutically measures. Each laboratory should establish its own normal range for Estradiol. Based on data obtained by XEMA, the following normal range is recommended (see below). NOTE: the patients that have received murine monoclonal antibodies for radioimaging or immunotherapy develop high titered anti-mouse antibodies (HAMA). The presence of these antibodies may cause false results in the present assay. Sera from HAMA positive patients should be treated with depleting adsorbents before assaying.

Sex, age	Units, nmol/l		Units alternative, pg/ml	
	Lower limit	Upper limit	Lower limit	Upper limit
Children under 11 yrs	-	0.2	-	54.4
Males	0.029	0.3	7.9	81.6
Females				
Pregnancy week:				
1st trimester	0.1	10.5	27	2856
2nd trimester	3.0	21	816	5712
3rd trimester	6.0	80	1632	21760
Menstrual cycle:				
follicular phase	0.05	0.70	13.6	190.4
luteinic phase	0.1	1.10	27.2	299.2
ovulation	0.34	1.80	92.5	489.6
post menopausal	-	0.23	-	62.6

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

Analyte	Cross-reactivity, % wt/wt
Estradiol	100
Estrone	0.2
Estriol	0.6
Cortisol	0.06
Prednisolone	0.09
Corticosterone	<0.01
Progesterone	<0.01
17-Hydroxyprogesterone	<0.05
Pregnenolone	<0.05
Testosterone	<0.01

11.2. Analytical sensitivity.

Sensitivity of the assay was assessed as being 0.025 nmol/l.

11.3. Linearity.


















Linearity was checked by assaying dilution series of 5 samples with different estradiol concentrations. Linearity percentages obtained ranged within 90 to 110%.

11.4. Recovery.

Recovery was estimated by assaying 5 mixed samples with known estradiol concentrations. The recovery percentages ranged from 90 to 110%.

12. LITERATURE

- Hall, P. F., Testicular Steroid Synthesis: Organization and Regulation. In: The Physiology of Reproduction, Ed.: Knobil, E., and Neill, J. et al., pp 975-98. Raven Press, New York (1988).
- Tsang, B. K., Armstrong, D. T. and Whitfield, J. F., Steroid biosyntheses by isolated human ovarian follicular cells in vitro, J. Clin. Endocrinol. Metab. 51:1407 – 11 (1980).
- Gore-Langton, R. E. and Armstrong, D. T., Follicular steroidogenesis and its control. In: The physiology of Reproduction, Ed.: Knobil, E., and Neill, J. et al., pp. 331-85. Raven Press, New York (1988).
- Siiteri, P. K. Murai, J. T., Hammond, G. L., Nisker, J. A., Raymoure, W. J. and Kuhn, R. W., The serum transport of steroid hormones, Rec. Prog. Horm. Res. 38:457 - 510 (1982).
- Martin, B., Rotten, D., Jolivet, A. and Gautray, J-P-. Binding of steroids by proteins in follicular fluid of the human ovary, J.Clin. Endocrinol. Metab. 35: 443-47 (1981).
- Baird, D. T., Ovarian steroid secretion and metabolism in women. In: The Endocrine Function of the Human Ovary. Eds.: James, V.H:T., Serio, M. and Giusti, G. pp. 125-33, Academic Press, New York (1976).
- McNastty, K. P., Baird, D. T., Bolton, a., Chambers, P., Corker, C. S. and McLean, H., concentration of oestrogens and androgens in human ovarian venous plasma and follicular fluid throughout the menstrual cycle, J. Endocrinol. 71:77-85 (1976).

Символ / Symbol	Значение символа / Symbolize
	Производитель / Manufacturer
	Дата производства / Date of manufacture
	Номер по каталогу / Catalogue number
	Номер серии / Batch code
	Использовать до (год-месяц) / Use By
	Ограничение температуры / Temperature limitation
	Только для ин витро диагностики / In Vitro Diagnostic Medical Device
	Внимание! / Caution, consult accompanying documents
	Не использовать при нарушении целостности упаковки / Do not use if package damaged
	Планшет / EIA strips
	Калибровочные пробы / Calibrator set
	Контрольная сыворотка / Control sera
	Конъюгат / Conjugate
	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) / Substrate solution
	Концентрат отмывочного раствора / Washing solution concentrate
	Стоп-реагент / Stop solution
	ИФА-Буфер / EIA buffer

Уважаемый Клиент!

Если в процессе работы с нашими наборами Вам понадобились пластиковые ванночки для жидких реагентов, одноразовые наконечники для дозаторов или дополнительные объемы реагентов (концентрат отмывочного раствора, ИФА-Буфер, раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), стоп-реагент), входящих в состав Набора, просим Вас обратиться к поставщику продукции ООО «ХЕМА» в Вашем регионе.

Все указанные расходные материалы предоставляются бесплатно, в необходимом для проведения анализа количестве.

Перечень наборов реагентов для диагностики инфекционных заболеваний производства ООО «ХЕМА»

№ по каталогу	Наименование
K101	«Toxoplasma IgG-ИФА»
K101M	«Toxoplasma IgM-ИФА»
K102	«Rubella IgG-ИФА»
K102M	«Rubella IgM-ИФА»
K103	«Cytomegalovirus IgG-ИФА»
K103M	«Cytomegalovirus IgM-ИФА»
K104	«HSV 1,2 IgG-ИФА»
K104M	«HSV 1,2 IgM-ИФА»
K105	«Chlamydia IgG-ИФА»
K106	«Mycoplasma IgG-ИФА»
K111G	«Сифилис IgG-ИФА»
K111	«Сифилис суммарные антитела-ИФА»
K121	«Aspergillus IgG-ИФА»



Russian Diagnostic
Manufacturers Association



Российская ассоциация
производителей средств лабораторной
диагностики



Russian Association
of Medical Laboratory
Diagnosticians



Российская ассоциация
медицинской лабораторной
диагностики

Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

8 800 505 23 45

Все звонки на номер горячей линии бесплатны для звонящего с любого мобильного или стационарного телефона по всей территории России.

Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

105043, г. Москва, а/я 58

105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1-й под., 5 этаж

тел.: +7 (495) 510-57 07, 737-39-36;

факс: +7 (495) 737-00-40

e-mail: info@xema.ru

www.xema-medica.com

ФООО «Хема», тел.: +7 (812) 271-24-41

191144, Санкт-Петербург, Дегтярный пер., д. 8-10, литер А

e-mail: spb@xema.ru

СП ООО «Хемма-Тест», тел.: (17) 211-80-39

Офис: 220029, Минск, Проспект Машерова, д. 11,

литер А, корп. 8/К, офис 416

e-mail: hemma-test@yandex.ru

ТОВ «Хема», тел.: (044) 422-62-16;

03176, г. Киев, ул. Академика Ефремова, д. 23;

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com





Instruction for use



**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
НАБОРА РЕАГЕНТОВ
ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
ТЕСТОСТЕРОНА В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ**

«ТЕСТОСТЕРОН-ИФА»

**A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY
FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION
OF TESTOSTERONE IN HUMAN SERUM OR PLASMA**

Testosterone EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF** **K209**

ТУ № 9398-039-18619450-2007

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
№ ФСР 2008/02859 от 2 октября 2013 года



For 96 determinations/На 96 определений



Для *in vitro* диагностики

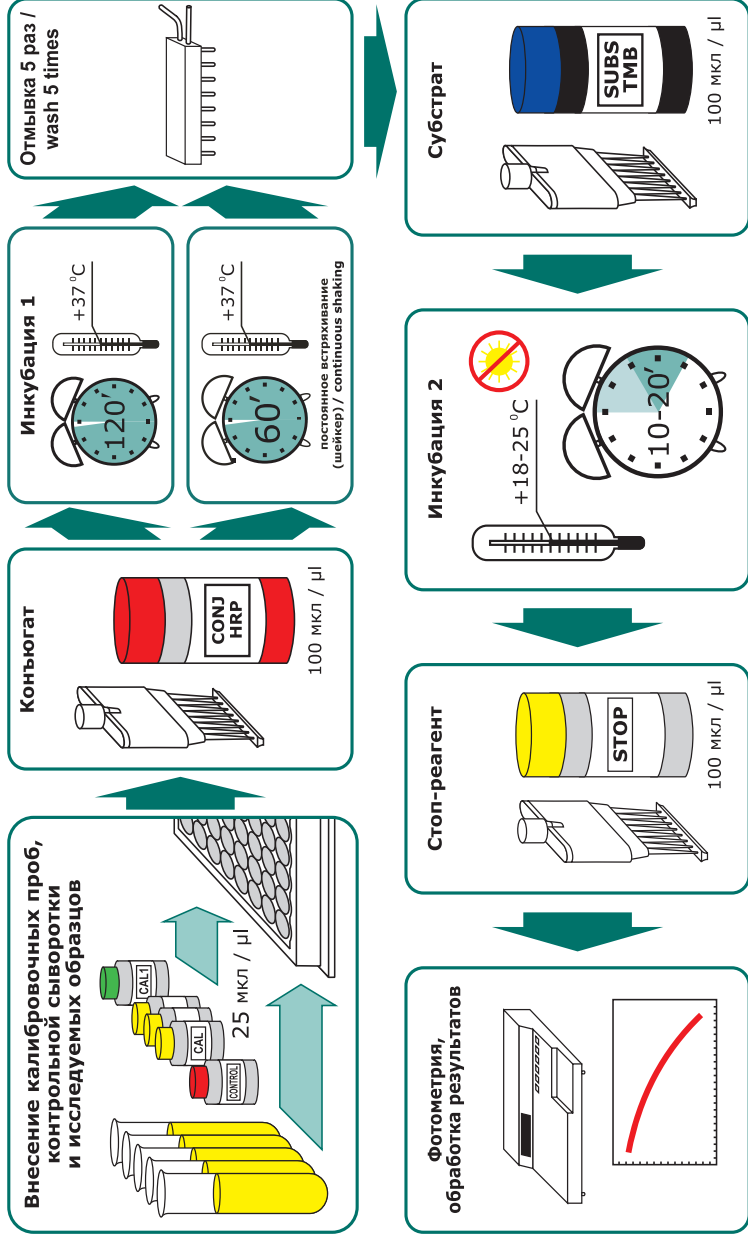


XEMA Co., Ltd.
The 9th Parkovaya str., 48
105264 Moscow, Russia
Tel./fax: +7(495) 510-57-07
e-mail: redkin@xema-medica.com
internet: www.xema-medica.com



Authorized Representative in EU:
Polmed.de
Steinacker 20, D-73773
Aichwald, Germany
e-mail: info@polmed.de

Схема проведения анализа / Test procedure



K208; K209

СОДЕРЖАНИЕ

1. НАЗНАЧЕНИЕ	2
2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА	3
3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	3
4. СОСТАВ НАБОРА	4
5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	5
6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ	5
7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА	5
8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА	6
9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА	7
10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ	8
11. ЛИТЕРАТУРА	8

CONTENT

1. INTENDED USE	9
2. SUMMARY AND EXPLANATION	9
3. PRINCIPLE OF THE TEST	10
4. WARNINGS AND PRECAUTIONS	10
5. KIT COMPONENTS	11
6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE	12
7. TEST PROCEDURE	12
8. QUALITY CONTROL	14
9. CALCULATION OF RESULTS	14
10. EXPECTED VALUES	14
11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS	15
12. LITERATURE	15

Инструкция составлена Руководителем службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА»,
к. б. н. Д. С. Кострикиным

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТЕСТОСТЕРОНА В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «ТЕСТОСТЕРОН-ИФА»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «ТЕСТОСТЕРОН-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации тестостерона в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Тестостерон – стероид с молекулярной массой 288.4 Да. Основным местом образования тестостерона в семенниках являются клетки Лейдига (интерстициальная ткань). У женщин тестостерон синтезируется в надпочечниках, а контроль за его продукцией осуществляет лютеинизирующий гормон. Тестостерон стимулирует развитие мужских половых органов и вторичных половых признаков. Секреция тестостерона имеет определенный циркадный ритм. Наивысший уровень гормона отмечается в 6 часов утра, наименьший – в 20 часов. У женщин продукция тестостерона зависит от фазы менструального цикла: максимальное образование гормона происходит в лютеиновой фазе и в период овуляции. При опухолях из клеток Лейдига избыток тестостерона вызывает у мальчиков симптом «младенца-Геракла». Повышенная концентрация тестостерона в плазме служит определяющим фактором маскулинизации у женщин. У девочек избыток тестостерона в организме всегда является следствием нарушения функции надпочечников, а у женщин может быть связан также с заболеваниями яичников. При этом может прекратиться овуляция и проявится типичное для мужчин строение тела. Недостаточность тестостерона у мужчин ведет к развитию женского типа телосложения. При этом у мальчиков наблюдается недоразвитие половых органов. В целях дифференциальной диагностики первичного и вторичного гипогонадизма концентрацию тестостерона необходимо определять в комплексе с исследованиями ЛГ и ФСГ. Повышенные уровни тестостерона отмечаются при: синдроме Штейна-Левенталя; у мужчин с кариотипом XYY; преждевременном созревании у мальчиков; опухолях коры надпочечников; приеме лекарственных препаратов (барбитуратов, кломифена, эстрогенов, гонадотропина, пероральных контрацептивов); идиопатическом гирсутизме. Снижение уровня тестостерона отмечается при уремии; миотонической дистрофии; печеночной недостаточности; синдроме Клайнфелтера; крипторхизме; первичном и вторичном гипогонадизме; синдроме Каллмана; приеме андрогенов, дексаметазона, дигоксина, этанола, галотана.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение тестостерона основано на использовании конкурентного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы мышинные моноклональные антитела к тестостерону. Тестостерон из образца конкурирует с конъюгированным тестостероном за связывание с антителами на поверхности лунки. В результате образуется связанный с пластиком «сэндвич», содержащий пероксидазу. Во время инкубации с раствором субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) происходит окрашивание растворов в лунках. Интенсивность окраски обратно пропорциональна концентрации тестостерона в исследуемом образце. Концентрацию тестостерона в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания тестостерона в калибровочных пробах.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Перекрестная реакция мышинных моноклональных антител к тестостерону с другими анализитами приведена в таблице:

Аналит	Перекрестная реакция, %
Тестостерон	100
5-альфа-дегидротестостерон	16
Андростендиол	1.0
Андростендион	0.4
Андростерон	<0.1
Дегидроэпиандростерон	<0.1
Прогестерон	<0.1
Эстрадиол, эстриол	<0.01
Кортизол, прегненолон	<0.01

3.2. Воспроизводимость.

Коэффициент вариации результатов определения содержания тестостерона в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «ТЕСТОСТЕРОН-ИФА» не превышает 8.0%.

3.3. Линейность.

Зависимость концентрации тестостерона в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей тестостерон, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 1.0–40 нмоль/л и составляет $\pm 10.0\%$.

3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации тестостерона предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 5 нмоль/л. Процент «открытия» составляет 90–110%.

3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «ТЕСТОСТЕРОН-ИФА» концентрация тестостерона в сыворотке (плазме) крови не превышает 0.15 нмоль/л.

4. СОСТАВ НАБОРА

Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1 P209Z	SORB MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2 C209Z	CAL 1-6	Калибровочные пробы на основе сыворотки крови человека, содержащие известные количества тестостерона – 0; 1; 3; 10; 30; 100 нмоль/л , готовы к использованию (по 0.8 мл каждая)	6	шт.	прозрачные жидкости синего цвета (калибровочная проба 0 – прозрачная, бесцветная жидкость)
3 Q209Z	CONTROL CONTROL 2	Контрольные сыворотки на основе сыворотки крови человека с известным содержанием тестостерона, готовы к использованию (0.8 мл)	2	шт.	прозрачная жидкость пурпурного цвета и прозрачная жидкость пурпурного цвета
4 T209Z	CONJ HRP	Конъюгат , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость зеленого цвета
5 R055Z	SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
6 S008Z	BUF WASH 26X	Концентрат отмывочного раствора (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26х-кратный (22 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
7 R050Z	STOP	Стоп-реагент , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
8 N003	-	Бумага для заклеивания планшета	2	шт.	-
9 K209I	-	Инструкция по применению Набора реагентов «ТЕСТОСТЕРОН-ИФА»	1	шт.	-
10 K209Q	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «ТЕСТОСТЕРОН-ИФА»	1	шт.	-

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

5.1. Потенциальный риск применения Набора – класс 26 (ГОСТ Р 51609-2000).

5.2. Все компоненты Набора, за исключением стоп-реагента (5.0% раствор серной кислоты), в используемых концентрациях являются нетоксичными.

Раствор серной кислоты обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. При попадании на кожу и слизистые пораженный участок следует промыть большим количеством проточной воды.

5.3. При работе с Набором следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, 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 выдерживать при комнатной температуре ($+18...+25\text{ }^{\circ}\text{C}$) не менее 30 мин.

7.2. Приготовление планшета.

Вскрыть пакет с планшетом и установить на рамку необходимое количество стрипов. Оставшиеся неиспользованными стрипы, чтобы предотвратить воздействие на них влаги, тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре $+2...+8\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности Набора.

7.3. Приготовление отмывочного раствора.

Содержимое флакона с концентратом отмывочного раствора (22 мл), перенести в мерный цилиндр вместимостью 1000 мл, добавить 550 мл дистиллированной воды и тщательно перемешать. В случае дробного использования Набора следует отобрать необходимое количество концентрата отмывочного раствора и развести дистиллированной водой в 26 раз (1 мл концентрата отмывочного раствора + 25 мл дистиллированной воды).

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

8.1. Набор реагентов «ТЕСТОСТЕРОН-ИФА» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности, указанного на упаковке Набора.

Допускается хранение (транспортировка) Набора при температуре до +25 °С не более 15 суток. Не допускается замораживание целого набора.

Допускается однократное замораживание (-20 °С) калибровочных проб и контрольной сыворотки в аликвотах.

8.2. Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 40 исследуемых образцов, 6 калибровочных проб и 2 пробы контрольной сыворотки (всего 96 определений).

8.3. В случае дробного использования Набора компоненты следует хранить следующим образом:

- оставшиеся неиспользованными стрипы необходимо тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- конъюгат, субстрат, стоп-реагент после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- калибровочные пробы и контрольную сыворотку после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °С не более 2 месяцев;
- оставшийся неиспользованным концентрат отмывочного раствора следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- приготовленный отмывочный раствор следует хранить при комнатной температуре (+18...+25 °С) не более 15 суток или при температуре +2...+8 °С не более 45 суток.

Примечание. После использования реагента немедленно закрывайте крышку флакона. Закрывайте каждый флакон своей крышкой.

8.4. Для проведения анализа не следует использовать гемолизированную, мутную сыворотку (плазму) крови, а также сыворотку (плазму) крови, содержащую азид натрия. Если анализ производится не в день взятия крови, сыворотку (плазму) следует хранить при температуре -20 °С. Повторное замораживание-оттаивание образцов сыворотки (плазмы) крови не допускается.

8.5. Исключается использование для анализа образцов сыворотки (плазмы) крови людей, получавших в целях диагностики или терапии препараты, в состав которых входят мышинные антитела.

8.6. При использовании Набора для проведения нескольких независимых серий анализов следует иметь в виду, что для каждого независимого определения необходимо построение нового калибровочного графика; кроме этого, рекомендуется определение концентрации тестостерона в контрольной сыворотке.

8.7. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение Инструкции по применению Набора.

8.8. Не используйте компоненты из других наборов или из аналогичных наборов других серий.

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов – исследуемые образцы в 2 повторах и 16 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки.
2	Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 25 мкл калибровочной пробы и контрольной сыворотки. В остальные лунки внесите в дубликатах по 25 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови. Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
3	Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.
4	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте его в течение 120 минут при температуре +37 °С. Альтернативная инкубация: 37 °С при постоянном встряхивании 600 об\мин в течение 60 минут.
5	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз. При каждой отмывке добавляйте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п. 7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок постукиванием планшета в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.
6	Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата 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 тестостерона в калибровочных пробах (нмоль/л), ось ординат (у) – оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма обсчета (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод. Приравняйте концентрацию калибровочной пробы 0 нмоль/л к несущественно малой величине, например, 0,001 нмоль/л
10	Определите по калибровочному графику содержание тестостерона в исследуемых образцах.

10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ

10.1. Основываясь на результатах исследований, проведенных ООО «ХЕМА», рекомендуем пользоваться нормами, приведенными ниже. Вместе с тем, в соответствии с правилами GLP (Хорошей лабораторной практики), каждая лаборатория должна сама определить параметры нормы, характерные для обследуемой популяции.

Примечание. Значения концентраций тестостерона в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0.15 нмоль/л), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (100 нмоль/л) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация тестостерона ниже 0.15 нмоль/л или выше 100 нмоль/л.

10.2. В Наборе «ТЕСТОСТЕРОН-ИФА» значения концентраций калибровочных проб выражены в нмоль/л. Для пересчета концентраций в нг/мл, полученное значение концентрации в нмоль/л следует умножить на 0.29.

1 нмоль/л = 0.29 нг/мл

Исследуемая группа	Единицы, нмоль/л		Единицы доп., нг/мл	
	Нижний предел	Верхний предел	Нижний предел	Верхний предел
Мужчины				
20-39 лет	9.0	38	2.6	11
40-55 лет	6.9	21	2.0	6.1
старше 55 лет	5.9	18.1	1.7	5.2
Женщины	-	4.6	-	1.3

11. ЛИТЕРАТУРА

1. Tietz, N.W. Textbook of Clinical Chemistry. Saunders, 1986.
2. Joshi, U. M., et al. Steroids 34 (1) 35 (1979)
3. Turkes, A., et al. J Endocrinol. 81 (2) P165 (1979)
4. Ismail, A. A., Niswender, G. D. Midgley, A. R. J. Clin. Endocr. Metab. 34, 177 – 184 (1972)
5. Rajkowski, K. M., Cittanova N., Desfosses, B. and Jayle, M.F. Steroids 29 no 5 1977
6. Widsdom G. B. Clin. Chem. 22/8, 1243 – 1255 (1976)

По вопросам, касающимся качества Набора «ТЕСТОСТЕРОН-ИФА», следует обращаться в ООО «ХЕМА» по адресу:

105043, г. Москва, а/я 58

105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1-й под., 5 этаж,

тел/факс (495) 737-39-36, 737-00-40, 510-57-07 (многоканальный)

электронная почта: info@xema.ru; rqc@xema.ru

интернет: www.xema.ru; www.xema-medica.com

Руководитель службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА»,
к. б. н. Д. С. Кострикин

Instruction for use

A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF TESTOSTERONE IN HUMAN SERUM OR PLASMA

1. INTENDED USE

A solid-phase enzyme immunoassay for the quantitative determination of testosterone in blood serum or plasma.

This kit is designed for measurement of testosterone in blood serum or plasma. For possibility of use with other sample types, please, refer to Application Notes (on request). The kit contains reagents sufficient for 96 determinations and allows to analyze 40 unknown samples in duplicates.

2. SUMMARY AND EXPLANATION

Testosterone is a steroid with a MW of 288.4 Dalton. The main sites of testosterone secretion are Leydig cells in interstitial tissue of testicles in men. In women testosterone is secreted in the adrenals and is controlled by luteinizing hormone. Testosterone stimulates development of male genital organs and formation of secondary sexual features.

In males, Testosterone secretion undergoes circadian rhythms with maximal concentrations seen in the morning (6 am) and minimal – in the evening (8 pm). In females, Testosterone secretion is regulated by menstrual cycle with maximal levels found in luteinic phase and during ovulation.

Leydig cell tumours producing high levels of serum testosterone in young boys lead to development of "little Hercules" syndrome. Elevated testosterone level in women causes the clinical signs of masculinization.

In men, decreased Testosterone levels may lead to female habitus or underdevelopment of male genital organs in boys. To differentiate between primary and secondary hypogonadism, Testosterone should be assayed in conjunction with LH and FSH.

3. PRINCIPLE OF THE TEST

This test is based on competition enzyme immunoassay principle. Tested specimen is placed into the microwells coated by specific murine monoclonal to testosterone-antibodies simultaneously with conjugated Testosterone-peroxidase. Testosterone from the specimen competes with the conjugated Testosterone for coating antibodies. After washing procedure, the remaining enzymatic activity bound to the microwell surface is detected and quantified by addition of chromogen-substrate mixture, stop solution and photometry at 450 nm. Optical density in the microwell is inversely related to the quantity of the measured analyte in the specimen.

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

4.1. For professional use only.

4.2. This kit is intended for in vitro diagnostic use only.

4.3. INFECTION HAZARD: There is no available test methods that can absolutely assure that Hepatitis B and C viruses, HIV-1/2, or other infectious agents are not present in the reagents of this kit. All human products, including patient samples, should be considered potentially infectious. Handling and disposal should be in accordance with the procedures defined by an appropriate national biohazard safety guidelines or regulations.

4.4. Avoid contact with stop solution containing 5.0% 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. KIT COMPONENTS

5.1. Contents of the Kit

Symbol	Description	Qty	Units	Colour code	Stability of opened/ diluted components
1 SORB MTP	Testosterone EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp.date
2 CAL 1-6	Calibrator set, 0.8 ml each. The set contains 6 calibrators: 0; 1; 3; 10; 30; 100 nml/ml	6	pcs	blue (C1 – colourless)	2 months
3 CONTROL CONTROL 2	Control sera (0.8 ml)	2	pcs	purple and purple	2 months
4 CONJ HRP	Conjugate, 14 ml	1	pcs	green	until exp.date
5 SUBS TMB	Substrate solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
6 BUF WASH 26X	Washing solution concentrate 26X, 22 ml	1	pcs	colourless	Concentrate – until exp.date Diluted washing solution – 45 days at 2-8 °C or 15 days at RT
7 STOP	Stop solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
8 N003	Plate sealing tape	2	pcs		N/A
9 K209I	Instruction Testosterone EIA	1	pcs		N/A
10 K209Q	QC data sheet Testosterone EIA	1	pcs		N/A

5.2. Equipment and material required but not provided

- Distilled or deionized water;
- Automatic or semiautomatic multichannel micropipettes, 100–250 µl, is useful but not essential;
- Calibrated micropipettes with variable volume, range volume 25–250 µl;
- Dry thermostat for 37 °C ±0.1 °C;
- Calibrated microplate photometer with 450 nm wavelength and OD measuring range 0–3.0.

5.3. Storage and stability of the Kit

Store the whole kit at +2...+8 °C upon receipt until the expiration date.

After opening the pouch keep unused microtiter wells **TIGHTLY SEALED BY ADHESIVE TAPE (INCLUDED)** to minimize exposure to moisture.

6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

This kit is intended for use with serum or plasma (ACD- or heparinized). Grossly hemolytic, lipemic, or turbid samples should be avoided.

Specimens may be stored for up to 48 hours at +2...+8 °C before testing. For a longer storage, the specimens should be frozen at -20 °C or lower. Repeated freezing/thawing should be avoided.

7. TEST PROCEDURE**7.1. Reagent Preparation**

- All reagents (including unsealed microstrips) should be allowed to reach room temperature (+18...+25 °C) before use.
- All reagents should be mixed by gentle inversion or vortexing prior to use. Avoid foam formation.
- It is recommended to spin down shortly the tubes with calibrators on low speed centrifuge.
- Prepare washing solution from the concentrate BUF WASH 26X by 26 dilutions in distilled water.

7.2. Procedural Note:

It is recommended that pipetting of all calibrators and samples should be completed within 3 minutes.

See the example of calibration graphic in Quality Control data sheet.

7.3. Alternative units:

1 nmol/l = 0.29 ng/ml

7.4. Assay procedure

1	Put the desired number of microstrips into the frame; allocate 16 wells for the calibrators CAL 1–6 and control samples CONTROL, CONTROL 2 and two wells for each unknown sample. DO NOT REMOVE ADHESIVE SEALING TAPE FROM UNUSED STRIPS.
2	Pipet 25 µl of calibrators CAL 1–6, control samples CONTROL, CONTROL 2 and unknown samples into the wells
3	Dispense 100 µl of CONJ HRP into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape (included into the kit).
4	Incubate 120 minutes at 37 °C. OR: incubate at 37 °C with continuous shaking 600 rpm, 60 min
5	Prepare washing solution by 26X dilution of washing solution concentrate (BUF WASH 26X) by distilled water. Wash the strips 5 times.
6	Dispense 100 µl of SUBS TMB into the wells.
7	Incubate 10–20 minutes at +18...+25 °C.
8	Dispense 100 µl of STOP into the wells.
9	Measure OD (optical density) at 450 nm.
10	Set photometer blank on air.
11	Apply lin-log method for data reduction.

7.5. Handling notes

Calibrators and control sample(s) – only one freezing/thawing cycle is allowed

8. QUALITY CONTROL

It is recommended to use control samples according to state and federal regulations. The use of control samples is advised to assure the day to day validity of results.

The test must be performed exactly as per the manufacturer's instructions for use. Moreover the user must strictly adhere to the rules of GLP (Good Laboratory Practice) or other applicable federal, state, and local standards and/or laws. This is especially relevant for the use of control reagents. It is important to always include, within the test procedure, a sufficient number of controls for validating the accuracy and precision of the test.

The test results are valid only if all controls are within the specified ranges and if all other test parameters are also within the given assay specifications.

9. CALCULATION OF RESULTS

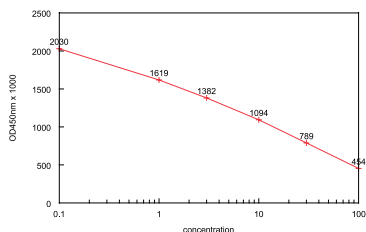
9.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

9.2. Plot a calibration curve on graph paper: OD versus testosterone concentration.

9.3. Determine the corresponding concentration of testosterone in unknown samples from the calibration curve. Manual or computerized data reduction is applicable on this stage. Point-by-point or linear data reduction is recommended due to non-linear shape of curve.

9.4. Below is presented a typical example of a standard curve with the XEMA Co. Not for calculations!

Calibrators	Value	Absorbance Units (450 nm) x 1000
CAL 1	0 nmol/l	2030
CAL 2	1 nmol/l	1619
CAL 3	3 nmol/l	1282
CAL 4	10 nmol/l	1094
CAL 5	30 nmol/l	889
CAL 6	100 nmol/l	554



10. EXPECTED VALUES

Therapeutical consequences should not be based on results of IVD methods alone – all available clinical and laboratory findings should be used by a physician to elaborate therapeutically measures. Each laboratory should establish its own normal range for Testosterone. Based on data obtained by XEMA, the following normal range is recommended (see below). NOTE: the patients that have received murine monoclonal antibodies for radioimaging or immunotherapy develop high titered anti-mouse antibodies (HAMA). The presence of these antibodies may cause false results in the present assay. Sera from HAMA positive patients should be treated with depleting adsorbents before assaying.

Sex, age	Units, nmol/l		Units alternative, ng/ml	
	Lower limit	Upper limit	Lower limit	Upper limit
Males				
20-39 yrs	9.0	38	2.6	11
40-55 yrs	6.9	21	2.0	6.1
>55 yrs	5.9	18.1	1.7	5.2
Females	-	4.6	-	1.3

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

Analyte	Cross-reactivity, % wt/wt
Testosterone	100
5-alpha-dehydrotestosterone	16
Androstendiol	1.0
Androstendione	0.4
Androsterone	<0.1
Dehydroepiandrosterone	<0.1
Progesterone	<0.1
Estradiol, Estriol	<0.01
Cortisol, Pregnenolone	<0.01

11.2. Analytical sensitivity

Sensitivity of the assay was assessed as being 0.15 nmol/l.

11.3. Linearity


















Linearity was checked by assaying dilution series of 5 samples with different testosterone concentrations. Linearity percentages obtained ranged within 90 to 110%.

11.4. Recovery

Recovery was estimated by assaying 5 mixed samples with known testosterone concentrations. The recovery percentages ranged from 90 to 110%.

12. LITERATURE

1. Tietz, N. W. Textbook of Clinical Chemistry. Saunders, 1986.
2. Joshi, U. M., et al. Steroids 34 (1) 35 (1979)
3. Turkes, A., et al. J Endocrinol. 81 (2) P165 (1979)
4. Ismail, A. A., Niswender, G. D. Midgley, A. R. J. Clin. Endocr. Metab. 34, 177 – 184 (1972)
5. Rajkowski, K. M., Cittanova N., Desfosses, B. and Jayle, M. F. Steroids 29 no 5 1977
6. Widsdom G. B. Clin. Chem. 22/8, 1243 – 1255 (1976)

Символ / Symbol	Значение символа / Symbolize
	Производитель / Manufacturer
	Дата производства / Date of manufacture
	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





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 *ин vitro* диагностики



XEMA Co., Ltd.

The 9-ya Parkovaya str., 48

105043 Moscow, Russia

Tel./fax: +7(495) 510-57-07

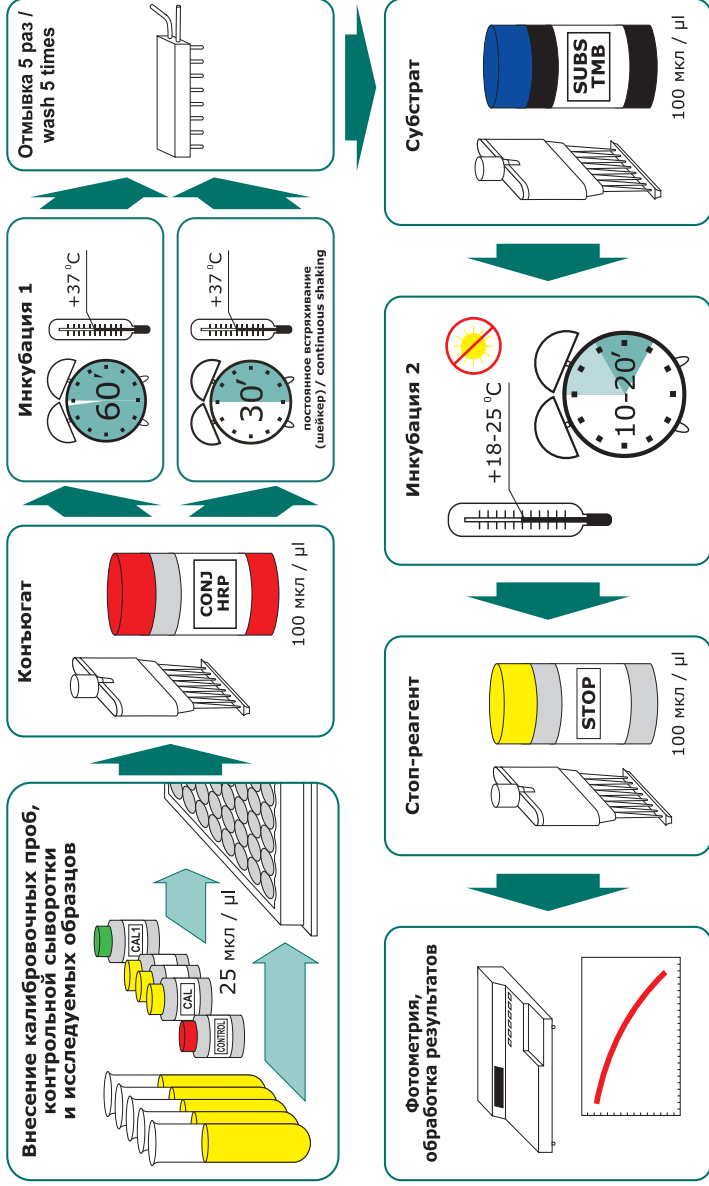
e-mail: redkin@xema-medica.com

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, леводопа, 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 термостатируемый 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

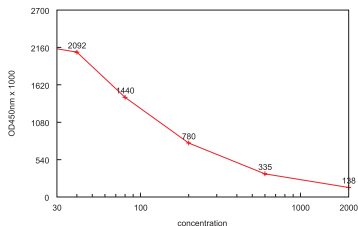
9.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

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 изготовителей
производителей средств лабораторной
диагностики



Russian Association
of Medical Laboratory
Diagnosticians



Российская Ассоциация
Медицинской Лабораторной
Диагностики

Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

8 800 505 23 45

Все звонки на номер горячей линии бесплатны для звонящего с любого мобильного или стационарного телефона по всей территории России.

Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

105043, г. Москва, а/я 58, 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 ТРИЙОДТИРОНИНА
В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ**

«ТЗ-ИФА»



**A solid-phase enzyme immunoassay for the quantitative determination
of triiodothyronine in human blood serum or plasma**

T3 EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF** K211

ТУ № 9398-211-18619450-2010

№ ФСТ 2010/07150 от 17 марта 2010 года



For 96 determinations/На 96 определений



Для ин витро диагностики

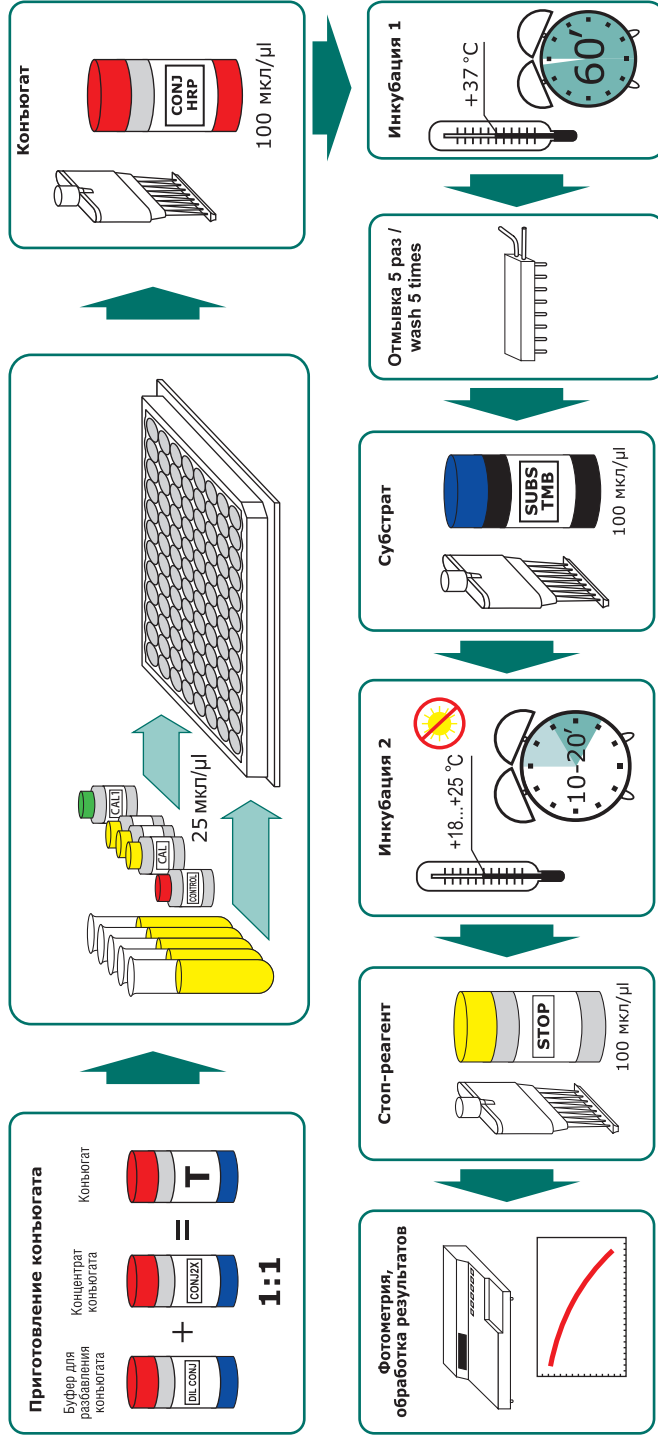


XEMA Co., Ltd.
The 9th Parkovaya, 48
105264 Moscow, Russia
Telephone/fax +7(495) 737-39-36; 737-00-40
e-mail: redkin@xema.ru
Internet: www.xema-medica.com



Authorized Representative in EU:
Polmed.de
Steinacker 20, D-73773
Aichwald, Germany
e-mail: info@polmed.de

Схема проведения анализа / Test procedure



DIL CONJ 25 100 60 100R

«УТВЕРЖДАЮ»
 Руководитель Департамента государственного
 контроля лекарственных средств и медицинской техники Минздрава РФ
 В.Е. Акимочкин
 09 июля 2002 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТРИЙОДИРОНИНА В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «ТЗ-ИФА»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «ТЗ-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации трийодтиронина в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Трийодтиронин (ТЗ)- гормон с молекулярной массой 651 дальтон, 58% которого составляет йод. Тироксин (Т4) и 3,5,3'-трийодтиронин (Т3) - гормоны, вырабатываемые щитовидной железой и циркулирующие в крови как в свободной, так и в связанной форме – в основном, с тироксинсвязывающим глобулином (ТСГ). Гормональной активностью обладают только свободные ТЗ и Т4, однако их доля очень мала: 0.03% от общего содержания для Т4 и 0.3% - для ТЗ. Концентрация ТЗ ниже, чем Т4, однако его метаболическая активность примерно в 3 раза выше. Около 80% сывороточного ТЗ образуется за счет дейодирования Т4 в периферических тканях, и только небольшое его количество образуется прямым синтезом в щитовидной железе. Поэтому при гипотиреозе уровень ТЗ может длительное время находиться на нижнем пределе нормы, так как его потеря может компенсироваться повышенным превращением Т4 в ТЗ. Показаниями к определению общего ТЗ служит начальная стадия гиперфункции щитовидной железы; дифференциальная диагностика гипертиреоза; рецидив гипертиреоза; острый гипертиреоз после лечения L-тироксина. Количественное определение общего ТЗ особенно информативно при ТЗ-тиреотоксикозе, т.к. у 5-10% больных уровень Т4 существенно не изменяется, а концентрация ТЗ резко увеличивается. При гипотиреозе диагностическая ценность определения ТЗ невелика, т.к. часто при клинических признаках гипотиреоза показатели ТЗ остаются в норме. Повышение уровня ТЗ наблюдается при ранней недостаточности функции щитовидной железы, приеме эстрогенов, пероральных контрацептивов, героина, метадона, эндемическом зобе. Во время беременности уровень ТЗ возрастает в несколько раз, а затем нормализуется после родов в течение нескольких дней. Снижение уровня ТЗ отмечается при гипофункции щитовидной железы, остром и подостром тиреоидите, после приема андрогенов, дексаметазона, салицилатов, производных кумарина.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение трийодтиронина основано на использовании конкурентного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы кроличьи поликлональные антитела к ТЗ. Трийодтиронин из образца конкурирует с конъюгированным ТЗ за связывание с антителами на поверхности лунки. В результате образуется связанный с пластиком «сэндвич», содержащий пероксидазу. Во время инкубации с раствором субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) происходит окрашивание растворов в лунках. Интенсивность окраски обратно пропорциональна концентрации трийодтиронина в исследуемом образце. Концентрацию трийодтиронина в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания трийодтиронина в калибровочных пробах.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Перекрестная реакция кроличьих поликлональных антител к ТЗ с другими аналитами приведена в таблице:

Аналит	Перекрестная реакция, %
L-ТЗ	100
D-ТЗ	100
L-тироксин	0.01
D-тироксин	0.04

3.2. Воспроизводимость.

Коэффициент вариации результатов определения содержания ТЗ в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «ТЗ-ИФА» не превышает 8.0%.

3.3. Линейность.

Зависимость концентрации ТЗ в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей ТЗ, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 0.75-15 нмоль/л и составляет $\pm 10.0\%$.

3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации ТЗ предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 1.5 нмоль/л. Процент «открытия» составляет 90-110%.

3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «ТЗ-ИФА» концентрация ТЗ в сыворотке (плазме) крови не превышает 0.2 нмоль/л.

4. СОСТАВ НАБОРА

	Код компонента	Символ	Наименование	Количество	Ед.	Описание
1	P211Z	SORB MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт	-
2	C211Z	CAL 1 - 5	Калибровочные пробы на основе трис-буфера (рН 7.2-7.4), содержащие известные количества трийодтиронина - 0; 0.75; 1.5; 7.5; 15 нмоль/л, готовы к использованию (по 0.8 мл каждая)	5	шт	прозрачные жидкости синего цвета (калибровочная проба 0 - прозрачная бесцветная жидкость)
3	Q211Z	CONTROL	Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием трийодтиронина, готова к использованию (0.8 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
4	T211XZ	CONJ 2X	Концентрат конъюгата (7 мл)	1	шт	прозрачная жидкость синего цвета
5	ST211Z	DIL CONJ	Буфер для разведения концентрата конъюгата, готов к использованию (7 мл)	1	шт	прозрачная жидкость синего цвета
6	R055Z	SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
7	S008Z	BUF WASH 26X	Концентрат отмывочного раствора (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26x-кратный (22 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
8	R050Z	STOP	Стоп-реагент, готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
9	N003	-	Бумага для заклеивания планшета	2	шт	-
10	K211I	-	Инструкция по применению Набора реагентов «ТЗ-ИФА»	1	шт	-
11	K211Q	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «ТЗ-ИФА»	1	шт	-

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

5.1. Потенциальный риск применения Набора – класс 1 (ГОСТ Р 51609-2000).

5.2. Все компоненты Набора, за исключением стоп-реагента (5.0% раствор серной кислоты), в используемых концентрациях являются нетоксичными.

Раствор серной кислоты обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. При попадании на кожу и слизистые пораженный участок следует промыть большим количеством проточной воды.

5.3. При работе с Набором следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

5.4. При работе с Набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированный материал, способный длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

5.5. Все использованные одноразовые материалы подвергать обработке дезинфицирующими средствами с последующей утилизацией (см. МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения»).

5.6. Медицинские отходы класса Б. Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию Наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПин 2.1.7.2790-10 «Санитарноэпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность содержимого лунок планшета при длине волны 450 нм;
- термостат, поддерживающий температуру $+37\pm 2$ °С;
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы в диапазоне 25-250 мкл;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- бумага фильтровальная.

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

7.1. Перед проведением анализа компоненты Набора и исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови следует выдержать при комнатной температуре ($+18...+25$ °С) не менее 30 мин.

7.2. Приготовление планшета.

Вскрыть пакет с планшетом и установить на рамку необходимое количество стрипов. Оставшиеся неиспользованными стрипы, чтобы предотвратить воздействие на них влаги, тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре $+2...+8$ °С в течение всего срока годности Набора.

7.3. Приготовление отмывочного раствора.

Содержимое флакона с концентратом отмывочного раствора (22 мл), перенести в мерный цилиндр вместимостью 1000 мл, добавить 550 мл дистиллированной воды и тщательно перемешать.

В случае дробного использования Набора следует отобрать необходимое количество концентрата отмывочного раствора и развести дистиллированной водой в 26 раз (1 мл концентрата отмывочного раствора + 25 мл дистиллированной воды).

7.4. Приготовление конъюгата.

Приготовьте конъюгат: для этого разбавьте концентрат конъюгата в 2 раза буфером для разведения концентрата конъюгата. **ВНИМАНИЕ!** Разбавленный раствор конъюгата не хранится! Разбавляйте только ту часть концентрата конъюгата, которая необходима для данной постановки!

Пример: на 1 стрип (8 лунок) потребуется 900 мкл конъюгата: 450 мкл концентрата конъюгата + 450 мкл буфера для разведения концентрата конъюгата.

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

8.1. Набор реагентов «ТЗ-ИФА» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре $+2...+8$ °С в течение всего срока годности, указанного на упаковке Набора.

Допускается хранение (транспортировка) Набора при температуре до $+25$ °С не более 15 суток.

8.2. Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 42 исследуемых образцов, 5 калибровочных проб и 1 пробы контрольной сыворотки (всего 96 определений).

8.3. В случае дробного использования Набора компоненты следует хранить следующим образом:

- оставшиеся неиспользованными стрипы необходимо тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре $+2...+8$ °С в течение всего срока годности Набора.
- все остальные компоненты Набора после вскрытия флаконов следует хранить при температуре $+2...+8$ °С в течение всего срока годности Набора.
- оставшийся неиспользованным концентрат отмывочного раствора следует хранить при температуре $+2...+8$ °С в течение всего срока годности Набора.
- приготовленный отмывочный раствор следует хранить при комнатной температуре ($+18...+25$ °С) не более 15 суток или при температуре $+2...+8$ °С не более 45 суток.

Примечание. После использования реагента немедленно закрывайте крышку флакона. Закрывайте каждый флакон своей крышкой.

8.4. При использовании Набора для проведения нескольких независимых серий анализов следует иметь в виду, что для каждого независимого определения необходимо построение нового калибровочного графика; кроме этого, рекомендуется определение концентрации ТЗ в контрольной сыворотке.

8.5. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение Инструкции по применению Набора.

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов - исследуемые образцы в 2 повторах и 12 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки.
2	Приготовьте конъюгат: для этого разбавьте концентрат конъюгата в 2 раза буфером для разведения концентрата конъюгата. ВНИМАНИЕ! Разбавленный раствор конъюгата не хранится! Разбавляйте только ту часть концентрата конъюгата, которая необходима для данной постановки! Пример: на 1 стрип (8 лунок) потребуется 900 мкл конъюгата: 450 мкл концентрата конъюгата + 450 мкл буфера для разведения концентрата конъюгата
3	Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 25 мкл калибровочной пробы и контрольной сыворотки. В остальные лунки внесите в дубликатах по 25 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови. Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
4	Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.
5	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте его в течение 60 минут при температуре +37 °С.
6	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз. При каждой отмывке добавьте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п.7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок постукиванием планшета в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.
7	Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина. Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2-3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °С) в течение 10-20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.
8	Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента, при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
9	Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм. Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра выставляйте по воздуху.
10	Постройте в полулогарифмических координатах калибровочный график: ось абсцисс (x) - десятичный логарифм концентрации ТЗ в калибровочных пробах (нмоль/л), ось ординат (y) - оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма обсчета (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод. Приравняйте концентрацию калибровочной пробы 0 нмоль/л к несущественно малой величине, например, 0,001 нмоль/л.
11	Определите по калибровочному графику содержание ТЗ в исследуемых образцах.

10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ

10.1. Основываясь на результатах исследований, проведенных ООО «ХЕМА», рекомендуем пользоваться нормами, приведенными ниже. Вместе с тем, в соответствии с правилами *GLP* (Хорошей лабораторной практики), каждая лаборатория должна сама определить параметры нормы, характерные для обследуемой популяции.

Примечание.

Значения концентраций ТЗ в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0.2 нмоль/л), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (15 нмоль/л) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация ТЗ ниже 0.2 нмоль/л или выше 15 нмоль/л.

В Наборе «ТЗ-ИФА» значения концентраций калибровочных проб выражены в нмоль/л. Для пересчета концентраций в нг/мл, полученное значение концентрации в нмоль/л следует умножить на 0.65. 1 нмоль/л = 0.65 нг/мл.

Исследуемая группа	Единицы нмоль/л		Единицы доп. нг/мл	
	Нижний предел	Верхний предел	Нижний предел	Верхний предел
здоровые доноры	1.2	3.2	0.8	2.1

1. Physiology of thyroid hormones. IN: Division of Drugs and Toxicology, American Medical Association: Drug Evaluations Annual 1995. Amer Med Assn, Chicago, 1995, ch 47, pp 1039-1040.

2. Robins J & Rall JE. The Iodine -Containing Hormones. IN Hormones in Blood (2nd ed) 1: 383-490, Gray CH & Bacharach AL (eds) London Academic Press, 1987

По вопросам, касающимся качества Набора «ТЗ-ИФА»,
следует обращаться в ООО «ХЕМА» по адресу:
105043, г. Москва, а/я 58
105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1-й под., 5 этаж,
тел/факс (495) 737-39-36, 737-00-40, 510-57-07 (многоканальный)

электронная почта: info@xema.ru

интернет: www.xema-medica.com

Руководитель службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА»,
к. б. н. Д. С. Кострикин

Instruction for use.

A solid-phase enzyme immunoassay for the quantitative determination of triiodothyronine in human blood serum or plasma

1. INTENDED USE

A solid-phase enzyme immunoassay for the quantitative determination of triiodothyronine in blood serum or plasma.

This kit is designed for measurement of triiodothyronine in blood serum or plasma. For possibility of use with other sample types, please, refer to Application Notes (on request). The kit contains reagents sufficient for 96 determinations and allows to analyze 42 unknown samples in duplicates.

2. SUMMARY AND EXPLANATION

Thyroid hormones thyroxin (T4) and 3,5,3'-triiodothyronine (T3) exert regulatory influences on growth, differentiation, cellular metabolism and development of skeletal and organ systems. T4 and T3 in blood are found both in free and bound form – mostly, they are bound to thyroxin binding globulin (TBG). Only free forms of T3 and T4 exert hormonal activity also their percentage is very low – 0.3% for T3 and 0.03% for T4.

The concentration of T3 is much less than that of T4 but its metabolic activity is about 3 times greater. About 80% of T3 is produced in peripheral tissues by deiodination of T4, and only 20% is secreted by thyroid gland. That is why in hypothyroid patients T3 level may for a long time remain on the lower limit of the normal range, because its loss may be compensated by enhanced conversion of T4 into T3.

Determination of T3 level is most useful in T3-hyperthyroidism because 5-10% of such patients do not show significant changes in T4 level while concentration of T3 is highly elevated.

Elevated T3 levels are seen in early thyroid hypofunction, after intake of estrogens, oral contraceptives, heroin, methadone, during pregnancy.

Decreased concentrations of T3 are found in initial stage of hyperthyroidism, acute and subacute thyroiditis, after intake of androgens, dexamethasone, salicylates. Decreased concentrations of T3 are found in initial stage of hyperthyroidism, acute and subacute thyroiditis, after intake of androgens, dexamethasone, salicylates.

3. PRINCIPLE OF THE TEST

This test is based on competition enzyme immunoassay principle. Tested specimen is placed into the microwells coated by specific rabbit polyclonal to T3-antibodies simultaneously with conjugated T3-peroxidase. T3 from the specimen competes with the conjugated T3 for coating antibodies. After washing procedure, the remaining enzymatic activity bound to the microwell surface is detected and quantified by addition of chromogen-substrate mixture, stop solution and photometry at 450 nm. Optical density in the microwell is inversely related to the quantity of the measured analyte in the specimen.

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

4.1. For professional use only.

4.2. This kit is intended for in vitro diagnostic use only.

4.3. INFECTION HAZARD: There is no available test methods that can absolutely assure that Hepatitis B and C viruses, HIV-1/2, or other infectious agents are not present in the reagents of this kit. All human products, including patient samples, should be considered potentially infectious. Handling and disposal should be in accordance with the procedures defined by an appropriate national biohazard safety guidelines or regulations.

4.4. Avoid contact with stop solution containing 5.0 % 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. KIT COMPONENTS

5.1. Contents of the Kit

	Symbol	Description		Qty	Units	Colour code	Stability of opened/diluted components
1	SORB MTP	T3 EIA strips, 8x12 wells	polystyrene microwells coated with rabbit polyclonal to T3	1	pcs		until exp.date
2	CAL 1 - 5	Calibrator set, 0.8 ml each. The set contains 5 calibrators: 0; 0.75; 1.5; 7.5; 15 nmol/l	human triiodothyronine diluted in tris buffered preservative – 0.01% Bronidox L, 0.01% 2-Methyl-4-isothiazolin-3-one-hydrochloride; also contains blue dye	5	pcs	blue (C1 - colourless)	until exp.date
3	CONTROL	Control serum (0.8 ml)	dilution of preselected human serum, with high content of triiodothyronine with preservative – 0.01% Bronidox L, 0.01% 2-Methyl-4-isothiazolin-3-one-hydrochloride, colourless	1	pcs	colourless	until exp.date
4	CONJ 2X	Conjugate concentrate, 7 ml	Aqueous solution of T3 coupled with horseradish peroxidase diluted on phosphate buffered saline with casein from bovine milk and detergent (Tween-20), contains 0.1% phenol as preservative and blue dye	1	pcs	blue	Concentrate - until exp.date Diluted - 1 day at 2-8 °C
5	DIL CONJ	Conjugate dilution buffer, 7 ml	Aqueous Tris-buffered BSA solution, preservative – 0.01% Bronidox L, 0.01% 2-Methyl-4-isothiazolin-3-one-hydrochloride; contains blue dye	1	pcs	blue	until exp.date
6	SUBS TMB	Substrate solution, 14 ml	ready-to-use single-component tetramethylbenzidine (TMB) solution.	1	pcs	colourless	until exp.date
7	BUF WASH 26X	Washing solution concentrate 26x, 22 ml	aqueous solution of sodium chloride and detergent (Tween 20), contains proClin300 as a preservative	1	pcs	colourless	Concentrate - until exp.date Diluted washing solution - 45 days at 2-8 °C or 15 days at RT
8	STOP	Stop solution, 14 ml	5.0% vol/vol solution of sulphuric acid	1	pcs	colourless	until exp.date
9	N003	Plate sealing tape	-	2	pcs	-	N/A
10	K211I	Instruction T3 EIA	-	1	pcs	-	N/A
11	K211Q	QC data sheet T3 EIA	-	1	pcs	-	N/A

5.2. Equipment and material required but not provided

- Distilled or deionized water;
- Automatic or semiautomatic multichannel micropipettes, 100-250 µl, is useful but not essential;
- Calibrated micropipettes with variable volume, range volume 25-250 µl;
- Dry thermostat for 37 ±2 °C;
- Calibrated microplate photometer with 450 nm wavelength and OD measuring range 0-3.0.

5.3. Storage and stability of the Kit

Store the whole kit at 2 to 8 °C upon receipt until the expiration date.

After opening the pouch keep unused microtiter wells TIGHTLY SEALED BY ADHESIVE TAPE (INCLUDED) to minimize exposure to moisture.

6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE.

Specimens may be stored for up to 48 hours at 2-8 °C before testing. For a longer storage, the specimens should be frozen at -20 °C or lower. Repeated freezing/thawing should be avoided.

7. TEST PROCEDURE

7.1. Reagent Preparation

- All reagents (including unsealed microstrips) should be allowed to reach room temperature (+18 to +25 °C) before use.

- All reagents should be mixed by gentle inversion or vortexing prior to use. Avoid foam formation.
- It is recommended to spin down shortly the tubes with calibrators on low speed centrifuge.
- Prepare washing solution from the concentrate BUF WASH 26X by 26 dilutions in distilled water.

7.2. Procedural Note:

It is recommended that pipetting of all calibrators and samples should be completed within 3 minutes.

7.3. Assay flowchart

See the example of calibration graphic in Quality Control data sheet.

7.4. Alternative units:

1 nmol/l = 0.65 ng/ml

7.5. Assay procedure

1	Put the desired number of microstrips into the frame; allocate 12 wells for the calibrators CAL 1 - 5 and control samples CONTROL and two wells for each unknown sample. DO NOT REMOVE ADHESIVE SEALING TAPE FROM UNUSED STRIPS.
2	Prepare working conjugate solution by dilution of conjugate concentrate 2 fold by conjugate dilution buffer. ATTENTION: working conjugate solution is unstable and should not be stored! Prepare the volume required for actual assay run.
3	Pipet 25 µl of calibrators CAL 1 - 5, control samples CONTROL and unknown samples into the wells.
4	Dispense 100 µl of working conjugate solution into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape (included into the kit).
5	Incubate 60 minutes at 37 °C.
6	Prepare washing solution by 26x dilution of washing solution concentrate (BUF WASH 26X) by distilled water. Wash the strips 5 times.
7	Dispense 100 µl of SUBS TMB into the wells.
8	Incubate 10-20 minutes at 18...+25 °C.
9	Dispense 100 µl of STOP into the wells.
10	Measure OD (optical density) at 450 nm.
11	Set photometer blank on air
12	Apply lin-log method for data reduction.

8. QUALITY CONTROL

It is recommended to use control samples according to state and federal regulations. The use of control samples is advised to assure the day to day validity of results.

The test must be performed exactly as per the manufacturer's instructions for use. Moreover the user must strictly adhere to the rules of GLP (Good Laboratory Practice) or other applicable federal, state, and local standards and/or laws. This is especially relevant for the use of control reagents. It is important to always include, within the test procedure, a sufficient number of controls for validating the accuracy and precision of the test.

The test results are valid only if all controls are within the specified ranges and if all other test parameters are also within the given assay specifications.

9. CALCULATION OF RESULTS

9.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

9.2. Plot a calibration curve on graph paper: OD versus triiodothyronine concentration.

9.3. Determine the corresponding concentration of triiodothyronine in unknown samples from the calibration curve. Manual or computerized data reduction is applicable on this stage. Point-by-point or linear data reduction is recommended due to non-linear shape of curve.

9.4. Below is presented a typical example of a standard curve with the XEMA Co. Not for calculations!

Calibrators	Value	Absorbance Units (450 nm) x 1000
CAL 1	0 nmol/l	2552
CAL 2	0.75 nmol/l	2003
CAL 3	1.5 nmol/l	1614
CAL 4	7.5 nmol/l	714
CAL 5	15 nmol/l	398

10. EXPECTED VALUES

Therapeutical consequences should not be based on results of IVD methods alone – all available clinical and laboratory findings should be used by a physician to elaborate therapeutically measures. Each laboratory should establish its own normal range for T3. Based on data obtained by XEMA, the following normal range is recommended (see below). NOTE: the patients that have received murine monoclonal antibodies for radioimaging or immunotherapy develop high titered anti-mouse antibodies (HAMA). The presence of these antibodies may cause false results in the present assay. Sera from HAMA positive patients should be treated with depleting adsorbents before assaying.

Sex, age	Units nmol/l		Units alternative ng/ml	
	Lower limit	Upper limit	Lower limit	Upper limit
Healthy donors	1.2	3.2	0.8	2.1

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

Analyte	Cross-reactivity, % wt/wt
L-T3	100
D-T3	100
L-Thyroxin	0.01
D-Thyroxin	0.04

11.2. Analytical sensitivity

Sensitivity of the assay was assessed as being 0.2 nmol/l.

11.3. Linearity

Linearity was checked by assaying dilution series of 5 samples with different triiodothyronine concentrations. Linearity percentages obtained ranged within 90 to 110%.

11.4. Recovery

Recovery was estimated by assaying 5 mixed samples with known triiodothyronine concentrations. The recovery percentages ranged from 90 to 110%.

12. LITERATURE

1. Physiology of thyroid hormones. IN: Division of Drugs and Toxicology, American Medical Association: Drug Evaluations Annual 1995. Amer Med Assn, Chicago, 1995, ch 47, pp 1039-1040.

2. Robins J & Rall JE. The Iodine -Containing Hormones. IN Hormones in Blood (2nd ed) 1: 383-490, Gray CH & Bacharach AL (eds) London Academic Press, 1987

Контактная информация

Головной офис в Российской Федерации,

г. Москва

ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции: 105043, г. Москва, а/я 58

105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1 под., 5 эт.

+7 985 888-77-00, +7 495 510-57-07

8 800 505-23-45

sale@xema.ru

www.xema-medica.com

Вопросы сотрудничества на рынках РФ:

Кострикин Дмитрий Сергеевич, кбн

+7 915 280-02-98

dmitry@xema.ru

dmitry.kostrikin@gmail.com

Вопросы международного сотрудничества

(страны ближнего и дальнего зарубежья):

Редькин Андрей Павлович, кмн

+7 903 723-19-81

redkin@xema.ru

Отдел клиентского сервиса:

Горбачев Игорь Александрович

8 800 505 23 45

+7 985 221 08 85

client@xema.ru

igogorbache@gmail.com

+7 985 221 08 85

Северо-западный федеральный округ, г. Санкт-Петербург

ФООО «ХЕМА»

191144, г. Санкт-Петербург,

Дегтярный пер., д. 8-10, литер «А»

+7 812 271-24-41

+7 812 271-78-70

spb@xema.ru

Беларусь, г. Минск

СООО «Хемма-Тест»

Эксклюзивный представитель в регионе

(наборы для медицинской и ветеринарной диагностики)

220029, г. Минск, пр-т Машерова,

д. 11, литер «А», корп. 8/К., оф. 416

Лаборатория: 220086, г. Минск,

ул. Славинского, д. 1, корп. 2, к. 106

Директор: Пронин Вячеслав Сергеевич

+375 17 284-29-85

hemma-test@yandex.ru



Russian Diagnostic
Manufacturers Association



Ассоциация производителей
диагностических средств стран
независимых государств



Russian Association
of Medical Laboratories



Ассоциация лабораторий
медицинской диагностики
стран СНГ

Instruction for use



**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ
ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТИРОКСИНА
В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ**

«Т4-ИФА»

***A solid-phase enzyme immunoassay for the quantitative determination
of thyroxin in human serum or plasma***

T4 EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ REF K212

ТУ № 9398-212-18619450-2010

№ ФСТ 2010/07149 от 17 марта 2010 г.



For 96 determinations/На 96 определений

IVD Для ин витро диагностики



XEMA Co., Ltd.
The 9th Parkovaya, 48
105264 Moscow, Russia
Telephone/fax +7(495) 737-39-36; 737-00-40
e-mail: redkin@xema.ru
Internet: www.xema-medica.com



Authorized Representative in EU:

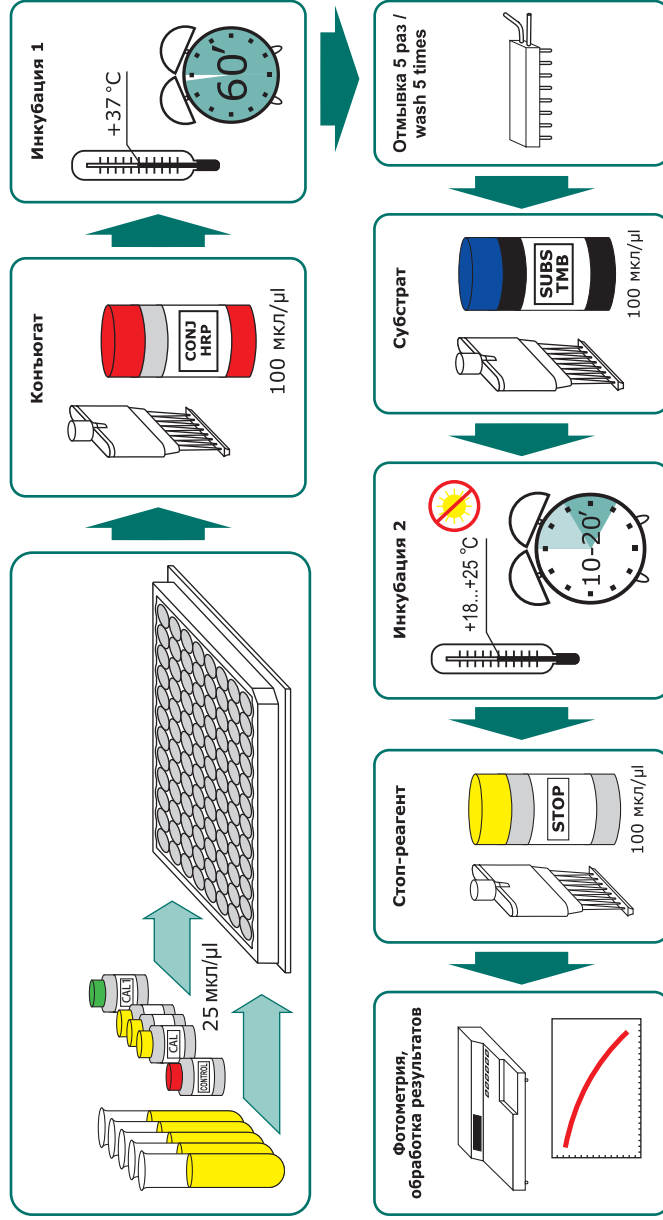
Polmed.de

Steinacker 20, D-73773

Aichwald, Germany

e-mail: info@polmed.de

Схема проведения анализа / Test procedure



25 100/60/100R

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТИРОКСИНА В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «Т4-ИФА»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «Т4-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации тироксина в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Тироксин (Т4) и 3,5,3'трийодтиронин (Т3) - гормоны, вырабатываемые щитовидной железой и циркулирующие в крови как в свободной, так и в связанной форме – в основном, с тироксинсвязывающим глобулином (ТСГ). Гормональной активностью обладают только свободные Т3 и Т4, однако их доля очень мала: 0.03% от общего содержания для Т4 и 0.3% - для Т3. Концентрация Т4 в сыворотке крови – наиболее общепринятый показатель функции щитовидной железы, позволяющий довольно четко разграничивать гипер-, гипо- и эутиреоз. Повышение содержания общего Т4 наблюдается при гипертиреозе, при опухолях гипофиза, при состояниях с повышенным уровнем ТСГ (беременность, острый или хронический активный гепатит, эстрогенсекретирующие опухоли или прием эстрогенов, генетически обусловленное повышение), при приеме оральных контрацептивов, героина, метадона, тиреоидных препаратов, ТТГ, тиреолиберина. Снижение содержания общего Т4 наблюдается при гипотиреозе, пангипопитуитаризме, состояниях с пониженным уровнем ТСГ (акромегалия, нефротический синдром, гипопропротеинемия, хронические заболевания печени, андрогенсекретирующие опухоли или прием андрогенов, генетически обусловленное снижение), гемолизе, физической нагрузке, при приеме аминосалициловой и ацетилсалициловой кислот, глюкокортикоидов, сульфаниламидов, холестирамина, резерпина, йодида калия, трийодтиронина.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение тироксина основано на использовании конкурентного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы мышиные моноклональные антитела к Т4. Во время инкубации тироксин из образца конкурирует с конъюгированным Т4 за связывание с антителами на поверхности лунки. В результате образуется связанный с пластиком «сэндвич», содержащий пероксидазу. Во время инкубации с раствором субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) происходит окрашивание растворов в лунках. Интенсивность окраски обратно пропорциональна концентрации тироксина в исследуемом образце. Концентрацию тироксина в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания тироксина в калибровочных пробах.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Перекрестная реакция мышиных моноклональных антител к Т4 с другими анализатами приведена в таблице:

Аналит	Перекрестная реакция, %
L-тироксин	100
D-тироксин	30
Т3	0.5

3.2. Воспроизводимость.

Коэффициент вариации результатов определения содержания Т4 в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «Т4-ИФА» не превышает 8.0%.

3.3. Линейность.

Зависимость концентрации Т4 в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей Т4, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 32-320 нмоль/л и составляет $\pm 10.0\%$.

3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации Т4 предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 64 нмоль/л. Процент «открытия» составляет 90-110%.

3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «Т4-ИФА» концентрация Т4 в сыворотке (плазме) крови не превышает 3 нмоль/л.

4. СОСТАВ НАБОРА

	Код компонента	Символ	Наименование	Количество	Ед.	Описание
1	P212Z	SORB MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт	-
2	C212Z	CAL 1 - 5	Калибровочные пробы на основе сыворотки крови человека, содержащие известные количества тироксина - 0; 32; 64; 160; 320 нмоль/л, готовы к использованию (по 0.8 мл каждая)	5	шт	прозрачные жидкости красного цвета (калибровочная проба 0 - прозрачная бесцветная жидкость)
3	Q212Z	CONTROL	Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием тироксина, готова к использованию (0.8 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
4	T212Z	CONJ HRP	Конъюгат, готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная жидкость красного цвета
5	R055Z	SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
6	S008Z	BUF WASH 26X	Концентрат отмывочного раствора (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 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	K212I	-	Инструкция по применению Набора реагентов «Т4-ИФА»	1	шт	-
10	K212Q	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «Т4-ИФА»	1	шт	-

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

5.1. Потенциальный риск применения Набора – класс 1 (ГОСТ Р 51609-2000).

5.2. Все компоненты Набора, за исключением стоп-реагента (5.0% раствор серной кислоты), в используемых концентрациях являются нетоксичными.

Раствор серной кислоты обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. При попадании на кожу и слизистые пораженный участок следует промыть большим количеством проточной воды.

5.3. При работе с Набором следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

5.4. При работе с Набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированный материал, способный длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

5.5. Все использованные одноразовые материалы подвергать обработке дезинфицирующими средствами с последующей утилизацией (см. МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения»).

5.6. Медицинские отходы класса Б. Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию Наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПин 2.1.7.2790-10 «Санитарноэпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность содержимого лунок планшета при длине волны 450 нм;
- термостат, поддерживающий температуру $+37\pm 2$ °С;
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы в диапазоне 25-250 мкл;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- бумага фильтровальная.

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

7.1. Перед проведением анализа компоненты Набора и исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови следует выдержать при комнатной температуре ($+18...+25$ °С) не менее 30 мин.

7.2. Приготовление планшета.

Вскрыть пакет с планшетом и установить на рамку необходимое количество стрипов. Оставшиеся неиспользованными стрипы, чтобы предотвратить воздействие на них влаги, тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре $+2...+8$ °С в течение всего срока годности Набора.

7.3. Приготовление отмывочного раствора.

В случае дробного использования Набора следует отобрать необходимое количество концентрата отмывочного раствора и развести дистиллированной водой в 26 раз (1 мл концентрата отмывочного раствора + 25 мл дистиллированной воды).

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

8.1. Набор реагентов «Т4-ИФА» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре $+2...+8$ °С в течение всего срока годности, указанного на упаковке Набора.

Допускается хранение (транспортировка) Набора при температуре до $+25$ °С не более 15 суток. Не допускается замораживание целого набора.

Допускается однократное замораживание (-20 °С) калибровочных проб и контрольной сыворотки в аликвотах.

8.2. Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 42 исследуемых образцов, 5 калибровочных проб и 1 пробы контрольной сыворотки (всего 96 определений).

8.3. В случае дробного использования Набора компоненты следует хранить следующим образом:

- оставшиеся неиспользованными стрипы необходимо тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре $+2...+8$ °С в течение всего срока годности Набора;
- конъюгат, субстрат, стоп-реагент после вскрытия флаконов следует хранить при температуре $+2...+8$ °С в течение всего срока годности Набора;
- калибровочные пробы и контрольную сыворотку после вскрытия флаконов следует хранить при температуре $+2...+8$ °С не более 2 месяцев;
- оставшийся неиспользованным концентрат отмывочного раствора следует хранить при температуре $+2...+8$ °С в течение всего срока годности Набора;
- приготовленный отмывочный раствор следует хранить при комнатной температуре ($+18...+25$ °С) не более 15 суток или при температуре $+2...+8$ °С не более 45 суток;

Примечание. После использования реагента немедленно закрывайте крышку флакона. Закрывайте каждый флакон своей крышкой.

8.4. Для проведения анализа не следует использовать гемолизированную, мутную сыворотку (плазму) крови, а также сыворотку (плазму) крови, содержащую азид натрия.

Если анализ производится не в день взятия крови, сыворотку (плазму) следует хранить при температуре -20 °С. Повторное замораживание-оттаивание образцов сыворотки (плазмы) крови не допускается.

8.5. Исключается использование для анализа образцов сыворотки (плазмы) крови людей, получавших в целях диагностики или терапии препараты, в состав которых входят мышинные антитела.

8.6. При использовании Набора для проведения нескольких независимых серий анализов следует иметь в виду, что для каждого независимого определения необходимо построение нового калибровочного графика; кроме этого, рекомендуется определение концентрации Т4 в контрольной сыворотке.

8.7. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение Инструкции по применению Набора.

8.8. Не используйте компоненты из других наборов или из аналогичных наборов других серий.

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов - исследуемые образцы в 2 повторах и 12 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки.
2	Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 25 мкл калибровочной пробы и контрольной сыворотки. В остальные лунки внесите в дубликатах по 25 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови. Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
3	Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.
4	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте его в течение 60 минут при температуре +37 °С .
5	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз. При каждой отмывке добавьте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п.7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок постукиванием планшета в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.
6	Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина. Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2-3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °С) в течение 10-20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.
7	Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента, при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
8	Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм. Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра выставляйте по воздуху.
9	Постройте в полулогарифмических координатах калибровочный график: ось абсцисс (x) - десятичный логарифм концентрации Т4 в калибровочных пробах (нмоль/л), ось ординат (y) - оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма обсчета (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод. Приравняйте концентрацию калибровочной пробы 0 нмоль/л к несущественно малой величине, например, 0.001 нмоль/л
10	Определите по калибровочному графику содержание Т4 в исследуемых образцах.

10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ

10.1. Основываясь на результатах исследований, проведенных ООО «ХЕМА», рекомендуем пользоваться нормами, приведенными ниже. Вместе с тем, в соответствии с правилами *GLP* (Хорошей лабораторной практики), каждая лаборатория должна сама определить параметры нормы, характерные для обследуемой популяции.

Примечание. Значения концентраций Т4 в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (3.0 нмоль/л), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (320 нмоль/л) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация Т4 ниже 3.0 нмоль/л или выше 320 нмоль/л. В Наборе «Т4-ИФА» значения концентраций калибровочных проб выражены в нмоль/л. Для пересчета концентраций в мкг/дл, полученное значение концентрации в нмоль/л следует умножить на 0.0775.

$$1 \text{ нмоль/л} = 0.0775 \text{ мкг/дл}$$

Исследуемая группа	Единицы нмоль/л		Единицы доп. мкг/дл	
	Нижний предел	Верхний предел	Нижний предел	Верхний предел
здоровые доноры	60	160	4.7	12.4
Мужчины				
старше 61 года	60	129	4.7	10.0
Женщины				
старше 61 года	70	135	5.4	10.5
Дети				
1-5 лет	90	190	7.0	14.7
6-10 лет	83	170	6.4	13.2
>10 лет	60	160	4.7	12.4

1. Helfand M et al. Screening for thyroid disease. Ann Intern Med 1990; 112:840.
2. Chopra, I.J. et al. A Radioimmunoassay of Thyroxine. J. Clinical Endocrinol 1971; 33:865.
3. Young, D.S. et al. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. Clinical Chemistry 1975; 21: 3660.
4. Sterling, L. Diagnosis and Treatment of Thyroid Disease, Cleveland , CRC Press, P. 19 51 (1975).
5. Surks M.I. et al. American Thyroid Association guidelines for use of laboratory tests in thyroid disorders. JAMA 1990; 263:1529.

По вопросам, касающимся качества Набора **«Т4-ИФА»**,
следует обращаться в ООО «ХЕМА» по адресу:
105043, г. Москва, а/я 58
105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1-й под., 5 этаж,
тел/факс (495) 737-39-36, 737-00-40, 510-57-07 (многоканальный)

электронная почта: info@xema.ru

интернет: www.xema-medica.com

Руководитель службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА»,
к. б. н. Д. С. Кострикин

Instruction for use.

A solid-phase enzyme immunoassay for the quantitative determination of thyroxin in human serum or plasma

1. INTENDED USE

A solid-phase enzyme immunoassay for the quantitative determination of thyroxin in human serum or plasma.

This kit is designed for measurement of thyroxin in blood serum or plasma. For possibility of use with other sample types, please, refer to Application Notes (on request). The kit contains reagents sufficient for 96 determinations and allows to analyze 42 unknown samples in duplicates.

2. SUMMARY AND EXPLANATION

Thyroid hormones thyroxin (T4) and 3,5,3'-triiodothyronine (T3) exert regulatory influences on growth, differentiation, cellular metabolism and development of skeletal and organ systems. T4 and T3 in blood are found both in free and bound form – mostly, they are bound to thyroxin binding globulin (TBG). Only free forms of T3 and T4 exert hormonal activity also their percentage is very low – 0.3% for T3 and 0.03% for T4.

The concentration of T4 is generally accepted as an index of thyroid function which provide enough information to differentiate between hyper-, hypo- and euthyroidism.

Elevation of total T4 is found in hyperthyroidism, in patients with tumours of pituitary gland, in subjects with elevated TBG level (pregnancy, acute or chronic active hepatitis, estrogen-secreting tumours or estrogen intake, hereditary elevation of TBG), in patients taking oral contraceptives, heroin, methadone, thyroid preparations, TSH, thyroliberin.

Low total T4 is found in hypothyroidism, in patients with panhypopituitarism, in subjects with low TBG level (acromegaly, nephritic syndrome, hypoproteinemia, chronic liver diseases, androgen-secreting tumours, hereditary reduction), in patients taking aminosalicylic and acetylsalicylic acids, cholestyramine, reserpine, potassium iodide, triiodothyronine.

3. PRINCIPLE OF THE TEST

This test is based on competition enzyme immunoassay principle. Tested specimen is placed into the microwells coated by specific murine monoclonal to T4-antibodies simultaneously with conjugated T4-peroxidase. T4 from the specimen competes with the conjugated T4 for coating antibodies. After washing procedure, the remaining enzymatic activity bound to the microwell surface is detected and quantified by addition of chromogen-substrate mixture, stop solution and photometry at 450 nm. Optical density in the microwell is inversely related to the quantity of the measured analyte in the specimen.

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

4.1. For professional use only.

4.2. This kit is intended for in vitro diagnostic use only.

4.3. INFECTION HAZARD: There is no available test methods that can absolutely assure that Hepatitis B and C viruses, HIV-1/2, or other infectious agents are not present in the reagents of this kit. All human products, including patient samples, should be considered potentially infectious. Handling and disposal should be in accordance with the procedures defined by an appropriate national biohazard safety guidelines or regulations.

4.4. Avoid contact with stop solution containing 5.0% 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. KIT COMPONENTS

5.1. Contents of the Kit

	Symbol	Description		Qty	Units	Colour code	Stability of opened/diluted components
1	SORB MTP	T4 EIA strips, 8x12 wells	polystyrene microwells coated with murine monoclonal to T4	1	pcs		until exp.date
2	CAL 1 - 5	Calibrator set, 0.8 ml each. The set contains 5 calibrators: 0; 32; 64; 160; 320 nmol/l	human thyroxin diluted in a preselected human serum preservative - 0.01% Bronidox L, 0.01% 2-Methyl-4-isothiazolin-3-one-hydrochloride; also contains red dye	5	pcs	red (C1 - colourless)	2 months
3	CONTROL	Control serum (0.8 ml)	dilution of preselected human serum, with high content of thyroxin with preservative - 0.01% Bronidox L, 0.01% 2-Methyl-4-isothiazolin-3-one-hydrochloride, colourless	1	pcs	colourless	2 months
4	CONJ HRP	Conjugate, 14 ml	aqueous solution of T4 coupled with horseradish peroxidase diluted on phosphate buffered solution preservative - 0.01% Bronidox L, 0.01% 2-Methyl-4-isothiazolin-3-one-hydrochloride and red dye	1	pcs	red	until exp.date
5	SUBS TMB	Substrate solution, 14 ml	ready-to-use single-component tetramethylbenzidine (TMB) solution.	1	pcs	colourless	until exp.date
6	BUF WASH 26X	Washing solution concentrate 26x, 22 ml	aqueous solution of sodium chloride and detergent (Tween 20), contains proClin300 as a preservative	1	pcs	colourless	Concentrate - until exp.date Diluted washing solution - 45 days at 2-8 °C or 15 days at RT
7	STOP	Stop solution, 14 ml	5,0% vol/vol solution of sulphuric acid	1	pcs	colourless	until exp.date
8	N003	Plate sealing tape	-	2	pcs	-	N/A
9	K212I	Instruction T4 EIA	-	1	pcs	-	N/A
10	K212Q	QC data sheet T4 EIA	-	1	pcs	-	N/A

5.2. Equipment and material required but not provided

- Distilled or deionized water;
- Automatic or semiautomatic multichannel micropipettes, 100-250 µl, is useful but not essential;
- Calibrated micropipettes with variable volume, range volume 25-250 µl;
- Dry thermostat for 37 °C ±2 °C;
- Calibrated microplate photometer with 450 nm wavelength and OD measuring range 0-3.0.

5.3. Storage and stability of the Kit

Store the whole kit at 2 to 8 °C upon receipt until the expiration date.

After opening the pouch keep unused microtiter wells TIGHTLY SEALED BY ADHESIVE TAPE (INCLUDED) to minimize exposure to moisture.

6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE.

This kit is intended for use with serum or plasma (ACD- or heparinized). Grossly hemolytic, lipemic, or turbid samples should be avoided.

Specimens may be stored for up to 48 hours at +2...+8 °C before testing. For a longer storage, the specimens should be frozen at -20 °C or lower. Repeated freezing/thawing should be avoided.

7. TEST PROCEDURE

7.1. Reagent Preparation

- All reagents (including unsealed microstrips) should be allowed to reach room temperature (+18 to +25 °C) before use.

- All reagents should be mixed by gentle inversion or vortexing prior to use. Avoid foam formation.
- It is recommended to spin down shortly the tubes with calibrators on low speed centrifuge.
- Prepare washing solution from the concentrate BUF WASH 26X by 26 dilutions in distilled water.

7.2. Procedural Note:

It is recommended that pipetting of all calibrators and samples should be completed within 3 minutes.

7.3. Assay flowchart

See the example of calibration graphic in Quality Control data sheet.

7.4. Assay procedure

1	Put the desired number of microstrips into the frame; allocate 12 wells for the calibrators CAL 1 - 5 and control samples CONTROL and two wells for each unknown sample. DO NOT REMOVE ADHESIVE SEALING TAPE FROM UNUSED STRIPS.
2	Pipet 25 µl of calibrators CAL 1 - 5, control samples CONTROL and unknown samples into the wells.
3	Dispense 100 µl of CONJ HRP into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape (included into the kit).
4	Incubate 60 minutes at 37 °C.
5	Prepare washing solution by 26x dilution of washing solution concentrate (BUF WASH 26X) by distilled water. Wash the strips 5 times.
6	Dispense 100 µl of SUBS TMB into the wells.
7	Incubate 10-20 minutes at +18...+25 °C.
8	Dispense 100 µl of STOP into the wells.
9	Measure OD (optical density) at 450 nm.
10	Set photometer blank on air.
11	Apply lin-log method for data reduction.

8. QUALITY CONTROL

It is recommended to use control samples according to state and federal regulations. The use of control samples is advised to assure the day to day validity of results.

The test must be performed exactly as per the manufacturer's instructions for use. Moreover the user must strictly adhere to the rules of GLP (Good Laboratory Practice) or other applicable federal, state, and local standards and/or laws. This is especially relevant for the use of control reagents. It is important to always include, within the test procedure, a sufficient number of controls for validating the accuracy and precision of the test.

The test results are valid only if all controls are within the specified ranges and if all other test parameters are also within the given assay specifications.

9. CALCULATION OF RESULTS

9.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

9.2. Plot a calibration curve on graph paper: OD versus thyroxin concentration.

9.3. Determine the corresponding concentration of thyroxin in unknown samples from the calibration curve.

Manual or computerized data reduction is applicable on this stage. Point-by-point or linear data reduction is recommended due to non-linear shape of curve.

9.4. Below is presented a typical example of a standard curve with the XEMA Co. Not for calculations!

Calibrators	Value	Absorbance Units (450 nm) x 1000
CAL 1	0 nmol/l	3020
CAL 2	32 nmol/l	2196
CAL 3	64 nmol/l	1060
CAL 4	160 nmol/l	435
CAL 5	320 nmol/l	205

10. EXPECTED VALUES

Therapeutical consequences should not be based on results of IVD methods alone – all available clinical and laboratory findings should be used by a physician to elaborate therapeutically measures. Each laboratory should establish its own normal range for T4. Based on data obtained by XEMA, the following normal range is recommended (see below). NOTE: the patients that have received murine monoclonal antibodies for radioimaging or immunotherapy develop high titered anti-mouse antibodies (HAMA). The presence of these antibodies may cause false results in the present assay. Sera from HAMA positive patients should be treated with depleting adsorbents before assaying.

$$1 \text{ nmol/l} = 0.0775 \text{ ug/dl}$$

Sex, age	Units		Units alternative	
	nmol/l		µg/dl	
	Lower limit	Upper limit	Lower limit	Upper limit
Healthy donors	60	160	4.7	12.4
Males				
>61 yrs	60	129	4.7	10.0
Females				
>61yrs	70	135	5.4	10.5
Children				
1-5 yrs	90	190	7.0	14.7
6-10 yrs	83	170	6.4	13.2
>10 yrs	60	160	4.7	12.4

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

Analyte	Cross-reactivity, % wt/wt
L-Thyroxin	100
D-Thyroxin	30
T3	0.5

11.2. Analytical sensitivity

Sensitivity of the assay was assessed as being 3 nmol/l.

11.3. Linearity

Linearity was checked by assaying dilution series of 5 samples with different thyroxin concentrations. Linearity percentages obtained ranged within 90 to 110%.

11.4. Recovery

Recovery was estimated by assaying 5 mixed samples with known thyroxin concentrations. The recovery percentages ranged from 90 to 110%.

12. LITERATURE

1. Helfand M et al. Screening for thyroid disease. Ann Intern Med 1990; 112:840.
2. Chopra, I.J. et al. A Radioimmunoassay of Thyroxine. J. Clinical Endocrinol 1971; 33:865.
3. Young, D.S. et al. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. Clinical Chemistry 1975; 21: 3660.
4. Sterling, L. Diagnosis and Treatment of Thyroid Disease, Cleveland , CRC Press, P. 19 51 (1975).
5. Surks M.I. et al. American Thyroid Association guidelines for use of laboratory tests in thyroid disorders. JAMA 1990; 263:1529.

Контактная информация

Головной офис в Российской Федерации,

г. Москва

ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции: 105043, г. Москва, а/я 58

105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1 под., 5 эт.

+7 985 888-77-00, +7 495 510-57-07

8 800 505-23-45

sale@xema.ru

www.xema-medica.com

Вопросы сотрудничества на рынках РФ:

Кострикин Дмитрий Сергеевич, кбн

+7 915 280-02-98

dmitry@xema.ru

dmitry.kostrikin@gmail.com

dmitry kostrikin

Вопросы международного сотрудничества

(страны ближнего и дальнего зарубежья):

Редькин Андрей Павлович, кмн

+7 903 723-19-81

redkin@xema.ru

Отдел клиентского сервиса:

Горбачев Игорь Александрович

8 800 505 23 45

+7 985 221 08 85

client@xema.ru

igogorbache@gmail.com

xemahelp1

+7 985 221 08 85

Северо-западный федеральный округ, г. Санкт-Петербург

ФООО «ХЕМА»

191144, г. Санкт-Петербург,

Дегтярный пер., д. 8-10, литер «А»

+7 812 271-24-41

+7 812 271-78-70

spb@xema.ru

Беларусь, г. Минск

СООО «Хемма-Тест»

Эксклюзивный представитель в регионе
(наборы для медицинской и ветеринарной
диагностики)

220029, г. Минск, пр-т Машерова,

д. 11, литер «А», корп. 8/К., оф. 416

Лаборатория: 220086, г. Минск,

ул. Славинского, д. 1, корп. 2, к. 106

Директор: Пронин Вячеслав Сергеевич

+375 17 284-29-85

hemma-test@yandex.ru



Russian Diagnostic
Manufacturers Association



Ассоциация производителей
медицинских лабораторных
приборов



Russian Association
of Medical Laboratory
Diagnostics



Российская Ассоциация
Медицинских Лабораторных
Диагностик



Instruction for use

**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ
ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
СВОБОДНОГО ТРИЙОДТИРОНИНА
В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ**

«свТЗ-ИФА»



**A solid-phase enzyme immunoassay for the quantitative determination of free
triiodothyronine in human blood serum or plasma**

fT3 EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ REF K213

ТУ № 9398-213-18619450-2011

№ ФСР 2011/11009 от 09 июня 2011 года



For 96 determinations / На 96 определений



Для ин витро диагностики

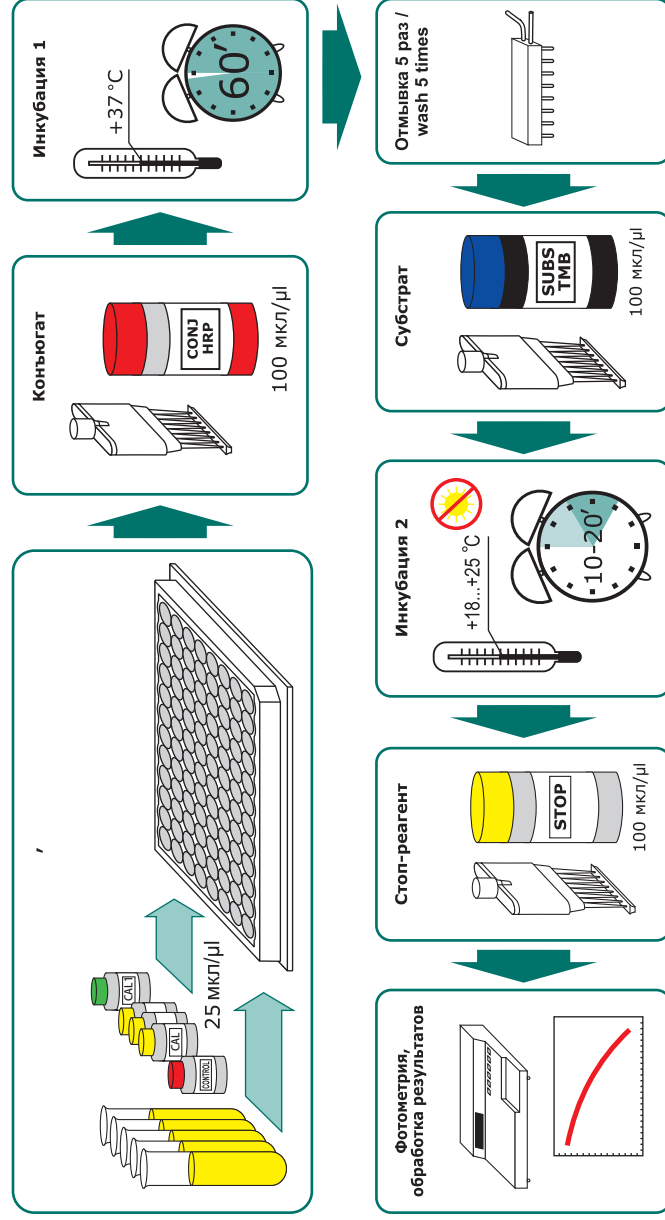


XEMA Co., Ltd.
The 9th Parkovaya, 48
105264 Moscow, Russia
Telephone/fax +7(495) 737-39-36; 737-00-40
e-mail: redkin@xema.ru
Internet: www.xema-medica.com



Authorized Representative in EU:
Polmed.de
Steinacker 20, D-73773
Aichwald, Germany
e-mail: info@polmed.de

Схема проведения анализа / Test procedure



25 100/60/100R

«УТВЕРЖДАЮ» Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере здравоохранения и
социального развития
Р.У. Хабриев
24 июля 2006 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СВОБОДНОГО ТРИЙОДИРОНИНА В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «свТ3-ИФА»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «свТ3-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации свободного трийодтиронина в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Тироксин (Т4) и 3,5,3'трийодтиронин (Т3) - гормоны, вырабатываемые щитовидной железой и циркулирующие в крови как в свободной, так и в связанной форме – в основном, с тироксинсвязывающим глобулином (ТСГ). Гормональной активностью обладают только свободные Т3 и Т4, однако их доля очень мала: 0.03% от общего содержания для Т4 и 0.3% - для Т3. Концентрация Т3 ниже, чем Т4, однако его метаболическая активность примерно в 3 раза выше. Около 80% сывороточного Т3 образуется за счет дейодирования Т4 в периферических тканях, и только небольшое его количество образуется прямым синтезом в щитовидной железе. Поэтому при гипотиреозе уровень Т3 может длительное время находиться на нижнем пределе нормы, так как его потеря может компенсироваться повышенным превращением Т4 в Т3. Определение содержания общего и свободного Т3 проводят при начальной стадии гипертиреоза, при рецидиве гипертиреоза, при дифференциальной диагностике гипертиреоза, при симптоматическом повышении уровня Т3, при остром гипертиреозе после подавляющей терапии L-тироксина.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение свободного трийодтиронина основано на использовании конкурентного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы кроличьи поликлональные антитела к Т3. Свободный трийодтиронин из образца конкурирует с конъюгированным Т3 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 свободного трийодтиронина в исследуемом образце. Концентрацию свободного трийодтиронина в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания свободного трийодтиронина в калибровочных пробах.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Перекрестная реакция кроличьих поликлональных антител к Т3 с другими анализатами приведена в таблице:

Аналит	Перекрестная реакция, %
L-Т3	100
D-Т3	100
L-тироксин	0.01
D-тироксин	0.04

3.2. Воспроизводимость.

Коэффициент вариации результатов определения содержания свТ3 в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «свТ3-ИФА» не превышает 8.0%.

3.3. Линейность.

Зависимость концентрации свТ3 в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей свТ3, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 2.5-40 пмоль/л и составляет $\pm 10.0\%$.

3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации свТ3 предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 5 пмоль/л. Процент «открытия» составляет 90-110%.

3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «свТ3-ИФА» концентрация свТ3 в сыворотке (плазме) крови не превышает 0.5 пмоль/л.

4. СОСТАВ НАБОРА

	Код компонента	Символ	Наименование	Количество	Ед.	Описание
1	P213Z	SORB MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт	-
2	C213Z	CAL 1 - 6	Калибровочные пробы на основе сыворотки крови человека, содержащие известные количества свободного трийодтиронина - 0; 2.5; 5; 10; 20; 40 пмоль/л, готовы к использованию (по 0.8 мл каждая)	6	шт	прозрачные жидкости ярко-синего цвета (калибровочная проба 0 - прозрачная бесцветная жидкость)
3	Q213Z	CONTROL	Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием свободного трийодтиронина, готова к использованию (0.8 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
4	T213Z	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	K213I	-	Инструкция по применению Набора реагентов «свТЗ-ИФА»	1	шт	-
10	K213Q	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «свТЗ-ИФА»	1	шт	-

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

5.1. Потенциальный риск применения Набора – класс 1 (ГОСТ Р 51609-2000).

5.2. Все компоненты Набора, за исключением стоп-реагента (5.0% раствор серной кислоты), в используемых концентрациях являются нетоксичными.

Раствор серной кислоты обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. При попадании на кожу и слизистые пораженный участок следует промыть большим количеством проточной воды.

5.3. При работе с Набором следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

5.4. При работе с Набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированный материал, способный длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

5.5. Все использованные одноразовые материалы подвергать обработке дезинфицирующими средствами с последующей утилизацией (см. МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения»).

5.6. Медицинские отходы класса Б. Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию Наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПин 2.1.7.2790-10 «Санитарноэпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

6. **ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ**

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность содержимого лунок планшета при длине волны 450 нм;
- термостат, поддерживающий температуру $+37 \pm 2$ °С;
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы в диапазоне 25-250 мкл;
- цилиндр мерный вместимостью 500 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.

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 «свТЗ-ИФА» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре $+2...+8$ °С в течение всего срока годности, указанного на упаковке Набора.

Допускается хранение (транспортировка) Набора при температуре до $+25$ °С не более 15 суток.

8.2. Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 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;
- все остальные компоненты Набора после вскрытия флаконов следует хранить при температуре $+2...+8$ °С в течение всего срока годности Набора;
- оставшийся неиспользованным концентрат отмывочного раствора следует хранить при температуре $+2...+8$ °С в течение всего срока годности Набора;
- приготовленный отмывочный раствор следует хранить при комнатной температуре ($+18...+25$ °С) не более 15 суток или при температуре $+2...+8$ °С не более 45 суток;

Примечание. После использования реагента немедленно закрывайте крышку флакона. Закрывайте каждый флакон своей крышкой.

8.6. 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 свТЗ в контрольной сыворотке.

8.7. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение Инструкции по применению Набора.

8.8. Не используйте компоненты из других наборов или из аналогичных наборов других серий.

9. **ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА**

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов - исследуемые образцы в 2 повторах и 14 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки.
2	Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 25 мкл калибровочной пробы и контрольной сыворотки. В остальные лунки внесите в дубликатах по 25 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови. Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
3	Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.
4	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте его в течение 60 минут при температуре $+37$ °С.

5	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз. При каждой отмывке добавьте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п.7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок постукиванием планшета в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.
6	Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина. Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2-3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25°C) в течение 10-20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.
7	Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента, при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
8	Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм. Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра выставляйте по воздуху.
9	Постройте в полулогарифмических координатах калибровочный график: ось абсцисс (x) - десятичный логарифм концентрации свТЗ в калибровочных пробах (пмоль/л), ось ординат (y) - оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма обсчета (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод. Приравняйте концентрацию калибровочной пробы 0 пмоль/л к несущественно малой величине, например, 0.001 пмоль/л
10	Определите по калибровочному графику содержание свТЗ 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 свТЗ в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0.5 пмоль/л), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (40 пмоль/л) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация свТЗ ниже 0.5 пмоль/л или выше 40 пмоль/л.

Исследуемая группа	Единицы, пмоль/л	
	Нижний предел	Верхний предел
здоровые доноры	2.5	5.8

1. Physiology of thyroid hormones. IN: Division of Drugs and Toxicology, American Medical Association: Drug Evaluations Annual 1995. Amer Med Assn, Chicago, 1995, ch 47, pp 1039-1040.

2. Robins J & Rall JE. The Iodine -Containing Hormones. IN Hormones in Blood (2nd ed) 1: 383-490, Gray CH & Bacharach AL (eds) London Academic Press, 1987

По вопросам, касающимся качества Набора «свТЗ-ИФА», следует обращаться в ООО «ХЕМА» по адресу:
 105043, г. Москва, а/я 58
 105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1-й под., 5 этаж,
 тел/факс (495) 737-39-36, 737-00-40, 510-57-07 (многоканальный)
 электронная почта: info@xema.ru
 интернет: www.xema-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 triiodothyronine in human blood serum or plasma

1. INTENDED USE

A solid-phase enzyme immunoassay for the quantitative determination of free triiodothyronine in blood serum or plasma.

This kit is designed for measurement of free triiodothyronine in blood serum or plasma. For possibility of use with other sample types, please, refer to Application Notes (on request). The kit contains reagents sufficient for 96 determinations and allows to analyze 41 unknown samples in duplicates.

2. SUMMARY AND EXPLANATION

Thyroid hormones thyroxin (T4) and 3,5,3'-triiodothyronine (T3) exert regulatory influences on growth, differentiation, cellular metabolism and development of skeletal and organ systems. T4 and T3 in blood are found both in free and bound form – mostly, they are bound to thyroxin binding globulin (TBG). Only free forms of T3 and T4 exert hormonal activity also their percentage is very low – 0.3% for T3 and 0.03% for T4.

The concentration of T3 is much less than that of T4 but its metabolic activity is about 3 times greater. About 80% of T3 is produced in peripheral tissues by deiodination of T4, and only 20% is secreted by thyroid gland. That is why in hypothyroid patients T3 level may for a long time remain on the lower limit of the normal range, because its loss may be compensated by enhanced conversion of T4 into T3.

Determination of T3 level is most useful in T3-hyperthyroidism because 5-10% of such patients do not show significant changes in T4 level while concentration of T3 is highly elevated.

Elevated T3 levels are seen in early thyroid hypofunction, after intake of estrogens, oral contraceptives, heroin, methadone, during pregnancy.

Decreased concentrations of T3 are found in initial stage of hyperthyroidism, acute and subacute thyroiditis, after intake of androgens, dexamethasone, salicylates. Decreased concentrations of T3 are found in initial stage of hyperthyroidism, acute and subacute thyroiditis, after intake of androgens, dexamethasone, salicylates.

3. PRINCIPLE OF THE TEST

This test is based on competition enzyme immunoassay principle. Tested specimen is placed into the microwells coated by specific rabbit polyclonal to T3-antibodies simultaneously with conjugated fT3-peroxidase. fT3 from the specimen competes with the conjugated fT3 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. Safety Data Sheet for this product is available upon request directly from XEMA Co., Ltd.

4.15. The Safety Data Sheet fit the requirements of EU Guideline 91/155 EC.

5. KIT COMPONENTS

5.1. Contents of the Kit

	Symbol	Description		Qty	Units	Colour code	Stability of opened/diluted components*
1	SORB MTP	ft3 EIA strips, 8x12 wells	polystyrene microwells coated with rabbit polyclonal to T3	1	pcs		until exp.date
2	CAL 1 - 6	Calibrator set, 0.8 ml each. The set contains 6 calibrators: 0; 2.5; 5; 10; 20, 40 pmol/l	human free triiodothyronine diluted in a preselected human serum preservative - 0.01% Bronidox L, 0.01% 2-Methyl-4-isothiazolin-3-one-hydrochloride; also contains bright blue dye	6	pcs	bright blue (C1 - colourless)	until exp.date
3	CONTROL	Control serum (0.8 ml)	dilution of preselected human serum, with high content of free triiodothyronine with preservative - 0.01% Bronidox L, 0.01% 2-Methyl-4-isothiazolin-3-one-hydrochloride, colourless	1	pcs	colourless	until exp.date
4	CONJ HRP	Conjugate, 14 ml	aqueous solution of T3 coupled with horseradish peroxidase diluted on phosphate buffered solution preservative - 0.01% Bronidox L, 0.01% 2-Methyl-4-isothiazolin-3-one-hydrochloride and blue dye	1	pcs	blue	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 - 1 month at 2-8 °C or 5 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	K213I	Instruction ft3 EIA		1	pcs		N/A
10	K213Q	QC data sheet ft3 EIA		1	pcs		N/A

5.2. Equipment and material required but not provided

- Distilled or deionized water;
- Automatic or semiautomatic multichannel micropipettes, 100-250 µl, is useful but not essential;
- Calibrated micropipettes with variable volume, range volume 25-250 µl;
- Dry thermostat for 37 °C ±2 °C;
- Calibrated microplate photometer with 450 nm wavelength and OD measuring range 0-3.0.

5.3. Storage and stability of the Kit

Store the whole kit at 2 to 8 °C upon receipt until the expiration date.

After opening the pouch keep unused microtiter wells TIGHTLY SEALED BY ADHESIVE TAPE (INCLUDED) to minimize exposure to moisture.

6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE.

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	Pipet 25 µl of calibrators CAL 1 - 6, control samples CONTROL and unknown samples into the wells.
3	Dispense 100 µl of CONJ HRP into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape (included into the kit).
4	Incubate 60 minutes at +37 °C.
5	Prepare washing solution by 26x dilution of washing solution concentrate (BUF WASH 26X) by distilled water. Wash the strips 5 times.
6	Dispense 100 µl of SUBS TMB into the wells.
7	Incubate 10-20 minutes at +18...+25 °C.
8	Dispense 100 µl of STOP into the wells.
9	Measure OD (optical density) at 450 nm.
10	Set photometer blank on air.
11	Apply lin-log method for data reduction.

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 triiodothyronine concentration.

9.3. Determine the corresponding concentration of free triiodothyronine in unknown samples from the calibration curve. Manual or computerized data reduction is applicable on this stage. Point-by-point or linear data reduction is recommended due to non-linear shape of curve.

9.4. Below is presented a typical example of a standard curve with the XEMA Co. Not for calculations!

Calibrators	Value	Absorbance Units (450 nm) x 1000
CAL 1	0 pmol/l	2421
CAL 2	2.5 pmol/l	2184
CAL 3	5 pmol/l	1588
CAL 4	10 pmol/l	1183
CAL 5	20 pmol/l	778
CAL 6	40 pmol/l	406

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 fT3. 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 pmol/l	
	Lower limit	Upper limit
Healthy donors	2.5	5.8

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

Analyte	Cross-reactivity, % wt/wt
L-T3	100
D-T3	100
L-Thyroxin	0.01
D-Thyroxin	0.04

11.2. Analytical sensitivity

Sensitivity of the assay was assessed as being 0,5 pmol/l.

11.3. Linearity

Linearity was checked by assaying dilution series of 5 samples with different free triiodothyronine concentrations. Linearity percentages obtained ranged within 90 to 110%.

11.4. Recovery

Recovery was estimated by assaying 5 mixed samples with known free triiodothyronine concentrations. The recovery percentages ranged from 90 to 110%.

12. LITERATURE

1. Physiology of thyroid hormones. IN: Division of Drugs and Toxicology, American Medical Association: Drug Evaluations Annual 1995. Amer Med Assn, Chicago, 1995, ch 47, pp 1039-1040.
2. Robins J & Rall JE. The Iodine -Containing Hormones. IN Hormones in Blood (2nd ed) 1: 383-490, Gray CH & Bacharach AL (eds) London Academic Press, 1987

Контактная информация

Головной офис в Российской Федерации,

г. Москва

ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции: 105043, г. Москва, а/я 58

105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1 под., 5 эт.

+7 985 888-77-00, +7 495 510-57-07

8 800 505-23-45

sale@xema.ru

www.xema-medica.com

Вопросы сотрудничества на рынках РФ:

Кострикин Дмитрий Сергеевич, кбн

+7 915 280-02-98

dmitry@xema.ru

dmitry.kostrikin@gmail.com

Вопросы международного сотрудничества (страны ближнего и дальнего зарубежья):

Редькин Андрей Павлович, кмн

+7 903 723-19-81

redkin@xema.ru

Отдел клиентского сервиса:

Горбачев Игорь Александрович

8 800 505 23 45

+7 985 221 08 85

client@xema.ru

igogorbache@gmail.com

+7 985 221 08 85

Северо-западный федеральный округ, г. Санкт-Петербург

ФООО «ХЕМА»

191144, г. Санкт-Петербург,

Дегтярный пер., д. 8-10, литер «А»

+7 812 271-24-41

+7 812 271-78-70

spb@xema.ru

Беларусь, г. Минск

СООО «Хемма-Тест»

Эксклюзивный представитель в регионе

(наборы для медицинской и ветеринарной диагностики)

220029, г. Минск, пр-т Машерова,

д. 11, литер «А», корп. 8/К., оф. 416

Лаборатория: 220086, г. Минск,

ул. Славинского, д. 1, корп. 2, к. 106

Директор: Пронин Вячеслав Сергеевич

+375 17 284-29-85

hemma-test@yandex.ru





Instruction for use

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СВОБОДНОГО ТИРОКСИНА В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ

«свТ4-ИФА»

A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF FREE THYROXIN IN HUMAN SERUM OR PLASMA

ft4 EIA



НОМЕР ПО КАТАЛОГУ REF **K214**

ТУ №9398-214-18619450-2011

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
№ ФСР 2011/11006 от 09 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

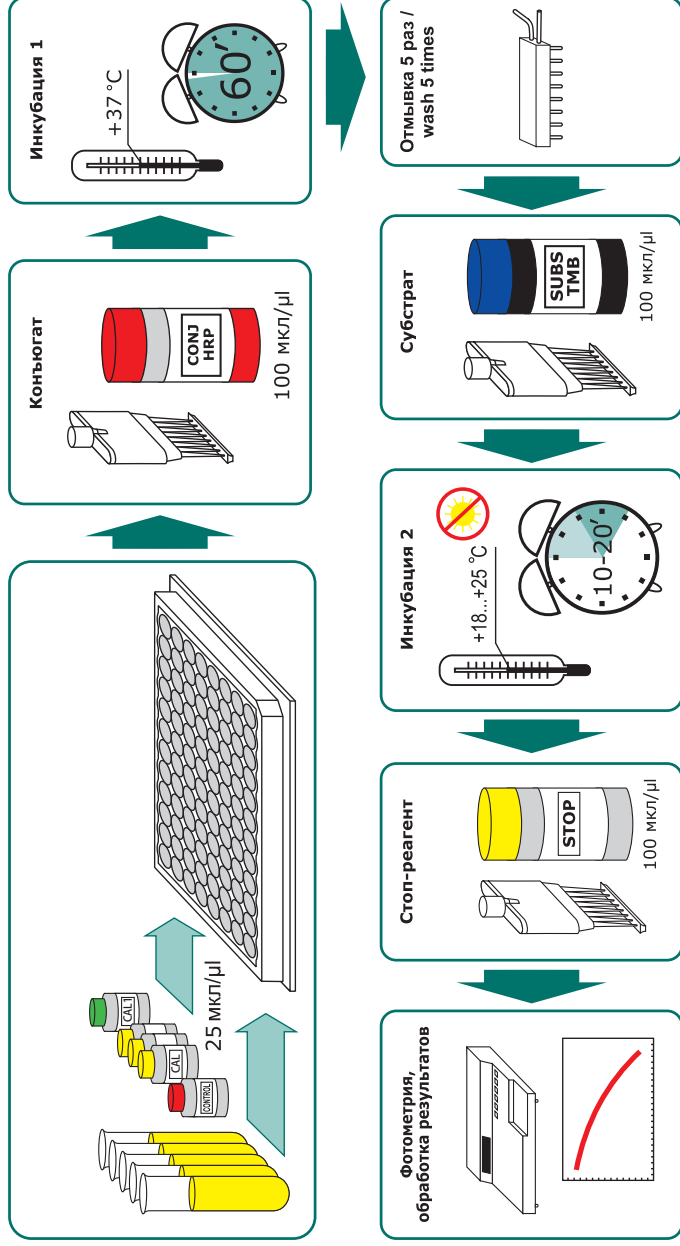


XEMA Co., Ltd.
The 9th Parkovaya str., 48
105264 Moscow, Russia
Tel./fax: +7(495) 510-57-07
e-mail: redkin@xema-medica.com
internet: www.xema-medica.com

Authorized Representative in EU:
Polmed.de
Steinacker 20, D-73773
Aichwald, Germany
e-mail: info@polmed.de



Схема проведения анализа / Test procedure



210, 214, 215

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 СВОБОДНОГО ТИРОКСИНА В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «свТ4-ИФА»

Рекомендована к утверждению Научно-экспертным Советом по медицинским изделиям

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «свТ4-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации свободного тироксина в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Тироксин (Т4) и 3,5,3'-трийодтиронин (Т3) – гормоны, вырабатываемые щитовидной железой и циркулирующие в крови как в свободной, так и в связанной форме – в основном, с тироксинсвязывающим глобулином (ТСГ). Гормональной активностью обладают только свободные Т3 и Т4, однако их доля очень мала: 0.03% от общего содержания для Т4 и 0.3% – для Т3.

1.3. Концентрация Т4 в сыворотке крови – наиболее общепринятый показатель функции щитовидной железы, позволяющий довольно четко разграничивать гипер-, гипо- и эутиреоз.

1.4. Повышение содержания общего Т4 наблюдается при гипертиреозе, при опухолях гипофиза, при состояниях с повышенным уровнем ТСГ (беременность, острый или хронический активный гепатит, эстрогенсекретирующие опухоли или прием эстрогенов, генетически обусловленное повышение), при приеме оральных контрацептивов, героина, метадона, тиреоидных препаратов, ТТГ, тиреолиберина.

1.5. Снижение содержания общего Т4 наблюдается при гипотиреозе, пангипопитуитаризме, состояниях с пониженным уровнем ТСГ (акромегалия, нефротический синдром, гипопропротеинемия, хронические заболевания печени, андрогенсекретирующие опухоли или прием андрогенов, генетически обусловленное снижение), гемолизе, физической нагрузке, при приеме аминосалициловой и ацетилсалициловой кислот, глюкокортикоидов, сульфаниламидов, холестирамина, резерпина, йодида калия, трийодтиронина.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение свободного тироксина основано на использовании конкурентного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы мышинные моноклональные антитела к Т4. Свободный тироксин из образца конкурирует с конъюгированным Т4 за связывание с антителами на поверхности лунки. В результате образуется связанный с пластиком «сэндвич», содержащий пероксидазу. Во время инкубации с раствором субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) происходит окрашивание растворов в лунках. Интенсивность окраски обратно пропорциональна концентрации свободного тироксина в исследуемом образце. Концентрацию свободного тироксина в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания свободного тироксина в калибровочных пробах.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Перекрестная реакция мышинных моноклональных антител к Т4 с другими аналитами приведена в таблице:

Аналит	Перекрестная реакция, %
L-тироксин	100
D-тироксин	30
Т3	0.5

3.2. Воспроизводимость.

Коэффициент вариации результатов определения содержания свТ4 в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «свТ4-ИФА» не превышает 8.0%.

3.3. Линейность.

Зависимость концентрации свТ4 в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей свТ4, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 5–100 пмоль/л и составляет $\pm 10.0\%$.

3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации свТ4 предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 10.0 пмоль/л. Процент «открытия» составляет 90–110%.

3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «свТ4-ИФА» концентрация свТ4 в сыворотке (плазме) крови не превышает 0.75 пмоль/л.

4. СОСТАВ НАБОРА

Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1	P214Z	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2	C214Z	Калибровочные пробы на основе сыворотки крови человека, содержащие известные количества свободного тироксина - 0; 5; 10; 25; 50; 100 пмоль/л , готовы к использованию (по 0.8 мл каждая)	6	шт.	прозрачные жидкости красного цвета (калибровочная проба 0 – прозрачная бесцветная жидкость)
3	Q214Z	Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием свободного тироксина, готова к использованию (0.8 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
4	T214Z	Конъюгат , 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 клейки планшета	2	шт.	-
9	K214I	Инструкция по применению Набора реагентов «свТ4-ИФА»	1	шт.	-
10	K214Q	Паспорт контроля качества Набора реагентов «свТ4-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 по 0.8 мл или по 4 мл каждой точки
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 $+37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$;
- 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 «свТ4-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 свТ4 в контрольной сыворотке.

8.7. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение Инструкции по применению Набора.

8.8. Не используйте компоненты из других наборов или из аналогичных наборов других серий.

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов – исследуемые образцы в 2 повторах и 14 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки.
2	Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 25 мкл калибровочной пробы и контрольной сыворотки. В остальные лунки внесите в дубликатах по 25 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови. Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
3	Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.
4	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте его в течение 60 минут при температуре +37 °С.
5	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз. При каждой отмывке добавьте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п. 7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок постукиванием планшета в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.
6	Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидаина. Внесение раствора субстрата тетраметилбензидаина в лунки необходимо произвести в течение 2–3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25°C) в течение 10–20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.
7	Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата 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 воздуху.
9	Постройте в полулогарифмических координатах калибровочный график: ось абсцисс (х) – десятичный логарифм концентрации свТ4 в калибровочных пробах (пмоль/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 пмоль/л к несущественно малой величине, например, 0.001 пмоль/л
10	Определите по калибровочному графику содержание свТ4 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 свТ4 в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0.75 пмоль/л), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (100 пмоль/л) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация свТ4 ниже 0.75 пмоль/л или выше 100 пмоль/л.

Исследуемая группа	Единицы, пмоль/л	
	Нижний предел	Верхний предел
здоровые доноры		
до 60 лет	10.0	25
старше 60 лет	10.0	21
Беременные:		
1-й триместр	9.0	26
2-й триместр	6.0	21
3-й триместр	6.0	21

11. ЛИТЕРАТУРА

1. Tietz, N. W., Fundamentals of Clinical Chemistry, 2nd Ed., pg. 602, Saunders Press, Phila., 1976.
2. Horworth, P. J. N., Ward, RL., J. Clin Pathol. 1972; 25:259-62.
3. Sati, C., Chatter, A. J., Watts, N. Fundamentals of Clinical Chemistry. Ed. Tietz, N. W. 3rd Ed., pg. 586. Saunders press Phila. 1987.
4. Lundberg, P. A., Jagenburg, R., Lindstedt, G., Nystrom, E., Clin. Chem. 1982, 28:1241.
5. Melmed, S., Geola, F. L., Reed, A. W., Pekary, A. E., Park, J., Hershmen, J. M., Clin Endocrin. Metabol. 1982, 54; 300.
6. Ingbar, S. H., et al. J. Clin. Invest., 1965, 44:1679.
7. Selenkow, H. A., and Robin, N. I., J. Maine Med. Assoc. 1970, 61:199.

По вопросам, касающимся качества Набора «**свТ4-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 THYROXIN IN HUMAN SERUM OR PLASMA

1. INTENDED USE

A solid-phase enzyme immunoassay for the quantitative determination of free thyroxin in blood serum or plasma.

This kit is designed for measurement of free thyroxin in blood serum or plasma. For possibility of use with other sample types, please, refer to Application Notes (on request). The kit contains reagents sufficient for 96 determinations and allows to analyze 41 unknown samples in duplicates.

2. SUMMARY AND EXPLANATION

Thyroid hormones thyroxin (T4) and 3,5,3'-triiodothyronine (T3) exert regulatory influences on growth, differentiation, cellular metabolism and development of skeletal and organ systems. T4 and T3 in blood are found both in free and bound form – mostly, they are bound to thyroxin binding globulin (TBG). Only free forms of T3 and T4 exert hormonal activity also their percentage is very low – 0.3% for T3 and 0.03% for T4.

The concentration of T4 is generally accepted as an index of thyroid function which provide enough information to differentiate between hyper-, hypo- and euthyroidism.

Elevation of total T4 is found in hyperthyroidism, in patients with tumours of pituitary gland, in subjects with elevated TBG level (pregnancy, acute or chronic active hepatitis, estrogen-secreting tumours or estrogen intake, hereditary elevation of TBG), in patients taking oral contraceptives, heroin, methadone, thyroid preparations, TSH, thyroliberin.

Low total T4 is found in hypothyroidism, in patients with panhypopituitarism, in subjects with low TBG level (acromegaly, nephritic syndrome, hypoproteinemia, chronic liver diseases, androgen-secreting tumours, hereditary reduction), in patients taking aminosalicilic and acetylsalicilic acids, cholestyramine, reserpine, potassium iodide, triiodothyronine.

3. PRINCIPLE OF THE TEST

This test is based on competition enzyme immunoassay principle. Tested specimen is placed into the microwells coated by specific murine monoclonal to T4-antibodies simultaneously with conjugated fT4-peroxidase. fT4 from the specimen competes with the conjugated fT4 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. KIT COMPONENTS

5.1. Contents of the Kit

Symbol	Description	Qty	Units	Colour code	Stability of opened/diluted components
1	T4 EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp.date
2	Calibrator set, 0.8 ml each. The set contains 6 calibrators: 0; 5; 10; 25; 50; 100 pmol/l	6	pcs	red (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 fT4 EIA	1	pcs		N/A
10	QC data sheet fT4 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;
- 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.
5	Prepare washing solution by 26X dilution of washing solution concentrate (BUF WASH 26X) by distilled water. Wash the strips 5 times.
6	Dispense 100 µl of SUBS TMB into the wells.
7	Incubate 10-20 minutes at +18...+25 °C.
8	Dispense 100 µl of STOP into the wells.
9	Measure OD (optical density) at 450 nm.
10	Set photometer blank on air.
11	Apply lin-log method for data reduction.

7.5. Handling notes

Calibrators and control sample(s) – only one freezing/thawing cycle is allowed

8. QUALITY CONTROL

It is recommended to use control samples according to state and federal regulations. The use of control samples is advised to assure the day to day validity of results.

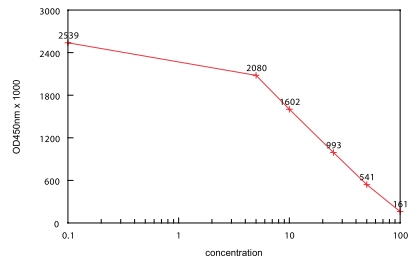
The test must be performed exactly as per the manufacturer's instructions for use. Moreover the user must strictly adhere to the rules of GLP (Good Laboratory Practice) or other applicable federal, state, and local standards and/or laws. This is especially relevant for the use of control reagents. It is important to always include, within the test procedure, a sufficient number of controls for validating the accuracy and precision of the test.

The test results are valid only if all controls are within the specified ranges and if all other test parameters are also within the given assay specifications.

9. CALCULATION OF RESULTS

1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.
2. Plot a calibration curve on graph paper: OD versus free thyroxin concentration.
3. Determine the corresponding concentration of free thyroxin in unknown samples from the calibration curve. Manual or computerized data reduction is applicable on this stage. Point-by-point or linear data reduction is recommended due to non-linear shape of curve.
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 pmol/l	2539
CAL 2	5 pmol/l	2080
CAL 3	10 pmol/l	1602
CAL 4	25 pmol/l	993
CAL 5	50 pmol/l	541
CAL 6	100 pmol/l	161



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 FT4. 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, pmol/l	
	Lower limit	Upper limit
Healthy donors		
<60 yrs	10.0	25
>60 yrs	10.0	21
Pregnancy week:		
1st trimester	9.0	26
2nd trimester	6.0	21
3rd trimester	6.0	21

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

Analyte	Cross-reactivity, % wt/wt
L-Thyroxin	100
D-Thyroxin	30
T3	0.5

11.2. Analytical sensitivity

Sensitivity of the assay was assessed as being 0.75 pmol/l.

11.3. Linearity


















Linearity was checked by assaying dilution series of 5 samples with different free thyroxin concentrations. Linearity percentages obtained ranged within 90 to 110%.

11.4. Recovery

Recovery was estimated by assaying 5 mixed samples with known free thyroxin concentrations. The recovery percentages ranged from 90 to 110%.

12. LITERATURE

1. Tietz, N. W., Fundamentals of Clinical Chemistry, 2nd Ed., pg. 602, Saunders Press, Phila., 1976.
2. Horworth, P. J. N., Ward, R.L., J. Clin Pathol. 1972; 25:259-62.
3. Sati, C., Chatter, A. J., Watts, N. Fundamentals of Clinical Chemistry. Ed. Tietz, N. W. 3rd Ed., pg. 586. Saunders press Phila. 1987.
4. Lundberg, P. A., Jagenburg, R., Lindstedt, G., Nystrom, E., Clin. Chem. 1982, 28:1241.
5. Melmed, S., Geola, F. L., Reed, A. W., Pekary, A. E., Park, J., Hershmen, J. M., Clin Endocrin. Metabol. 1982, 54; 300.
6. Ingbar, S. H., et al. J. Clin. Invest., 1965, 44:1679.
7. Selenkow, H. A., and Robin, N. I., J. Maine Med. Assoc. 1970, 61:199.

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;

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 поспособствует 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

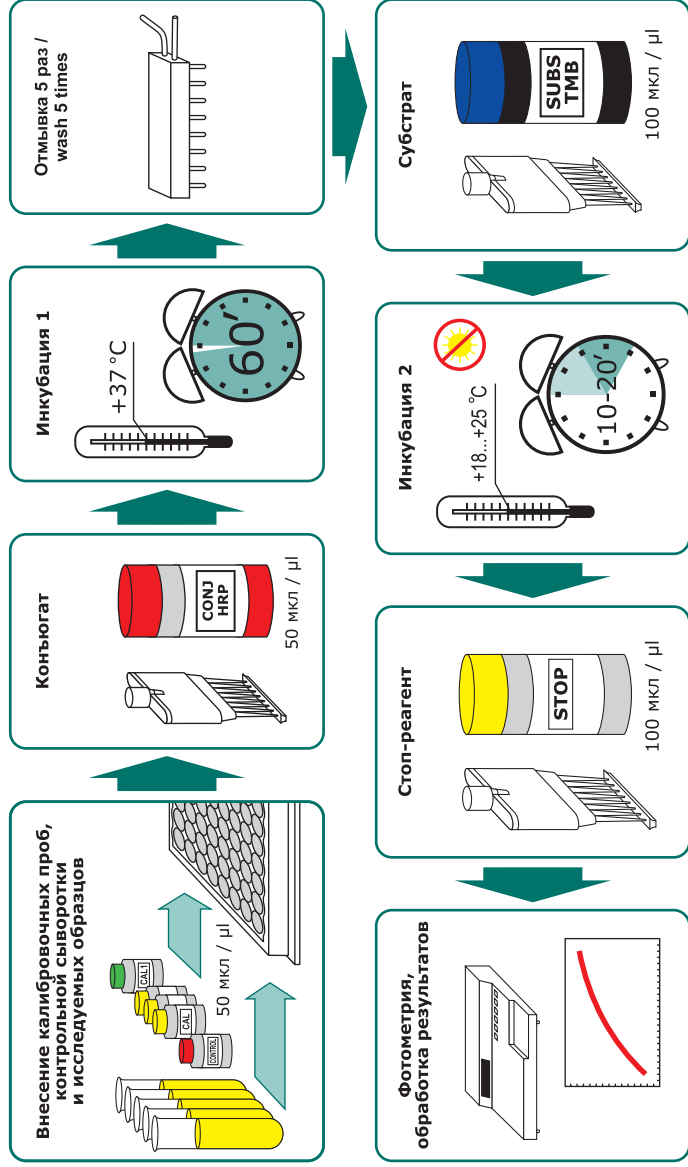
e-mail: redkin@xema-medica.com

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	1	шт.	-
2	C222Z	CAL 1-6	6	шт.	прозрачные жидкости красного цвета (калибровочная проба 0 – прозрачная бесцветная жидкость)
3	Q222Z	CONTROL	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
4	T222Z	CONJ HRP	1	шт.	прозрачная жидкость красного цвета
5	R055Z	SUBS TMB	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
6	S008Z	BUF WASH 26X	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
7	R050Z	STOP	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
8	N003	-	2	шт.	-
9	K222I	-	1	шт.	-
10	K222Q	-	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 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 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 синего окрашивания.
8	Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
9	Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм. Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра выставляйте по 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

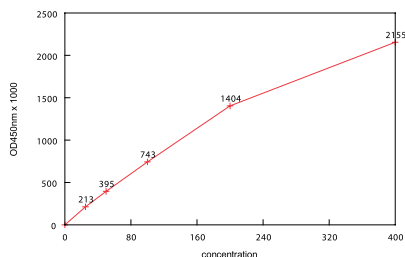
9.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

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



Ассоциация российских
производителей научно-технической
аппаратуры



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
СА19.9 В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ**

«СА19.9-ИФА»

**A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY
FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION
OF CA19.9 IN HUMAN SERUM OR PLASMA**

CA19.9 EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF** **K223**

ТУ № 9398-223-18619450-2010

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
№ ФСР 2010/09711 от 30 декабря 2010 г.

Антитела к ВИЧ 1,2, вирусу гепатита С и HBsAg отсутствуют
Контрольные сыворотки, входящие в состав набора, инактивированы.



For 96 determinations/На 96 определений



Для *in vitro* диагностики



XEMA Co., Ltd.

The 9th Parkovaya str., 48

105264 Moscow, Russia

Tel./fax: +7(495) 510-57-07

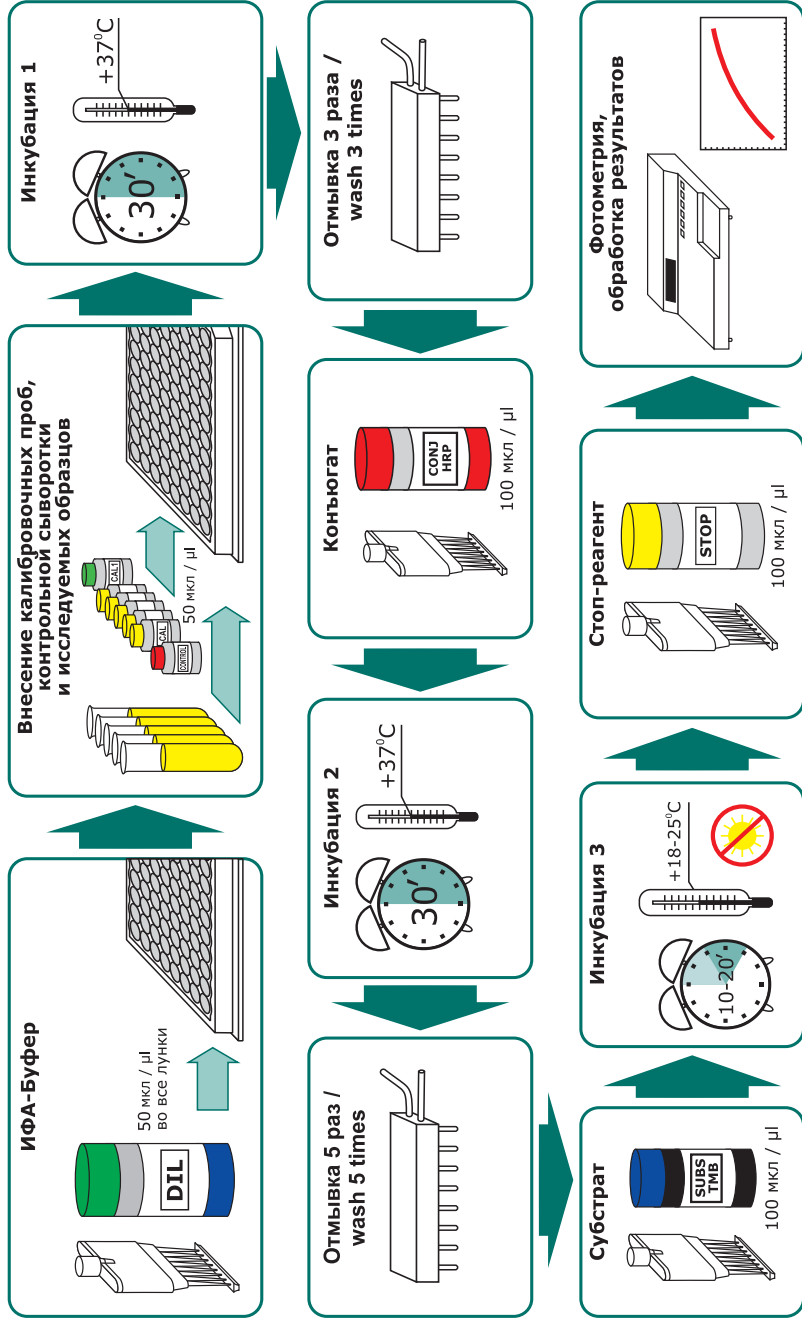
e-mail: redkin@xema-medica.com

internet: www.xema-medica.com



Authorized Representative in EU:
Polmed.de
Steinacker 20, D-73773
Aichwald, Germany
e-mail: info@polmed.de

Схема проведения анализа / Test procedure



K200; K223; K231

СОДЕРЖАНИЕ

1. НАЗНАЧЕНИЕ	2
2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА	2
3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	3
4. СОСТАВ НАБОРА	4
5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	5
6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ	5
7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА	5
8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА	6
9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА	7
10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ	8
11. ЛИТЕРАТУРА	9

CONTENT

1. INTENDED USE	10
2. SUMMARY AND EXPLANATION	10
3. PRINCIPLE OF THE TEST	11
4. WARNINGS AND PRECAUTIONS	11
5. KIT COMPONENTS	12
6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE	13
7. TEST PROCEDURE	13
8. QUALITY CONTROL	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 СА19.9 В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «СА19.9-ИФА»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «СА19.9-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации СА19.9 в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. СА19.9, или углеводный антиген Сиалил ЛьюисА, представляет собой антиген (эпитоп), ассоциированный с раком поджелудочной железы, печени, желудка, а также толстой и прямой кишки. Количественное определение СА19.9 в сыворотке или плазме крови, особенно одновременно с определением карциноэмбрионального антигена (КЭА, ХЕМА кат. № К224), полезно для контроля эффективности лечения и слежения за течением рака указанной локализации. Вместе с тем выведение антигена из циркуляции зависит от проходимости желчных путей, поэтому холестаз может вызвать неадекватное повышение уровня антигена в сыворотке. Кроме того, у некоторых индивидов отсутствует фермент, синтезирующий данную детерминанту; поэтому антиген СА19.9 у них не определяется, несмотря на наличие злокачественной опухоли. В связи с этим данные по содержанию СА19.9 всегда следует интерпретировать в комплексе с результатами других методов исследования и клиническими данными.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение СА19.9 основано на использовании «сэндвич»-варианта твердофазного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы мышинные моноклональные антитела к СА19.9 человека. В лунках планшета, при добавлении исследуемого образца, происходит связывание СА19.9, содержащегося в исследуемом образце, с антителами на твердой фазе. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата мышинных моноклональных антител к СА19.9 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 СА19.9 в исследуемом образце. Концентрацию СА19.9 в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания СА19.9 в калибровочных пробах.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Перекрестная реакция мышинных моноклональных антител к СА19.9 человека с другими аналитами приведена в таблице:

Аналит	Перекрестная реакция, %
КЭА	<0.1
СА15.3	<0.1
СА125	<0.1

3.2. Воспроизводимость.

Коэффициент вариации результатов определения содержания СА19.9 в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «СА19.9-ИФА» не превышает 8.0%.

3.3. Линейность.

Зависимость концентрации СА19.9 в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей СА19.9, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 12–240 Ед/мл и составляет $\pm 10.0\%$.

3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации СА19.9 предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 60 Ед/мл. Процент «открытия» составляет 90–110%.

3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «СА19.9-ИФА» концентрация СА19.9 в сыворотке (плазме) крови не превышает 1.0 Ед/мл.

4. СОСТАВ НАБОРА

Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1 P223Z	SORB MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2 C223Z	CAL 1-5	Калибровочные пробы на основе фосфатного буфера (рН 7.2-7.4), содержащие известные количества СА19.9 – 0; 12; 60; 120; 240 Ед/мл , готовы к использованию (калибровочная проба 0 Ед/мл – 6 мл, остальные – по 0.8 мл каждая)	5	шт.	прозрачные жидкости красного цвета (калибровочная проба 0 – прозрачная бесцветная жидкость)
3 Q223Z	CONTROL	Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием СА19.9, готова к использованию (0.8 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
4 T223Z	CONJ HRP	Конъюгат , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость красного цвета
5 S011Z	DIL	ИФА-Буфер , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость синего цвета
6 R055Z	SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
7 S008Z	BUF WASH 26X	Концентрат отмывочного раствора (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26х-кратный (22 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
8 R050Z	STOP	Стоп-реагент , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
9 N003	-	Бумага для заклеивания планшета	2	шт.	-
10 K223I	-	Инструкция по применению Набора реагентов «СА19.9-ИФА»	1	шт.	-
11 K223Q	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «СА19.9-ИФА»	1	шт.	-

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

5.1. Потенциальный риск применения Набора – класс 1 (ГОСТ Р 51609-2000).

5.2. Все компоненты Набора, за исключением стоп-реагента (5.0% раствор серной кислоты), в используемых концентрациях являются нетоксичными.

Раствор серной кислоты обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. При попадании на кожу и слизистые пораженный участок следует промыть большим количеством проточной воды.

5.3. При работе с Набором следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

5.4. При работе с Набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированный материал, способный длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность содержимого лунок планшета при длине волны 450 нм;
- термостат, поддерживающий температуру $+37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$;
- 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 «CA19.9-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. 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 CA19.9 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 СА19.9 в исследуемом образце превышает 240 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 во все лунки планшета по 50 мкл ИФА-Буфера.
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	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.
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.

Продолжение таблицы на стр. 8

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.
13	Постройте в линейных координатах калибровочный график: ось абсцисс (x) – концентрация СА19.9 в калибровочных пробах (Ед/мл), ось ординат (y) – оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма обсчета (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод.
14	Определите по калибровочному графику содержание СА19.9 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 концентрации СА19.9 в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (1.0 Ед/мл), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (240 Ед/мл) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация СА19.9 ниже 1.0 Ед/мл или выше 240 Ед/мл.

Исследуемая группа	Единицы, Ед/мл	
	Нижний предел	Верхний предел
Здоровые доноры	-	35

11. ЛИТЕРАТУРА

1. Glenn, J., Steinberg, W.M., Kurtzman, S.H., et al. Evaluation of the utility of a radioimmunoassay for serum CA 19-9 level in patients before and after treatment of carcinoma of the pancreas. J. Clin. Oncol. 1988; 6:462...+8.
2. Hayakawa, T., Kondo, T., Shibata, T. et al. Sensitive serum markers for detecting pancreatic cancer. Cancer 1988; 61:1827-31.
3. Koprowski, H., Herly, M., Steplewski, Z., et al. Specific antigen in serum of patients with colon carcinoma. Science 1981; 212:53-5.
4. Malesci, A., Tommasini, M.A., Bonato, C. et al. Determination of CA19-9 antigen in serum and pancreatic juice for differential diagnosis of pancreatic adenocarcinoma from chronic pancreatitis. Gastroenterology 1987; 92:60-7.
5. Safi, F, Roscher, R., Bittner, R., et al. High sensitivity and specificity of CA 19-9 for pancreatic carcinoma in comparison to chronic pancreatitis. Serological and immunohistochemical findings. Pancreas 1987; 2:398-403.
6. Steinberg, W. The clinical utility of CA 19-9 tumor associated antigen. American J. of Gastroenterology 1990; 85:350-355.
7. Steinberg, W.M., Gelfand, R., Anderson, K.K., et al. Comparison of the sensitivity and specificity of the CA 19-9 and carcinoembryonic antigen assays in detecting cancer of the pancreas. Gastroenterology 1986; 90:343-9.
8. Takasaki, H., Uchida, E., Tempero, M.A., et al. Correlative study on expression of CA 19-9 and DUPan-2 in tumor tissue and in serum of pancreatic cancer patients. Cancer Res. 1988; 48:1435-8.
9. Tatsuta, M., Yamamura, H., Iishi H., et al. Values of CA19-9 in the serum, pure pancreatic juice and aspirated pancreatic material in the diagnosis of malignant pancreatic tumor. Cancer 1985; 56:2669-73.
10. Wang, T.H. Lin, J.W., Chen, D.S., et al. Noninvasive diagnosis of advanced pancreatic cancer by realtime ultrasonography, carcinoembryonic antigen, and carbohydrate antigen 19-9. Pancreas 1986; 1:219-23.
11. Strom BL, Maislin G, West SL, et al. Serum CEA and CA19-9: potential future diagnostic or screening tests for gallbladder cancer? Int. J. Cancer 1990; 45:821.

По вопросам, касающимся качества Набора **«CA19.9-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 CA19.9
IN HUMAN SERUM OR PLASMA****1. INTENDED USE**

A solid-phase enzyme immunoassay for the quantitative determination of CA19.9 in blood serum or plasma.

This kit is designed for measurement of CA19.9 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

CA19.9 or sialyl-LewisA is an antigen (an epitope) associated with tumours of the gastrointestinal tract, such as pancreatic, liver, stomach and colorectal carcinoma. Quantitative determination of CA19.9 in serum and plasma is helpful in monitoring of patients where such tumours have been diagnosed, especially together with determination of carcinoembryonic antigen (CEA, XEMA Cat# K224). Increasing levels of CA 19.9 may indicate a progression of disease or poor therapeutic response while decreasing values point to the efficacy of treatment. However, the CA19.9 values obtained should always be interpreted in the context of the results obtained by other clinical procedures.

Determination of CA19.9 is not suitable for early diagnosis of malignancies because elevated CA19.9 values may also be found in patients with pancreatitis, cystic fibrosis as well as liver cirrhosis and other severe hepatic diseases, especially accompanied by cholestasis as the antigen is excreted with bile. Some individuals lack the enzyme responsible for synthesis of sialyl-LewisA antigen and therefore cannot respond by antigen elevation even to progressive tumour growth.

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 CA19.9-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 CA19.9, 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	CA19.9 EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp.date
2	Calibrator set, 0.8 ml each, zero calibrator C1 – 6 ml. The set contains 5 calibrators: 0; 12; 60; 120; 240 U/ml	5	pcs	red (C1 – colourless)	2 months
3	Control serum (0.8 ml)	1	pcs	colourless	2 months
4	Conjugate, 14 ml	1	pcs	red	until exp.date
5	EIA buffer, 14 ml	1	pcs	blue	until exp.date
6	Substrate solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
7	Washing solution concentrate 26X, 22 ml	1	pcs	colourless	Concentrate – until exp.date Diluted washing solution – 45 days at 2-8 °C or 15 days at RT
8	Stop solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
9	Plate sealing tape	2	pcs		N/A
10	Instruction CA19.9 EIA	1	pcs		N/A
11	QC data sheet CA19.9 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	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 EIA buffer into each well.
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 30 minutes at 37 °C.
6	Prepare washing solution by 26X dilution of washing solution concentrate BUF WASH 26X by distilled water. Minimal quantity of washing solution should be 250 µl per well. Wash strips 3 times.
7	Dispense 100 µl of CONJ HRP into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape.
8	Incubate 30 minutes at 37 °C.
9	Wash the strips 5 times.
10	Dispense 100 µl of SUBS TMB into the wells.
11	Incubate 10-20 minutes at +18...+25 °C.
12	Dispense 100 µl of STOP into the wells.
13	Measure OD (optical density) at 450 nm.
14	Set photometer blank on first calibrator.
15	Apply point-by-point method for data reduction.

7.5. 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

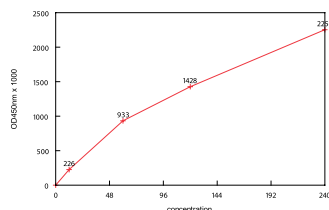
9.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

9.2. Plot a calibration curve on graph paper: OD versus CA19.9 concentration.

9.3. Determine the corresponding concentration of CA19.9 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	12 U/ml	0.27
CAL 3	60 U/ml	0.98
CAL 4	120 U/ml	1.48
CAL 5	240 U/ml	2.30



10. EXPECTED VALUES

Therapeutical consequences should not be based on results of IVD methods alone – all available clinical and laboratory findings should be used by a physician to elaborate therapeutically measures. Each laboratory should establish its own normal range for CA19.9. 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
Healthy donors	-	35

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

Analyte	Cross-reactivity, % wt/wt
CEA	<0.1
CA15.3	<0.1
CA125	<0.1


















11.2. Analytical sensitivity. Sensitivity of the assay was assessed as being 1.0 U/ml.

11.3. Linearity. Linearity was checked by assaying dilution series of 5 samples with different CA19.9 concentrations. Linearity percentages obtained ranged within 90 to 110%.

11.4. Recovery. Recovery was estimated by assaying 5 mixed samples with known CA19.9 concentrations. The recovery percentages ranged from 90 to 110%.

12. LITERATURE

1. Glenn, J., Steinberg, W.M., Kurtzman, S.H., et al. Evaluation of the utility of a radioimmunoassay for serum CA 19-9 level in patients before and after treatment of carcinoma of the pancreas. *J. Clin. Oncol.* 1988; 6:462...+8.
2. Hayakawa, T., Kondo, T., Shibata, T. et al. Sensitive serum markers for detecting pancreatic cancer. *Cancer* 1988; 61:1827-31.
3. Koprowski, H., Herly, M., Steplewski, Z., et al. Specific antigen in serum of patients with colon carcinoma. *Science* 1981; 212:53-5.
4. Malesci, A., Tommasini, M.A., Bonato, C. et al. Determination of CA19-9 antigen in serum and pancreatic juice for differential diagnosis of pancreatic adenocarcinoma from chronic pancreatitis. *Gastroenterology* 1987; 92:60-7.
5. Safi, F, Roscher, R., Bittner, R., et al. High sensitivity and specificity of CA 19-9 for pancreatic carcinoma in comparison to chronic pancreatitis. Serological and immunohistochemical findings. *Pancreas* 1987; 2:398-403.
6. Steinberg, W. The clinical utility of CA 19-9 tumor associated antigen. *American J. of Gastroenterology* 1990; 85:350-355.
7. Steinberg, W.M., Gelfand, R., Anderson, K.K., et al. Comparison of the sensitivity and specificity of the CA 19-9 and carcinoembryonic antigen assays in detecting cancer of the pancreas. *Gastroenterology* 1986; 90:343-9.
8. Takasaki, H., Uchida, E., Tempero, M.A., et al. Correlative study on expression of CA 19-9 and DUPan-2 in tumor tissue and in serum of pancreatic cancer patients. *Cancer Res.* 1988; 48:1435-8.
9. Tatsuta, M., Yamamura, H., Iishi H., et al. Values of CA19-9 in the serum, pure pancreatic juice and aspirated pancreatic material in the diagnosis of malignant pancreatic tumor. *Cancer* 1985; 56:2669-73.
10. Wang, T.H. Lin, J.W., Chen, D.S., et al. Noninvasive diagnosis of advanced pancreatic cancer by realtime ultrasonography, carcinoembryonic antigen, and carbohydrate antigen 19-9. *Pancreas* 1986; 1:219-23.
11. Strom BL, Maislin G, West SL, et al. Serum CEA and CA19-9: potential future diagnostic or screening tests for gallbladder cancer? *Int. J. Cancer* 1990; 45:821.

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



**НАБОР РЕАГЕНТОВ
ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
КАРЦИНОЭМБРИОНАЛЬНОГО АНТИГЕНА
В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ**

«КЭА-ИФА»

**A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY
FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION
OF CARCINOEMBRYONIC ANTIGEN
IN HUMAN SERUM OR PLASMA**

CEA EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF** **K224**

ТУ № 9398-034-18619450-2007

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
№ ФСР 2009/04163 от 2 октября 2013 года



For 96 determinations/На 96 определений



Для *in vitro* диагностики



XEMA Co., Ltd.

The 9th Parkovaya str., 48

105264 Moscow, Russia

Tel./fax: +7(495) 510-57-07

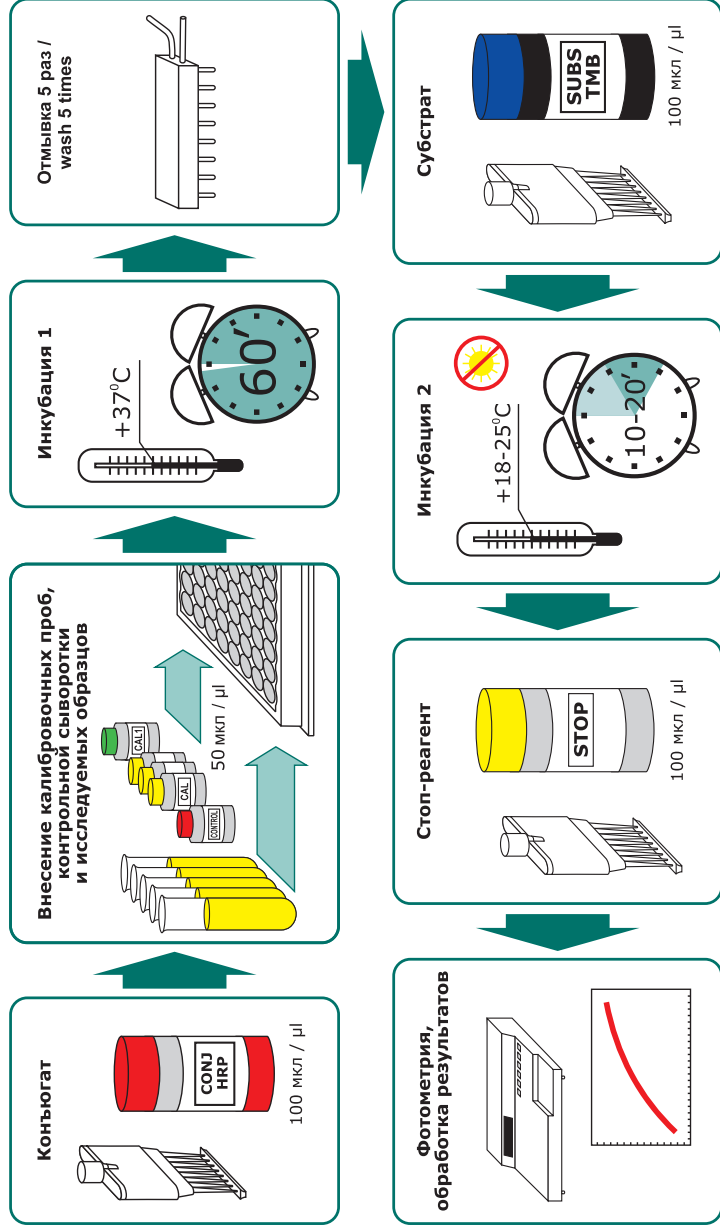
e-mail: redkin@xema-medica.com

internet: www.xema-medica.com



Authorized Representative in EU:
Polmed.de
Steinacker 20, D-73773
Aichwald, Germany
e-mail: info@polmed.de

Схема проведения анализа / Test procedure



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	8

CONTENT

1. INTENDED USE	9
2. SUMMARY AND EXPLANATION	9
3. PRINCIPLE OF THE TEST	9
4. WARNINGS AND PRECAUTIONS	10
5. KIT COMPONENTS	11
6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE	12
7. TEST PROCEDURE	12
8. QUALITY CONTROL	14
9. CALCULATION OF RESULTS	14
10. EXPECTED VALUES	15
11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS	15
12. LITERATURE	15

Инструкция составлена Руководителем службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА»,
к. б. н. Д. С. Кострикиным

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ КАРЦИНОЭМБРИОНАЛЬНОГО АНТИГЕНА В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «КЭА-ИФА»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «КЭА-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации карциноэмбрионального антигена в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Карциноэмбриональный антиген (КЭА) представляет собой семейство гликопротеинов с молекулярной массой 180–200 кДа, который в норме экспрессируется в тканях пищеварительной системы человека. Повышение уровня КЭА в сыворотке крови может предшествовать рецидиву рака толстой или прямой кишки – оно регистрируется в среднем за 4–6 месяцев до развития клинических проявлений рецидива. Хотя до 30% больных с рецидивом рака данной локализации не имеют повышенных уровней КЭА в сыворотке, периодическое определение концентрации КЭА имеет важное значение для слежения за больными после операции – повышение уровня КЭА свидетельствует о рецидиве рака. Повышение уровня КЭА отмечается и при ряде других эпителиальных опухолей, включая карциному молочной железы, желудка, бронхов, поджелудочной железы, пищевода, яичников и эндометрия. Определение содержания КЭА имеет наибольшее значение при оценке эффективности противоопухолевой терапии (химио-, радио- или иммунотерапии), а также при слежении за больными после оперативного удаления опухолей с целью своевременного обнаружения рецидива. Наличие в циркуляции веществ, имеющих крайне сходное с КЭА строение (NCA, NCA2), требует использования в тест-системе антител, имеющих высокую специфичность для КЭА. В данной тест-системе для «захвата» КЭА используется моноклональное антитело 3С6. В связи с частым повышением КЭА при доброкачественных состояниях (воспалительные заболевания кишечника, хронический бронхит и др.) определение уровня КЭА не рекомендуется использовать для скрининга нормальных популяций с целью диагностики карциномы.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение карциноэмбрионального антигена основано на использовании «сэндвич»-варианта твердофазного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы мышинные моноклональные антитела к КЭА человека. В лунках планшета, при добавлении исследуемого образца, происходит связывание КЭА, содержащегося в исследуемом образце, с антителами на твердой фазе. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата мышинных моноклональных антител к КЭА 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 карциноэмбрионального антигена в исследуемом образце. Концентрацию карциноэмбрионального антигена в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания карциноэмбрионального антигена в калибровочных пробах.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Перекрестная реакция мышинных моноклональных антител к КЭА человека с другими анализатами приведена в таблице:

Аналит	Перекрестная реакция, %
CA125	<0.1
CA19.9	<0.1
CA15.3	<0.1

3.2. Воспроизводимость.

Коэффициент вариации результатов определения содержания КЭА в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «КЭА-ИФА» не превышает 8.0%.

3.3. Линейность.

Зависимость концентрации КЭА в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей КЭА, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 2–64 нг/мл и составляет $\pm 10.0\%$.

3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации КЭА предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 4 нг/мл. Процент «открытия» составляет 90–110%.

3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «КЭА-ИФА» концентрация КЭА в сыворотке (плазме) крови не превышает 0.5 нг/мл.

4. СОСТАВ НАБОРА

Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1 P224Z	SORB MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2 C224Z	CAL 1 - 6	Калибровочные пробы на основе трис-буфера (pH 7.2-7.4), содержащие известные количества карциноэмбрионального антигена – 0; 2; 4; 8; 32; 64 нг/мл , готовы к использованию (калибровочная проба 0 нг/мл – 6 мл, остальные – по 0.8 мл каждая)	6	шт.	прозрачные жидкости красного цвета (калибровочная проба 0 – прозрачная бесцветная жидкость)
3 Q224Z	CONTROL	Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием карциноэмбрионального антигена, готова к использованию (0.8 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
4 T224Z	CONJ HRP	Конъюгат , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость красного цвета
5 R055Z	SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
6 S008Z	BUF WASH 26X	Концентрат отмывочного раствора (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26x-кратный (22 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
7 R050Z	STOP	Стоп-реагент , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
8 N003	-	Бумага для заклеивания планшета	2	шт.	-
9 K224I	-	Инструкция по применению Набора реагентов «КЭА-ИФА»	1	шт.	-
10 K224Q	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «КЭА-ИФА»	1	шт.	-

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

5.1. Потенциальный риск применения Набора – класс 2а (ГОСТ Р 51609-2000).

5.2. Все компоненты Набора, за исключением стоп-реагента (5.0% раствор серной кислоты), в используемых концентрациях являются нетоксичными.

Раствор серной кислоты обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. При попадании на кожу и слизистые пораженный участок следует промыть большим количеством проточной воды.

5.3. При работе с Набором следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

5.4. При работе с Набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированный материал, способный длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность содержимого лунок планшета при длине волны 450 нм;
- термостат, поддерживающий температуру $+37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$;
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы в диапазоне 25–250 мкл;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- бумага фильтровальная.

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

7.1. Перед проведением анализа компоненты Набора и исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови следует выдержать при комнатной температуре ($+18...+25\text{ }^{\circ}\text{C}$) не менее 30 мин.

7.2. Приготовление планшета.

Вскрыть пакет с планшетом и установить на рамку необходимое количество стрипов. Оставшиеся неиспользованными стрипы, чтобы предотвратить воздействие на них влаги, тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре $+2...+8\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности Набора.

7.3. Приготовление отмывочного раствора.

Содержимое флакона с концентратом отмывочного раствора (22 мл), перенести в мерный цилиндр вместимостью 1000 мл, добавить 550 мл дистиллированной воды и тщательно перемешать. В случае дробного использования Набора следует отобрать необходимое количество концентрата отмывочного раствора и развести дистиллированной водой в 26 раз (1 мл концентрата отмывочного раствора + 25 мл дистиллированной воды).

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

8.1. Набор реагентов «КЭА-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 карциноэмбрионального антигена 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 КЭА в исследуемом образце превышает 64 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 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 КЭА 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.
11	Определите по калибровочному графику содержание КЭА 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 КЭА в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0.5 нг/мл), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (64 нг/мл) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация КЭА ниже 0.5 нг/мл или выше 64 нг/мл.

Исследуемая группа	Единицы, нг/мл	
	Нижний предел	Верхний предел
некурящие	-	5.0
курильщики	-	10.0

11. ЛИТЕРАТУРА

- Hammarstrom S. The carcinoembryonic antigen (CEA) family: structures, suggested functions and expression in normal and malignant tissues. *Semin Cancer Biol* 1999; 9:67-81.
- Cancer Diagnosis – Information About Cancer – Stanford Cancer Center. Retrieved 2008-10-15.
- Gold P, Freedman SO. Demonstration of tumor-specific antigens in human colonic carcinomata by immunological tolerance and absorption techniques. *J Exp Med* 1965;121:439.

По вопросам, касающимся качества Набора «КЭА-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 CARCINOEMBRYONIC ANTIGEN IN HUMAN SERUM OR PLASMA

1. INTENDED USE

A solid-phase enzyme immunoassay for the quantitative determination of carcinoembryonic antigen in blood serum or plasma.

This kit is designed for measurement of carcinoembryonic antigen 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

Carcinoembryonic antigen (CEA) represents a family of heavily glycosylated glycoproteins with MW 180–200 kDa which is expressed and secreted by normal human gastrointestinal mucosa.

Serum CEA elevation may serve as the early laboratory marker of relapsing or metastatic colon or rectal carcinoma. Elevated serum CEA is observed in many other adenocarcinomas, including mammary, gastric, pulmonary, esophageal and ovarian; in some of these patients serum CEA may be used for disease monitoring.

In blood circulation, there are the substances showing high degree of similarity to CEA (NCA, NCA2); this fact requires the use of highly specific anti-CEA reagents. In a present test-system, we use for capturing CEA the monoclonal antibody 3C6 directed towards domain A3/B3, epitope Gold group I.

Due to high prevalence of serum CEA elevation in benign diseases (mucosal inflammations), this test system is not recommended for screening for malignant tumours.

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 CEA-antibodies. Antigen from the specimen is captured by the antibodies coated onto the microwell surface. Second antibodies – murine monoclonal to human CEA, 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	CEA EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp.date
2	Calibrator set, 0.8 ml each, zero calibrator C1 – 6 ml The set contains 6 calibrators: 0; 2; 4; 8; 32; 64 ng/ml	6	pcs	red (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 CEA EIA	1	pcs		N/A
10	QC data sheet CEA EIA	1	pcs		N/A

5.2. Equipment and material required but not provided

- Distilled or deionized water;
- Automatic or semiautomatic multichannel micropipettes, 100–250 µl, is useful but not essential;
- Calibrated micropipettes with variable volume, range volume 25–250 µl;
- Dry thermostat for 37 °C ±0.1 °C;
- Calibrated microplate photometer with 450 nm wavelength and OD measuring range 0–3.0.

5.3. Storage and stability of the Kit

Store the whole kit at +2...+8 °C upon receipt until the expiration date.

After opening the pouch keep unused microtiter wells **TIGHTLY SEALED BY ADHESIVE TAPE (INCLUDED)** to minimize exposure to moisture.

6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

This kit is intended for use with serum or plasma (ACD- or heparinized). Grossly hemolytic, lipemic, or turbid samples should be avoided.

Specimens may be stored for up to 48 hours at +2...+8 °C before testing. For a longer storage, the specimens should be frozen at -20 °C or lower. Repeated freezing/thawing should be avoided.

7. TEST PROCEDURE**7.1. Reagent Preparation**

- All reagents (including unsealed microstrips) should be allowed to reach room temperature (+18...+25 °C) before use.
- All reagents should be mixed by gentle inversion or vortexing prior to use. Avoid foam formation.
- It is recommended to spin down shortly the tubes with calibrators on low speed centrifuge.
- Prepare washing solution from the concentrate BUF WASH 26X by 26 dilutions in distilled water.

7.2. Procedural Note:

It is recommended that pipetting of all calibrators and samples should be completed within 3 minutes.

7.3. Assay flowchart

See the example of calibration graphic in Quality Control data sheet.

7.4. Assay procedure

1	Put the desired number of microstrips into the frame; allocate 14 wells for the calibrators CAL 1–6 and control samples CONTROL and two wells for each unknown sample. DO NOT REMOVE ADHESIVE SEALING TAPE FROM UNUSED STRIPS.
2	If suggested analyte concentration in the sample exceeds the highest calibrator, additionally dilute this sample accordingly, using zero calibrator. Use of other buffers or reagents for sample dilution may lead to incorrect measurement.
3	Dispense 100 µl of CONJ HRP into the wells.
4	Pipet 50 µl of calibrators CAL 1–6, control samples CONTROL and unknown samples into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape (included into the kit).
5	Incubate 60 minutes at +37 °C.
6	Prepare washing solution by 26X dilution of washing solution concentrate (BUF WASH 26X) by distilled water. Wash the strips 5 times.
7	Dispense 100 µl of SUBS TMB into the wells.
8	Incubate 10–20 minutes at 18...+25 °C.
9	Dispense 100 µl of STOP into the wells.
10	Measure OD (optical density) at 450 nm.
11	Set photometer blank on first calibrator.
12	Apply point-by-point method for data reduction.

7.5. Handling notes

Calibrators and control sample(s) – only one freezing/thawing cycle is allowed.

8. QUALITY CONTROL

It is recommended to use control samples according to state and federal regulations. The use of control samples is advised to assure the day to day validity of results.

The test must be performed exactly as per the manufacturer's instructions for use. Moreover the user must strictly adhere to the rules of GLP (Good Laboratory Practice) or other applicable federal, state, and local standards and/or laws. This is especially relevant for the use of control reagents. It is important to always include, within the test procedure, a sufficient number of controls for validating the accuracy and precision of the test.

The test results are valid only if all controls are within the specified ranges and if all other test parameters are also within the given assay specifications.

9. CALCULATION OF RESULTS

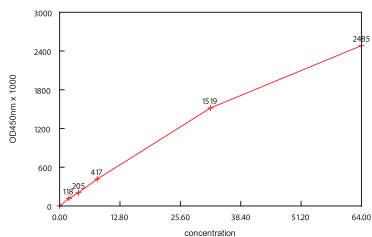
9.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

9.2. Plot a calibration curve on graph paper: OD versus carcinoembryonic antigen concentration.

9.3. Determine the corresponding concentration of carcinoembryonic antigen 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	0.09
CAL 2	2 ng/ml	0.21
CAL 3	4 ng/ml	0.30
CAL 4	8 ng/ml	0.51
CAL 5	32 ng/ml	1.61
CAL 6	64 ng/ml	2.58



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 CEA. 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
Non-smokers	-	5.0
Smokers	-	10.0

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

Analyte	Cross-reactivity, % wt/wt
CA125	<0.1
CA19.9	<0.1
CA15.3	<0.1

11.2. Analytical sensitivity

Sensitivity of the assay was assessed as being 0.5 ng/ml.

11.3. Linearity


















Linearity was checked by assaying dilution series of 5 samples with different Carcinoembryonic antigen 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%.

12. LITERATURE

1. Hammarstrom S. The carcinoembryonic antigen (CEA) family: structures, suggested functions and expression in normal and malignant tissues. *Semin Cancer Biol* 1999; 9:67-81.
2. Cancer Diagnosis – Information About Cancer – Stanford Cancer Center. Retrieved 2008-10-15.
3. Gold P, Freedman SO. Demonstration of tumor-specific antigens in human colonic carcinomata by immunological tolerance and absorption techniques. *J Exp Med* 1965;121:439.

Символ / Symbol	Значение символа / Symbolize
	Производитель / Manufacturer
	Дата производства / Date of manufacture
	Номер по каталогу / Catalogue number
	Номер серии / Batch code
	Использовать до (год-месяц) / Use By
	Ограничение температуры / Temperature limitation
	Только для ин витро диагностики / In Vitro Diagnostic Medical Device
	Внимание! / Caution, consult accompanying documents
	Не использовать при нарушении целостности упаковки / Do not use if package damaged
	Планшет / EIA strips
	Калибровочные пробы / Calibrator set
	Контрольная сыворотка / Control sera
	Конъюгат / Conjugate
	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) / Substrate solution
	Концентрат отмывочного раствора / Washing solution concentrate
	Стоп-реагент / Stop solution
	ИФА-Буфер / EIA buffer

Уважаемый Клиент!

Если в процессе работы с нашими наборами Вам понадобились пластиковые ванночки для жидких реагентов, одноразовые наконечники для дозаторов или дополнительные объемы реагентов (концентрат отмывочного раствора, ИФА-Буфер, раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), стоп-реагент), входящих в состав Набора, просим Вас обратиться к поставщику продукции ООО «ХЕМА» в Вашем регионе.

Все указанные расходные материалы предоставляются бесплатно, в необходимом для проведения анализа количестве.

Перечень наборов реагентов для диагностики инфекционных заболеваний производства ООО «ХЕМА»

№ по каталогу	Наименование
K101	«Toxoplasma IgG-ИФА»
K101M	«Toxoplasma IgM-ИФА»
K102	«Rubella IgG-ИФА»
K102M	«Rubella IgM-ИФА»
K103	«Cytomegalovirus IgG-ИФА»
K103M	«Cytomegalovirus IgM-ИФА»
K104	«HSV 1,2 IgG-ИФА»
K104M	«HSV 1,2 IgM-ИФА»
K105	«Chlamydia IgG-ИФА»
K106	«Mycoplasma IgG-ИФА»
K111G	«Сифилис IgG-ИФА»
K111	«Сифилис суммарные антитела-ИФА»
K121	«Aspergillus IgG-ИФА»



Russian Diagnostic
Manufacturers Association



Российская ассоциация
производителей средств лабораторной
диагностики



Russian Association
of Medical Laboratory
Diagnosticians



Российская ассоциация
медицинской лабораторной
диагностики

Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

8 800 505 23 45

Все звонки на номер горячей линии бесплатны для звонящего с любого мобильного или стационарного телефона по всей территории России.

Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

105043, г. Москва, а/я 58

105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1-й под., 5 этаж

тел.: +7 (495) 510-57 07, 737-39-36;

факс: +7 (495) 737-00-40

e-mail: info@xema.ru

www.xema-medica.com

ФООО «Хема», тел.: +7 (812) 271-24-41

191144, Санкт-Петербург, Дегтярный пер., д. 8-10, литер А

e-mail: spb@xema.ru

СП ООО «Хемма-Тест», тел.: (17) 211-80-39

Офис: 220029, Минск, Проспект Машерова, д. 11,

литер А, корп. 8/К, офис 416

e-mail: hemma-test@yandex.ru

ТОВ «Хема», тел.: (044) 422-62-16;

03176, г. Киев, ул. Академика Ефремова, д. 23;

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com





Instruction for use



**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
НАБОРА РЕАГЕНТОВ
ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
АНТИГЕНА CA15.3 (M12)
В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ**

«CA15.3 (M12)-ИФА»

**A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY
FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION
OF CA15.3 (M12) IN HUMAN SERUM OR PLASMA**

CA15.3 (M12) EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF** **K226**

ТУ № 9398-226-18619450-2010

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
№ ФСР 2010/09708 от 30 декабря 2010 г.

Антитела к ВИЧ 1,2, вирусу гепатита С и HBsAg отсутствуют
Контрольные сыворотки, входящие в состав набора, инактивированы.



For 96 determinations/На 96 определений



Для *in vitro* диагностики



XEMA Co., Ltd.

The 9th Parkovaya str., 48

105264 Moscow, Russia

Tel./fax: +7(495) 510-57-07

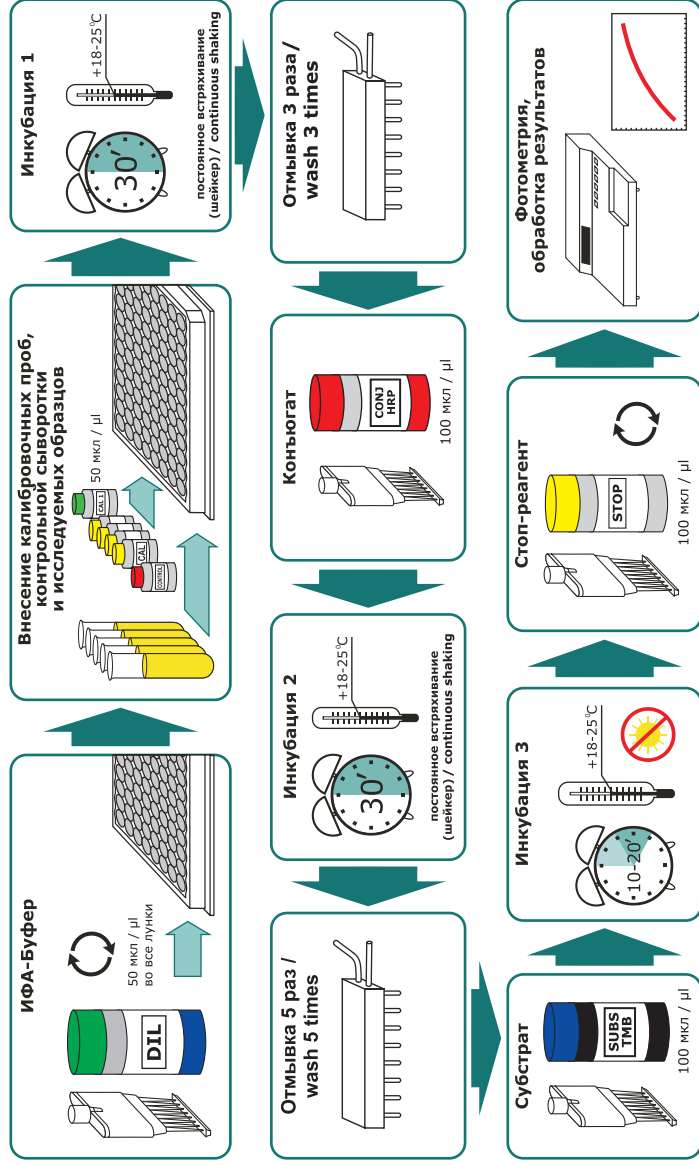
e-mail: redkin@xema-medica.com

internet: www.xema-medica.com



Authorized Representative in EU:
Polmed.de
Steinacker 20, D-73773
Aichwald, Germany
e-mail: info@polmed.de

Схема проведения анализа / Test procedure



K226; K227

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 АНТИГЕНА CA15.3 (M12) В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «CA15.3 (M12)-ИФА»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «CA15.3 (M12)-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации антигена CA15.3 (M12) в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Антиген MUC1 представляет собой гликопротеин гетерогенного состава с молекулярной массой 300–450 кДа. Уровень MUC1 в крови повышается при раке молочной железы (РМЖ). Определение MUC1 в сыворотке или плазме крови используется для мониторинга РМЖ, оценки эффективности лечения и выявления рецидива или метастазов. Данный набор сделан по принципу «гетерогенного сэндвича» – в нем использованы два моноклональных антитела (X108 и X19), выявляющих уникальный иммунодоминантный пептидный повтор TRPAPGS гликопротеина MUC1. Подобные наборы более специфичны, чем тест-системы, сделанные по принципу «гомогенного сэндвича» (например, «MUC1 (M22)-ИФА», кат. № K227 «ХЕМА», или MCA, Roche) или конкурентного связывания (например, «MUC1 (M20)-ИФА», кат. № K228 «ХЕМА», или BR27.29, Fujirebio), но обладают невысокой чувствительностью (не более 75% даже при III стадии РМЖ). Поэтому для оценки эффективности хирургического лечения рекомендуем определять антиген MUC1, используя все три тест-системы (M12, M20 и M22) до и после резекции опухоли. Для дальнейшего послеоперационного мониторинга целесообразно использовать только одну тест-систему, показавшую:

- 1) наибольший послеоперационный спад в %;
- 2) при сравнимых значениях этого показателя – более высокое значение концентрации относительно рекомендуемого cut-off.

Если больная не была обследована до операции (например, при отсроченном рецидиве), мы рекомендуем динамическое определение всех трех маркеров (M12, M20 и M22). Кроме РМЖ, повышение уровня MUC1 в крови может наблюдаться при раке легких, яичников, предстательной железы, шейки матки и желудочно-кишечного тракта. Повышение содержания MUC1 может развиваться и при некоторых доброкачественных процессах: доброкачественных опухолях молочной железы и яичников, эндометриозе, гепатите, циррозе печени, фиброзе легких. Беременность и лактация также могут приводить к повышению уровня MUC1.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение антигена СА15.3 (М12) основано на использовании «сэндвич»-варианта твердофазного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы мышинные моноклональные антитела к СА15.3 человека. В лунках планшета, при добавлении исследуемого образца, происходит связывание СА15.3 (М12), содержащегося в исследуемом образце, с антителами на твердой фазе. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата мышинных моноклональных антител к СА15.3 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 антигена СА15.3 (М12) в исследуемом образце. Концентрацию антигена СА15.3 (М12) в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания антигена СА15.3 (М12) в калибровочных пробах.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Перекрестная реакция мышинных моноклональных антител к СА15.3 человека с другими аналитами приведена в таблице:

Аналит	Перекрестная реакция, %
КЭА	<0.1
СА125	<0.1
СА19.9	<0.1

3.2. Воспроизводимость.

Коэффициент вариации результатов определения содержания СА15.3 (М12) в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «СА15.3 (М12)-ИФА» не превышает 8.0%.

3.3. Линейность.

Зависимость концентрации СА15.3 (М12) в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей СА15.3 (М12), имеет линейный характер в диапазоне концентраций 12.5–250 Ед/мл и составляет $\pm 10.0\%$.

3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации СА15.3 (М12) предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 50 Ед/мл. Процент «открытия» составляет 90–110%.

3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «СА15.3 (М12)-ИФА» концентрация СА15.3 (М12) в сыворотке (плазме) крови не превышает 0.75 Ед/мл.

4. СОСТАВ НАБОРА

	Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1	P226Z	SORB MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2	C226Z	CAL 1-5	Калибровочные пробы на основе фосфатного буфера (pH 7.2-7.4), содержащие известные количества СА15.3 (M12) – 0; 12.5; 50; 125; 250 Ед/мл , готовы к использованию (по 0.8 мл каждая)	5	шт.	прозрачные жидкости красного цвета (калибровочная проба 0 – прозрачная бесцветная жидкость)
3	Q226Z	CONTROL	Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием антигена СА15.3 (M12), готова к использованию (0.8 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
4	T226Z	CONJ HRP	Конъюгат , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость красного цвета
5	S011Z	DIL	ИФА-Буфер , готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная жидкость синего цвета
6	R055Z	SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
7	S008Z	BUF WASH 26X	Концентрат отмывочного раствора (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26х-кратный (22 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
8	R050Z	STOP	Стоп-реагент , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
9	N003	-	Бумага для заклеивания планшета	2	шт.	-
10	K226I	-	Инструкция по применению Набора реагентов «СА15.3 (M12)-ИФА»	1	шт.	-
11	K226Q		Паспорт контроля качества Набора реагентов «СА15.3 (M12)-ИФА»	1	шт.	

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

5.1. Потенциальный риск применения Набора – класс 1 (ГОСТ Р 51609-2000).

5.2. Все компоненты Набора, за исключением стоп-реагента (5.0% раствор серной кислоты), в используемых концентрациях являются нетоксичными.

Раствор серной кислоты обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. При попадании на кожу и слизистые пораженный участок следует промыть большим количеством проточной воды.

5.3. При работе с Набором следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

5.4. При работе с Набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированный материал, способный длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность содержимого лунок планшета при длине волны 450 нм;
- орбитальный шейкер (встряхиватель) для микропланшет, скорость 600–800 об./мин.
- 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 «CA15.3 (M12)-ИФА» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности, указанного на упаковке Набора.

Допускается хранение (транспортировка) Набора при температуре до +25 °С не более 15 суток. Не допускается замораживание целого набора.

8.2. Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 42 исследуемых образцов, 5 калибровочных проб и 1 пробы контрольной сыворотки (всего 96 определений).

8.3. В случае дробного использования Набора компоненты следует хранить следующим образом:

- оставшиеся неиспользованными стрипы необходимо тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- ИФА-Буфер, конъюгат, субстрат, стоп-реагент после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- калибровочные пробы и контрольную сыворотку после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °С не более 2 месяцев;
- оставшийся неиспользованным концентрат отмывочного раствора следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- приготовленный отмывочный раствор следует хранить при комнатной температуре (+18...+25 °С) не более 15 суток или при температуре +2...+8 °С не более 45 суток;

Примечание. После использования реагента немедленно закрывайте крышку флакона. Закрывайте каждый флакон своей крышкой.

8.4. Для проведения анализа не следует использовать гемолизированную, мутную сыворотку (плазму) крови, а также сыворотку (плазму) крови, содержащую азид натрия. Если анализ производится не в день взятия крови, сыворотку (плазму) следует хранить при температуре -20 °С. Повторное замораживание-оттаивание образцов сыворотки (плазмы) крови не допускается. Допускается исследование сывороток, хранение которых с момента забора крови осуществлялось при температуре от +2 °С до +8 °С не более 7 суток.

8.5. Исключается использование для анализа образцов сыворотки (плазмы) крови людей, получавших в целях диагностики или терапии препараты, в состав которых входят мышинные антитела.

8.6. При использовании Набора для проведения нескольких независимых серий анализов следует иметь в виду, что для каждого независимого определения необходимо построение нового калибровочного графика; кроме этого, рекомендуется определение концентрации антигена CA15.3 (M12) 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 SA15.3 (M12) в исследуемом образце превышает 250 Ед/мл, его следует дополнительно развести, используя ИФА-Буфер (S011Z). 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 50 мкл ИФА-Буфера.
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	Аккуратно перемешайте содержимое планшета круговыми движениями по горизонтальной поверхности, закройте планшет бумагой для заклеивания планшета. Инкубируйте планшет в течение 30 минут при температуре +18...+25 °С и постоянном встряхивании со скоростью 600–800 об./мин.
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 +18...+25 °С и постоянном встряхивании со скоростью 600–800 об./мин.
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.

продолжение таблицы на стр. 8

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.
13	Постройте в линейных координатах калибровочный график: ось абсцисс (x) – концентрация SA15.3 (M12) в калибровочных пробах (Ед/мл), ось ординат (y) – оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма обсчета (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод.
14	Определите по калибровочному графику содержание SA15.3 (M12) 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 SA15.3 (M12) в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0.75 Ед/мл), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (250 Ед/мл) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация SA15.3 (M12) ниже 0.75 Ед/мл или выше 250 Ед/мл.

Исследуемая группа	Единицы, Ед/мл	
	Нижний предел	Верхний предел
Мужчины	-	30
Женщины	-	30
Беременные:		
1-й триместр	-	55
2-й триместр	5.0	65
3-й триместр	5.0	185
В период лактации	-	120

11. ЛИТЕРАТУРА

1. McGuire WL, Tandon AK, Allred D, Chamnes GC, Clark GM. How to use prognostic factors in axillary node negative breast cancer patients. J Natl Cancer Inst 1990; 82:1006-7.
2. Nicholson S, Richard J, Sainsbury C, et al. Epidermal growth factor receptor (EGFr): results of a 6-year follow up study in operable breast cancer with emphasis on the node-negative subgroup. Br J Cancer 1991; 63:146-50.
3. Somerville JE, Clarke LA, Biggart JD. C-erb B-2 overexpression and histological type of in-situ and invasive breast carcinoma. J Clin Pathol 1992;45-16-20.
4. Ueronese S, Gambacorta M. Detection of Ki-67 rate in breast cancer. AM J Clin Pathol 1991; 95:30-4.
5. Lotnickier M, Pavesi F, Scarabelli M. Tumor associated antigens CA15-3 and CA125 in ovarian cancer. Int. J. Biolog Markers 1991; 6:115

По вопросам, касающимся качества Набора **«CA15.3 (M12)-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 CA15.3 (M12) IN HUMAN SERUM OR PLASMA

1. INTENDED USE

A solid-phase enzyme immunoassay for the quantitative determination of CA15.3 (M12) in serum or plasma.

This kit is designed for measurement of CA15.3 (M12) in serum or plasma. For possibility of use with other sample types, please, refer to Application Notes (on request). The kit contains reagents sufficient for 96 determinations and allows to analyze 42 unknown samples in duplicates.

2. SUMMARY AND EXPLANATION

CA15-3 or MUC1 is a heterogenous glycoprotein with a molecular mass ca. 300-450 kD. Elevation of serum CA15-3 is associated with mammary carcinomas. Quantitative determination of CA15-3 in serum and plasma is helpful in monitoring of patients with such tumours to estimate the course of the disease, effectiveness of its treatment and to reveal recurrence or metastases. However, CA15-3 values obtained should always be interpreted in context of results obtained by other diagnostic and clinical procedures. Besides mammary carcinomas, CA15-3 levels in blood may rise in lung tumours, prostate cancer, ovarian carcinomas, gastro-intestinal tumours. Elevation of CA15-3 level in blood can be also found in benign tumours of the mammary gland and the ovary, endometriosis, hepatitis, liver cirrhosis and lung fibrosis. Pregnancy and lactation may also cause elevation of CA15-3 level in serum.

All CA15-3 test systems are usually not very sensitive (not more than 75% even at stage III mammary carcinoma). Therefore, in monitoring of tumours, we recommend to use this test in conjunction with two other test systems designed by XEMA for diagnostics and monitoring of mammary carcinomas – M20 (analogous to BR27.29 developed by Biomira) and M22 (analogous to MCA, Roche). All three systems should be used to evaluate MUC1 concentration before and after surgery; the test system showing the most pronounced postsurgery decline should be then used for further monitoring.

NOTE: the patients that have received murine monoclonal antibodies for radioimaging or immunotherapy may develop high titered anti-mouse antibodies (HAMA). The presence of these antibodies gives false results in the present assay. Sera from HAMA positive patients should be treated by depleting adsorbents before assaying.

3. PRINCIPLE OF THE TEST

This test is based on two-site sandwich enzyme immunoassay principle. Tested specimen is placed into the microwells coated by specific murine monoclonal to human CA15.3-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 CA15.3, 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. KIT COMPONENTS

5.1. Contents of the Kit

Symbol	Description	Qty	Units	Colour code	Stability of opened/diluted components	
1	SORB MTP CA15.3 (M12) EIA strips, 8x12 wells	polystyrene microwells coated with murine monoclonal to human CA15.3	1	pcs	until exp.date	
2	CAL 1-5 Calibrator set, 0.8 ml each. The set contains 5 calibrators: 0.12, 0.5, 50, 125, 250 U/ml	human CA15.3 (M12) diluted in phosphate buffered of preselected horses serum, casein solution, preservative – 0.1% phenol; also contains red dye	5	pcs	red (C1 – colourless)	2 months
3	CONTROL Control serum (0.8 ml)	dilution of preselected human serum, with high content of CA15.3 (M12) with casein solution, preservative – 0.1% phenol, colourless	1	pcs	colourless	2 months
4	CONJ HRP 14 ml	aqueous solution of murine monoclonal to human CA15.3 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	DIL EIA buffer 14 ml	phosphate buffered saline with casein from bovine milk and detergent (Tween-20), contains 0.1% phenol as preservative; contains blue dye	1	pcs	blue	until exp.date
6	SUBS TMB Substrate solution, 14 ml	ready-to-use single-component tetramethylbenzidine (TMB) solution.	1	pcs	colourless	until exp.date
7	BUF WASH 26X Washing solution concentrate 26X, 22 ml	aqueous solution of sodium chloride and detergent (Tween 20), contains proClin300 as a preservative	1	pcs	colourless	Concentrate – until exp.date Diluted washing solution 45 days at 2-8 °C or 15 days at RT
8	STOP Stop solution, 14 ml	5.0% vol/vol solution of sulphuric acid	1	pcs	colourless	until exp.date
9	N003 Plate sealing tape		2	pcs		N/A
10	K226I Instruction CA15.3 (M12) EIA		1	pcs		N/A
11	K226Q QC data sheet CA15.3 (M12) 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;
- Microtiter plate shaker. Shaking should be medium to vigorous. Longitudinal shaking approximately 200 strokes/min, oscillations 600–800/min;
- 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	If suggested analyte concentration in the sample exceeds the highest calibrator, additionally dilute this sample accordingly, using DIL (EIA buffer). Use of other buffers or reagents for sample dilution may lead to incorrect measurement.
3	Pipet 50 µl of EIA buffer into each well.
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 30 minutes at +18...+25 °C and continuous shaking at 600-800 rpm.
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 +18...+25 °C and continuous shaking at 600-800 rpm.
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

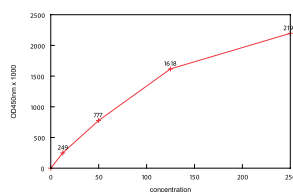
9.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

9.2. Plot a calibration curve on graph paper: OD versus CA15.3 (M12) concentration.

9.3. Determine the corresponding concentration of CA15.3 (M12) 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	0.06
CAL 2	12.5 U/ml	0.31
CAL 3	50 U/ml	0.84
CAL 4	125 U/ml	1.68
CAL 5	250 U/ml	2.26



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 CA15.3 (M12). 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	-	30
Females	-	30
Pregnancy:		
1st trimester	-	55
2nd trimester	5.0	65
3rd trimester	5.0	185
Lactation	-	120

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

Analyte	Cross-reactivity, % wt/wt
CEA	<0.1
CA125	<0.1
CA19.9	<0.1

11.2. Analytical sensitivity

Sensitivity of the assay was assessed as being 0.75 U/ml.

11.3. Linearity


















Linearity was checked by assaying dilution series of 5 samples with different CA15.3 (M12) concentrations. Linearity percentages obtained ranged within 90 to 110%.

11.4. Recovery

Recovery was estimated by assaying 5 mixed samples with known CA15.3 (M12) concentrations. The recovery percentages ranged from 90 to 110%.

12. LITERATURE

- McGuire WL, Tandon AK, Allred D, Chamnes GC, Clark GM. How to use prognostic factors in axillary node negative breast cancer patients. J Natl Cancer Inst 1990; 82:1006-7.
- Nicholson S, Richard J, Sainsbury C, et al. Epidermal growth factor receptor (EGFr): results of a 6-year follow up study in operable breast cancer with emphasis on the node-negative subgroup. Br J Cancer 1991; 63:146-50.
- Somerville JE, Clarke LA, Biggart JD. C-erb B-2 overexpression and histological type of in-situ and invasive breast carcinoma. J Clin Pathol 1992;45-16-20.
- Ueronese S, Gambacorta M. Detection of Ki-67 rate in breast cancer. AM J Clin Pathol 1991; 95:30-4.
- Lotnickner M, Pavesi F, Scarabelli M. Tumor associated antigens CA15-3 and CA125 in ovarian cancer. Int. J. Biolog Markers 1991; 6:115

Символ / Symbol	Значение символа / Symbolize
	Производитель / Manufacturer
	Дата производства / Date of manufacture
	Номер по каталогу / Catalogue number
	Номер серии / Batch code
	Использовать до (год-месяц) / Use By
	Ограничение температуры / Temperature limitation
	Только для ин витро диагностики / In Vitro Diagnostic Medical Device
	Внимание! / Caution, consult accompanying documents
	Не использовать при нарушении целостности упаковки / Do not use if package damaged
	Планшет / EIA strips
	Калибровочные пробы / Calibrator set
	Контрольная сыворотка / Control sera
	Конъюгат / Conjugate
	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) / Substrate solution
	Концентрат отмывочного раствора / Washing solution concentrate
	Стоп-реагент / Stop solution
	ИФА-Буфер / EIA buffer

Уважаемый Клиент!

Если в процессе работы с нашими наборами Вам понадобились пластиковые ванночки для жидких реагентов, одноразовые наконечники для дозаторов или дополнительные объемы реагентов (концентрат отмывочного раствора, ИФА-Буфер, раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), стоп-реагент), входящих в состав Набора, просим Вас обратиться к поставщику продукции ООО «ХЕМА» в Вашем регионе.

Все указанные расходные материалы предоставляются бесплатно, в необходимом для проведения анализа количестве.

Перечень наборов реагентов для диагностики инфекционных заболеваний производства ООО «ХЕМА»

№ по каталогу	Наименование
K101	«Toxoplasma IgG-ИФА»
K101M	«Toxoplasma IgM-ИФА»
K102	«Rubella IgG-ИФА»
K102M	«Rubella IgM-ИФА»
K103	«Cytomegalovirus IgG-ИФА»
K103M	«Cytomegalovirus IgM-ИФА»
K104	«HSV 1,2 IgG-ИФА»
K104M	«HSV 1,2 IgM-ИФА»
K105	«Chlamydia IgG-ИФА»
K106	«Mycoplasma IgG-ИФА»
K111G	«Сифилис IgG-ИФА»
K111	«Сифилис суммарные антитела-ИФА»
K121	«Aspergillus IgG-ИФА»



Russian Diagnostic
Manufacturers Association



Классический российский
производитель средств лабораторной
диагностики



Russian Association
of Medical Laboratory
Diagnosticians



Российская ассоциация
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
АНТИГЕНА CYFRA 21-1
В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ**

«CYFRA 21-1-ИФА»

**A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY
FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION
OF ANTIGEN CYFRA 21-1 IN HUMAN
SERUM OR PLASMA**

CYFRA 21-1 EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ REF **K236**

ТУ № 9398-236-18619450-2010

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
№ ФСР 2010/08050 от 22 июня 2010 г.

Антитела к ВИЧ 1,2, вирусу гепатита С и HBsAg отсутствуют
Контрольные сыворотки, входящие в состав набора, инактивированы.



For 96 determinations/На 96 определений



Для *in vitro* диагностики

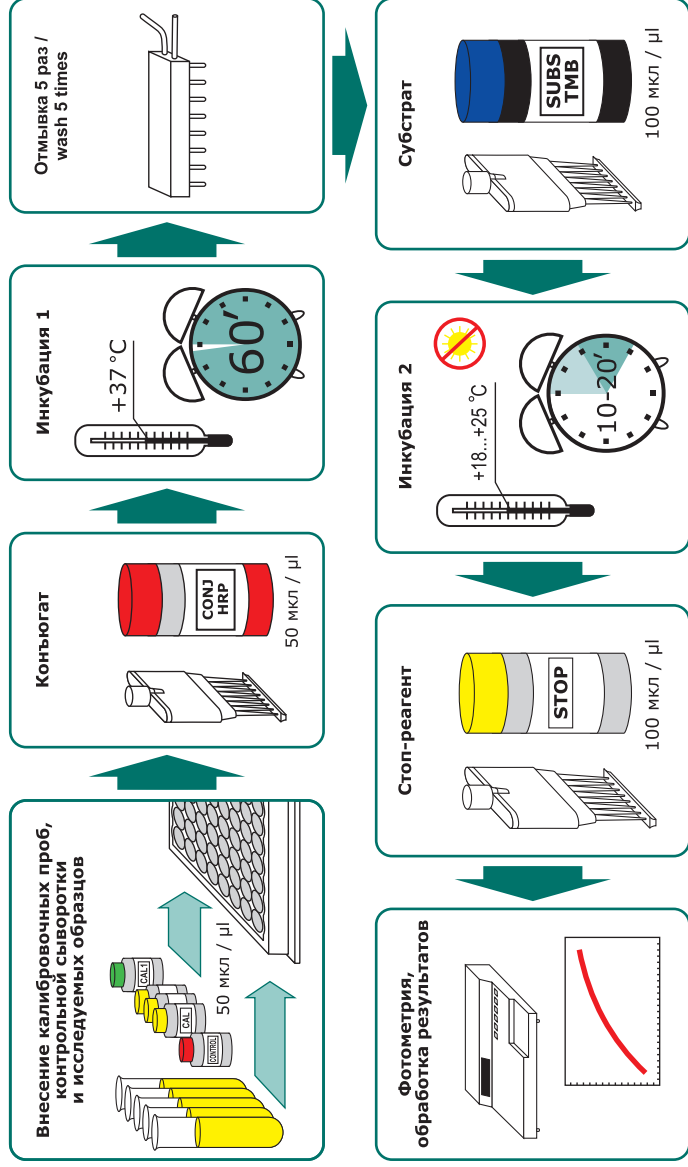


XEMA Co., Ltd.
The 9th Parkovaya str., 48
105264 Moscow, Russia
Tel./fax: +7(495) 510-57-07
e-mail: info@xema.ru
internet: www.xema-medica.com



Authorized Representative in EU:
Polmed.de
Steinacker 20, D-73773
Aichwald, Germany
e-mail: info@polmed.de

Схема проведения анализа / Test procedure



K222, K228, K232, K236, K291

СОДЕРЖАНИЕ

1. НАЗНАЧЕНИЕ	2
2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА	3
3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	3
4. СОСТАВ НАБОРА	4
5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	5
6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ	5
7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА	5
8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА	6
9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА	7
10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ	8
11. ЛИТЕРАТУРА	8

CONTENT

1. INTENDED USE	9
2. SUMMARY AND EXPLANATION	9
3. PRINCIPLE OF THE TEST	9
4. WARNINGS AND PRECAUTIONS	10
5. KIT COMPONENTS	11
6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE	12
7. TEST PROCEDURE	12
8. QUALITY CONTROL	13
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 АНТИГЕНА CYFRA 21-1 В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «CYFRA 21-1-ИФА»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «CYFRA 21-1-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации антигена CYFRA 21-1 в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Антиген CYFRA 21-1 представляет собой фрагмент цитокератина 19, образующийся в результате протеолиза и, в отличие от основной цитокератиновой структуры, способный переходить в растворимую форму и выходить в системный кровоток. Молекула-предшественник антигена CYFRA 21-1 – цитокератин 19 – экспрессируется во всех нормальных тканях, но особенно высокая степень экспрессии наблюдается в клетках опухолей легких или стенки мочевого пузыря.

1.3. Повышенное содержание антигена CYFRA 21-1 наблюдается в крови больных опухолями легких (преимущественно плоскоклеточным раком, реже аденокарциномой и другими гистологическими формами) и опухолями мочевого пузыря. Определение уровня антигена CYFRA 21-1 полезно для контроля эффективности лечения и слежения за течением этих опухолей; вместе с тем, результаты измерения антигена CYFRA 21-1 всегда следует интерпретировать в комплексе с результатами других методов исследования и клиническими данными.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение антигена CYFRA 21-1 основано на использовании «сэндвич»-варианта твердофазного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы мышиные моноклональные антитела к растворимому цитокератину 8/19 (CYFRA 21-1). В лунках планшета, при добавлении исследуемого образца, происходит связывание CYFRA 21-1, содержащегося в исследуемом образце, с антителами на твердой фазе. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата моноклональных антител к антигену CYFRA 21-1 с пероксидазой хрена. В результате образуется связанный с пластиком «сэндвич», содержащий пероксидазу. Во время инкубации с раствором субстрата тетраметилбензидаина (ТМБ) происходит окрашивание растворов в лунках. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации антигена CYFRA 21-1 в исследуемом образце. Концентрацию антигена CYFRA 21-1 в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания антигена CYFRA 21-1 в калибровочных пробах.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Перекрестная реакция мышиных моноклональных антител к растворимому антигену цитокератина 8/19 (CYFRA 21-1) с другими анализитами приведена в таблице:

Аналит	Перекрестная реакция, %
CA125	<0.1
CA19-9	<0.1
CA15-3	<0.1
Альфа-фетопротеин	<0.1
ПСА	<0.1

3.2. Воспроизводимость.

Коэффициент вариации результатов определения содержания CYFRA 21-1 в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «CYFRA 21-1-ИФА» не превышает 8.0%.

Коэффициент вариации (CV) для образцов, измеренных на двух сериях набора реагентов «CYFRA 21-1-ИФА» (Intra-assay).

образец, №	Кол-во повторов	значение, ng/ml	CV1, %
1	5	4.1	4.2
2	5	15.4	3.3
3	5	7.2	3
4	5	26.9	3.2
5	5	16.4	4.1

Коэффициент вариации (CV) для образцов, измеренных на одной серии набора реагентов «CYFRA 21-1-ИФА» в течение трех дней (Inter-assay)

образец, №	Кол-во повторов	значение, ng/ml	CV1, %
1	5	4.2	5.5
2	5	15.4	4.3
3	5	7	6
4	5	24.8	3.4
5	5	15.9	4.7

3.3. Линейность.

Зависимость концентрации CYFRA 21-1 в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей CYFRA 21-1, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 3–50 нг/мл и составляет $\pm 10.0\%$.

3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации CYFRA 21-1 предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 10 нг/мл. Процент «открытия» составляет 90-110%.

3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «CYFRA 21-1-ИФА» концентрация CYFRA 21-1 в сыворотке (плазме) крови не превышает 0.5 нг/мл.

3.6. Хук-эффект (hook-effect) высоких концентраций.

При использовании Набора «CYFRA 21-1-ИФА» хук-эффект не обнаружен до концентрации CYFRA 21-1 1000 нг/мл.

4. СОСТАВ НАБОРА

Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1 P236Z	SORB MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2 C236Z	CAL 1-5	Калибровочные пробы на основе фосфатного буфера (рН 7.2-7.4), содержащие известные количества антигена CYFRA 21-1 – 0; 3; 10; 25; 50 нг/мл , готовы к использованию (калибровочная проба 0 нг/мл – 2 мл, остальные – по 0.8 мл каждая)	5	шт.	прозрачные жидкости красного цвета (калибровочная проба 0 – прозрачная бесцветная жидкость)
3 Q236Z	CONTROL	Контрольная сыворотка на основе основе сыворотки крови человека с известным содержанием антигена CYFRA 21-1, готова к использованию (0.8 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
4 T236Z	CONJ HRP	Конъюгат , готов к использованию (6 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость ярко-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 K236I	-	Инструкция по применению Набора реагентов «CYFRA 21-1-ИФА»	1	шт.	-
10 K236Q	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «CYFRA 21-1-ИФА»	1	шт.	-

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

5.1. Потенциальный риск применения Набора – класс 1 (ГОСТ Р 51609-2000).

5.2. Все компоненты Набора, за исключением стоп-реагента (5.0% раствор серной кислоты), в используемых концентрациях являются нетоксичными.

Раствор серной кислоты обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. При попадании на кожу и слизистые пораженный участок следует промыть большим количеством проточной воды.

5.3. При работе с Набором следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

5.4. При работе с Набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированный материал, способный длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность содержимого лунок планшета при длине волны 450 нм;
- термостат, поддерживающий температуру $+37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$;
- 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 «CYFRA 21-1-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. 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 антигена CYFRA 21-1 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 CYFRA 21-1 в исследуемом образце превышает 50 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 разрезов 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 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 CYFRA 21-1 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 CYFRA 21-1 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 CYFRA 21-1 в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0.5 нг/мл), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (50 нг/мл) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация CYFRA 21-1 ниже 0.5 нг/мл или выше 50 нг/мл.

Исследуемая группа	Единицы, нг/мл	
	Нижний предел	Верхний предел
Здоровые доноры	-	3.0

11. ЛИТЕРАТУРА

1. Petra Stieber CYFRA 21-1 (Cytokeratin-19-Fragment), in: Lothar Thomas, Labor und Diagnose, TH Brooks, Frankfurt, Germany
2. J-L Pujol, O Molinier, W Ebert et al. (2004) British Journal of Cancer 90 (11):2097-2105

По вопросам, касающимся качества Набора **«CYFRA 21-1-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 ANTIGEN CYFRA 21-1 IN HUMAN SERUM OR PLASMA

1. INTENDED USE

A solid-phase enzyme immunoassay for the quantitative determination of antigen CYFRA 21-1 in blood serum or plasma.

This kit is designed for measurement of antigen CYFRA 21-1 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

Antigen CYFRA 21-1 is an established name for the epitopes expressed on soluble fragments of cytokeratin 19. Cytokeratin 19 and related cytokeratin 8 molecules are the members of cytokeratin family proteins with molecular weight range ca 25 to 45 kDa which are ubiquitously expressed in all connective tissue cells. Some tumors show elevated production of cytokeratin 19 which in turn may result in increased serum CYFRA 21-1 levels. Most important examples are squamous cell carcinomas (SCC) of the lung and bladder carcinomas. Therefore, the determination of CYFRA 21-1 antigen in patients' serum or plasma may help in monitoring of tumor growth and efficiency of anti-cancer therapy.

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 antibody to soluble cytokeratin 8/19 (antigen CYFRA 21-1)-antibodies. Antigen from the specimen is captured by the antibodies coated onto the microwell surface. Second antibodies – murine monoclonal antibody to soluble cytokeratin 8/19 (antigen CYFRA 21-1), 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	<p>CFYRA 21-1 EIA strips, 8x12 wells</p> <p>polystyrene microwells coated with murine monoclonal antibody to soluble cytokeratin 8/19 (antigen CFYRA 21-1)</p>	1	pcs		until exp.date
2	<p>Calibrator set, 0.8 ml each, zero calibrator C1 – 2 ml. The set contains 5 calibrators: 0; 3; 10; 25; 50 ng/ml</p> <p>human antigen CFYRA 21-1 diluted in phosphate buffered of horse serum, casein solution, preservative – 0.1% phenol; also contains red dye</p>	5	pcs	red (C1 – colourless)	2 months
3	<p>Control serum (0.8 ml)</p> <p>dilution of preselected human serum, with high content of antigen CFYRA 21-1 with casein solution; preservative – 0.1% phenol, colourless</p>	1	pcs	colourless	2 months
4	<p>Conjugate, 6 ml</p> <p>aqueous solution of murine monoclonal antibody to soluble cytokeratin 8/19 (antigen CFYRA 21-1) 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 bright red dye</p>	1	pcs	bright red	until exp.date
5	<p>Substrate solution, 14 ml</p> <p>ready-to-use single-component tetramethylbenzidine (TMB) solution.</p>	1	pcs	colourless	until exp.date
6	<p>Washing solution concentrate 26X, 22 ml</p> <p>aqueous solution of sodium chloride and detergent (Tween 20), contains proClin300 as a preservative</p>	1	pcs	colourless	Concentrate – until exp.date Diluted washing solution – 45 days at 2-8 °C or 15 days at RT
7	<p>Stop solution, 14 ml</p> <p>5.0% vol/vol solution of sulphuric acid</p>	1	pcs	colourless	until exp.date
8	<p>Plate sealing tape</p>	2	pcs		N/A
9	<p>Instruction CFYRA 21-1 EIA</p>	1	pcs		N/A
10	<p>QC data sheet CFYRA 21-1 EIA</p>	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	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 1-5 and unknown samples into the wells.
4	Dispense 50 µl of CONJ HRP into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape.
5	Incubate 60 minutes at 37 °C.
6	Prepare washing solution by 26X dilution of washing solution concentrate (BUF WASH 26X) by distilled water. Wash the strips 5 times.
7	Dispense 100 µl of SUBS TMB into the wells.
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.

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

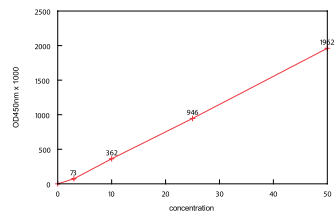
9.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

9.2. Plot a calibration curve on graph paper: OD versus antigen CYFRA 21-1 concentration

9.3. Determine the corresponding concentration of antigen CYFRA 21-1 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	0.057
CAL 2	3 ng/ml	0.13
CAL 3	10 ng/ml	0.42
CAL 4	25 ng/ml	1.0
CAL 5	50 ng/ml	2.02



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 CYFRA 21-1. Based on data obtained by XEMA, the following normal range is recommended (see below). NOTE: the patients that have received murine monoclonal antibodies for radioimaging or immunotherapy develop high titered anti-mouse antibodies (HAMA). The presence of these antibodies may cause false results in the present assay. Sera from HAMA positive patients should be treated with depleting adsorbents before assaying.

Sex, age	Units, ng/ml	
	Lower limit	Upper limit
Healthy donors	-	3.0

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

Analyte	Cross-reactivity, % wt/wt
CA125	<0.1
CA19-9	<0.1
CA15-3	<0.1
AFP	<0.1
PSA	<0.1

11.2. Analytical sensitivity.

Sensitivity of the assay was assessed as being 0.5 ng/ml.

11.3. Precision.

Intra-assay precision is shown below:

Serum, no	duplicated	value, ng/ml	CV1, %
1	5	4.1	4.2
2	5	15.4	3.3
3	5	7.2	3
4	5	26.9	3.2
5	5	16.4	4.1

Inter-assay precision is shown below:

Serum, no	duplicated	value, ng/ml	CV, %
1	5	4.2	5.5
2	5	15.4	4.3
3	5	7.0	6
4	5	24.8	3.4
5	5	15.9	4.7

11.4. Linearity

Linearity was checked by assaying dilution series of 5 samples with different antigen CYFRA 21-1 concentrations. Linearity percentages obtained ranged within 90 to 110%.

11.5. Recovery


















Recovery was estimated by assaying 5 mixed samples with known antigen CYFRA 21-1 concentrations. The recovery percentages ranged from 90 to 110%.

11.6. Hook-effect

No hook-effect has been noticed with samples up to 1000 ng/ml.

12. LITERATURE

- Petra Stieber CYFRA 21-1 (Cytokeratin-19-Fragment), in: Lothar Thomas, Labor und Diagnose, TH Brooks, Frankfurt, Germany
- J-L Pujol, O Molinier, W Ebert et al. (2004) British Journal of Cancer 90 (11):2097-2105

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 клинической
лабораторной диагностики



Russian Association
of Medical Laboratory
Diagnosticians



Российская ассоциация
медицинской лабораторной
диагностики

Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

8 800 505 23 45

Все звонки на номер горячей линии бесплатны для звонящего с любого мобильного или стационарного телефона по всей территории России.

Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

105043, г. Москва, а/я 58

105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1-й под., 5 этаж

тел.: +7 (495) 510-57 07, 737-39-36;

факс: +7 (495) 737-00-40

e-mail: info@xema.ru

www.xema-medica.com

ФООО «Хема», тел.: +7 (812) 271-24-41

191144, Санкт-Петербург, Дегтярный пер., д. 8-10, литер А

e-mail: spb@xema.ru

СП ООО «Хемма-Тест», тел.: (17) 211-80-39

Офис: 220029, Минск, Проспект Машерова, д. 11,

литер А, корп. 8/К, офис 416

e-mail: hemma-test@yandex.ru

ТОВ «Хема», тел.: (044) 422-62-16;

03179, г. Киев, ул. Академика Ефремова, д. 23;

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com





Instruction for use



**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ
ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ CA242
В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ**

«CA242-ИФА»

**A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY
FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF CA242
IN HUMAN SERUM OR PLASMA**

CA242 EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ REF **K243**

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* исследований

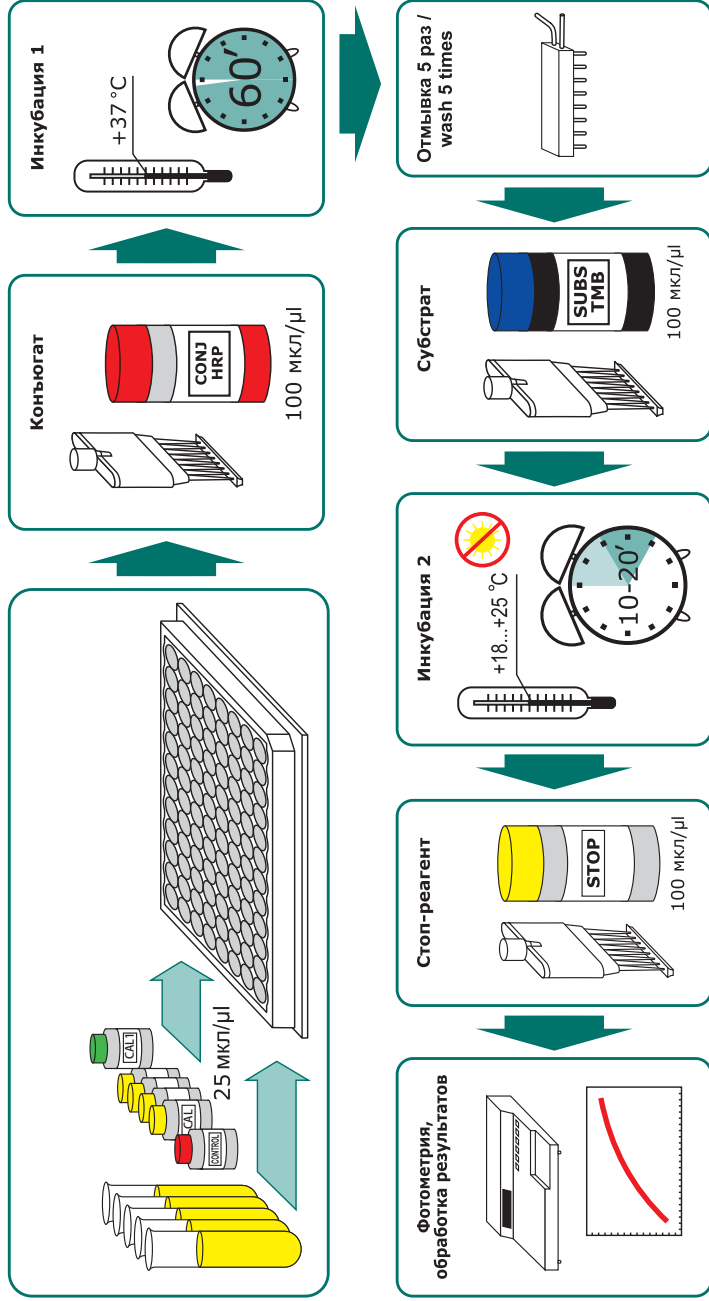


XEMA Co., Ltd.
The 9-ya Parkovaya str., 48
105264 Moscow, Russia
Tel./fax: +7(495) 510-57-07
e-mail: redkin@xema-medica.com
internet: www.xema-medica.com



Authorized Representative in EU:
Polmed.de
Steinacker 20, D-73773
Aichwald, Germany
e-mail: info@polmed.de

Схема проведения анализа / Test procedure



K243

СОДЕРЖАНИЕ

1. НАЗНАЧЕНИЕ	2
2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА	2
3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	3
4. СОСТАВ НАБОРА	4
5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	5
6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ	5
7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА	5
8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА	6
9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА	7
10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ	8

CONTENT

1. INTENDED USE	9
2. SUMMARY AND EXPLANATION	9
3. PRINCIPLE OF THE TEST	9
4. WARNINGS AND PRECAUTIONS	10
5. KIT COMPONENTS	11
6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE	12
7. TEST PROCEDURE	12
8. QUALITY CONTROL	14
9. CALCULATION OF RESULTS	14
10. EXPECTED VALUES	15
11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS	15

Инструкция составлена Руководителем службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА»,
к. б. н. Д. С. Кострикиным

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СА242 В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «СА242-ИФА»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «СА242-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации СА242 в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Углеводный антиген СА242 является одним из самых современных онкомаркеров для раковых опухолей желудочно-кишечного тракта. Антиген СА242 обнаруживается на клетках слизистой толстого кишечника и на апикальной поверхности клеток протоков поджелудочной железы человека.

СА242 - это один из основных маркеров, которые используются в онкологии. Диагностическая специфичность теста СА 242 выше примерно в 1.4 раза, чем СА199 при дифференциальной диагностике рака поджелудочной железы (РПЖ) и хронического панкреатита.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение СА242 основано на использовании «сэндвич»-варианта твердофазного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы мышинные моноклональные антитела к СА242/СА199 человека. В лунках планшета, при добавлении исследуемого образца, происходит связывание СА242, содержащегося в исследуемом образце, с антителами на твердой фазе. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата мышинных моноклональных антител к СА242 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 СА242 в исследуемом образце. Концентрацию СА242 в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания СА242 в калибровочных пробах.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Перекрестная реакция мышинных моноклональных антител к СА242 человека с другими анализатами приведена в таблице:

Аналит	Перекрестная реакция, %
КЭА	<0.1
СА15-3	<0.1

3.2. Воспроизводимость.

Коэффициент вариации результатов определения содержания СА242 в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «СА242-ИФА» не превышает 8.0%.

3.3. Линейность.

Зависимость концентрации СА242 в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей СА242, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 15-200 Ед/мл и составляет $\pm 10.0\%$.

3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации СА242 предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 50 Ед/мл. Процент «открытия» составляет 90-110%.

3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «СА242-ИФА» концентрация СА242 в сыворотке (плазме) крови не превышает 0,5 Ед/мл.

4. СОСТАВ НАБОРА

Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1 P223Z	SORB MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт	-
2 C243Z	CAL 1 - 5	Калибровочные пробы на основе трис-буфера (рН 7.2-7.4), содержащие известные количества CA242 - 0; 15; 50; 100; 200; Ед/мл, готовы к использованию (калибровочная проба 0 Ед/мл - 2 мл, остальные – по 0.8 мл каждая)	5	шт	прозрачные жидкости синего цвета (калибровочная проба 0 - прозрачная бесцветная жидкость)
3 Q243Z	CONTROL	Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием CA242, готова к использованию (0.8 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
4 T243Z	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 K243I	-	Инструкция по применению Набора реагентов «CA242-ИФА»	1	шт	-
10 K243Q	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «CA242-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.

5.5. Все использованные одноразовые материалы подвергать обработке дезинфицирующими средствами с последующей утилизацией (см. МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения»).

5.6. Медицинские отходы класса Б. Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПин 2.1.7.2790-10 «Санитарноэпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность содержимого лунок планшета при длине волны 450 нм;
- термостат, поддерживающий температуру $+37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$;
- 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 «CA242-ИФА» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности, указанного на упаковке Набора.

Допускается хранение (транспортировка) Набора при температуре до +25 °С не более 15 суток.

8.2. Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 42 исследуемых образцов, 5 калибровочных проб и 1 пробы контрольной сыворотки (всего 96 определений).

8.3. В случае дробного использования Набора компоненты следует хранить следующим образом:

- оставшиеся неиспользованными стрипы необходимо тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;

- все остальные компоненты Набора после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора.

- оставшийся неиспользованным концентрат отмывочного раствора следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора.

- приготовленный отмывочный раствор следует хранить при комнатной температуре (+18...+25 °С) не более 15 суток или при температуре +2...+8 °С не более 45 суток;

Примечание. После использования реагента немедленно закрывайте крышку флакона. Закрывайте каждый флакон своей крышкой.

8.4. При использовании Набора для проведения нескольких независимых серий анализов следует иметь в виду, что для каждого независимого определения необходимо построение нового калибровочного графика; кроме этого, рекомендуется определение концентрации CA242 в контрольной сыворотке.

8.5. 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.

8.6. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение Инструкции по применению Набора.

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов - исследуемые образцы в 2 повторах и 12 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки.
2	Если предполагаемая концентрация SA242 в исследуемом образце превышает 200 Ед/мл, его следует дополнительно развести, используя калибровочную пробу 0. Использование других буферов и реагентов для разбавления образцов может искажать результаты определения! Примечание. Для получения надежных результатов рекомендуется использовать несколько последовательных разведений исследуемого образца сыворотки (плазмы) крови.
3	Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 25 мкл калибровочной пробы и контрольной сыворотки . В остальные лунки внесите в дубликатах по 25 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови. Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
4	Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата .
5	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте его в течение 60 минут при температуре +37 °С .
6	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз . При каждой отмывке добавьте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п.7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок постукиванием планшета в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.
7	Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина . Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2-3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25°С) в течение 10-20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.
8	Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента , при этом содержимое лунок окрашивается в яркий 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 SA242 в калибровочных пробах (Ед/мл), 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. Определите по калибровочному графику содержание SA242 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 СА242 в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0.5 Ед/мл), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (200 Ед/мл) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация СА242 ниже 0.5 Ед/мл или выше 200 Ед/мл.

Исследуемая группа	Единицы, Ед/мл	
	Нижний предел	Верхний предел
Мужчины	-	20
Женщины	-	20

По вопросам, касающимся качества Набора **«СА242-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 CA242 IN HUMAN SERUM OR PLASMA

1. INTENDED USE

A solid-phase enzyme immunoassay for the quantitative determination of CA242 in serum or plasma.

This kit is designed for measurement of CA242 in serum or plasma. For possibility of use with other sample types, please, refer to Application Notes (on request). The kit contains reagents sufficient for 96 determinations and allows to analyze 42 unknown samples in duplicates.

2. SUMMARY AND EXPLANATION

The carbohydrate antigen CA242 is one of the most advanced markers of gastrointestinal cancer. CA242 is found on cells of colonic mucosa as well as on apical part of cells lining pancreatic ducts.

CA242 is one of the most important markers used in oncology. For differential diagnostics between pancreatic cancer (PC) and chronic pancreatitis, diagnostic specificity of CA242 is 1,4 fold higher than that of CA199. In patients with PC, a positive prognostic value of CA242 determination is higher than that of CA19.9 at any stage of the disease.

3. PRINCIPLE OF THE TEST

This test is based on two-site sandwich enzyme immunoassay principle. Tested specimen is placed into the microwells coated by specific murine monoclonal to human CA242-antibodies. Antigen from the specimen is captured by the antibodies coated onto the microwell surface. Second antibodies - murine monoclonal to human CA242, 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	CA242 EIA strips, 8x12 wells	1	pcs	-	until exp.date
2	Calibrator set, 0.8 ml each, zero calibrator C1 - 2 ml The set contains 5 calibrators: 0; 15; 50; 100; 200, U/ml	5	pcs	blue (C1 - colourless)	until exp.date
3	Control serum (0.8 ml)	1	pcs	colourless	until exp.date
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 CA242 EIA	1	pcs		N/A
10	QC data sheet CA242 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 ±2 °C;
- Calibrated microplate photometer with 450 nm wavelength and OD measuring range 0–3.0.

5.3. Storage and stability of the Kit

Store the whole kit at 2 to 8 °C upon receipt until the expiration date.

After opening the pouch keep unused microtiter wells **TIGHTLY SEALED BY ADHESIVE TAPE (INCLUDED)** to minimize exposure to moisture.

6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

This kit is intended for use with serum or plasma (ACD- or heparinized). Grossly hemolytic, lipemic, or turbid samples should be avoided.

Specimens may be stored for up to 48 hours at 2...+8 °C before testing. For a longer storage, the specimens should be frozen at -20 °C or lower. Repeated freezing/thawing should be avoided.

7. TEST PROCEDURE**7.1. Reagent Preparation**

- All reagents (including unsealed microstrips) should be allowed to reach room temperature (+18...+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	Pipet 25 µl of calibrators CAL 1 - 5, control samples CONTROL and unknown samples into the wells.
4	Dispense 100 µl of CONJ HRP into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape (included into the kit).
5	Incubate 60 minutes at 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.

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

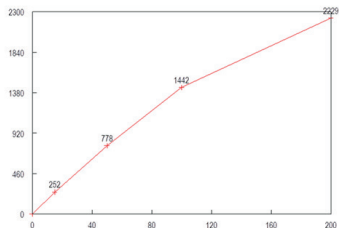
9.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

9.2. Plot a calibration curve on graph paper: OD versus CA242 concentration.

9.3. Determine the corresponding concentration of CA242 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	0.041
CAL 2	15	0.293
CAL 3	50	0.819
CAL 4	100	1.483
CAL 5	200	2.270



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 CA242. 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	-	20
Females	-	20

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical specificity / Cross reactivity


















Analyte	Cross-reactivity, % wt/wt
CEA	<0.1
CA15-3	<0.1

11.2. Analytical sensitivity.

Sensitivity of the assay was assessed as being 0.5 U/ml.

11.3. Linearity Linearity was checked by assaying dilution series of 5 samples with different CA242 concentrations. Linearity percentages obtained ranged within 90 to 110%.

11.4. Recovery Recovery was estimated by assaying 5 mixed samples with known CA242 concentrations. The recovery percentages ranged from 90 to 110%..

Символ / Symbol	Значение символа / Symbolize
	Производитель / Manufacturer
	Дата производства / Date of manufacture
	Номер по каталогу / Catalogue number
	Номер серии / Batch code
 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



Российское профессиональное
ассоциация врачей общей клинической
лабораторной диагностики



RUSSIAN ASSOCIATION
OF MEDICAL LABORATORY
DIAGNOSTICS



РОССИЙСКОЕ ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ
АССОЦИАЦИЯ ВРАЧЕЙ ОБЩЕЙ
КЛИНИЧЕСКОЙ 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:

105264, 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

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) 521-3-521;

03179 Киев, ул. Васильковская, д. 98, 2 этаж;

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com





Instruction for use



**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
НАБОРА РЕАГЕНТОВ
ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
CA72-4 В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ**

«CA72-4-ИФА»

**A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY
FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION
OF CA72-4 IN HUMAN SERUM OR PLASMA**

CA72-4 EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF K244**

ТУ № 9398-244-18619450-2009

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
№ ФСР 2010/07273 от 8 апреля 2010 г.

Антитела к ВИЧ 1,2, вирусу гепатита С и HBsAg отсутствуют
Контрольные сыворотки, входящие в состав набора, инактивированы.



For 96 determinations/На 96 определений



Для *in vitro* диагностики



XEMA Co., Ltd.
The 9th Parkovaya str., 48
105264 Moscow, Russia
Tel./fax: +7(495) 510-57-07

e-mail: redkin@xema-medica.com
internet: www.xema-medica.com



Authorized Representative in EU:
Polmed.de
Steinacker 20, D-73773
Aichwald, Germany
e-mail: info@polmed.de

Схема проведения анализа / Test procedure

Приготовление конъюгата

Концентрат конъюгата + Буфер для разведения концентрата конъюгата = Конъюгат

1:11

Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов

Конъюгат

100 мкл / µl

Инкубация 1

Фотометрия, обработка результатов

Стоп-реагент

100 мкл / µl

Инкубация 2

Субстрат

100 мкл / µl

Отмывка 5 раз / wash 5 times

K244

СОДЕРЖАНИЕ

1. НАЗНАЧЕНИЕ	2
2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА	3
3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	3
4. СОСТАВ НАБОРА	4
5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	5
6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ	5
7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА	5
8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА	6
9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА	7
10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ	8
11. ЛИТЕРАТУРА	8

CONTENTS

1. INTENDED USE	9
2. SUMMARY AND EXPLANATION	9
3. PRINCIPLE OF THE TEST	9
4. WARNINGS AND PRECAUTIONS	10
5. KIT COMPONENTS	11
6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE	12
7. TEST PROCEDURE	12
8. QUALITY CONTROL	14
9. CALCULATION OF RESULTS	14
10. EXPECTED VALUES	15
11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS	15
12. LITERATURE	15

Инструкция составлена Руководителем службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА»,
к. б. н. Д. С. Кострикиным

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СА72-4 В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «СА72-4-ИФА»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «СА72-4-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации СА72-4 в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. СА72-4, или углеводный антиген 72-4 с высокой молекулярной массой (м.м. 230 – 1000 кДа), представляет собой антиген (эпитоп), ассоциированный с раком желудка, карциномой яичников и некоторыми другими опухолями. Количественное определение СА72-4 в сыворотке или плазме крови, особенно одновременно с определением углеводного антигена сиалил-Льюиса СА19-9 (ХЕМА кат. № К223) используется в целях контроля течения и терапии рака желудка, а также вместе с СА125 (ХЕМА кат. № К222) – в целях мониторинга рака яичников. СА72-4 в норме практически не экспрессируется здоровыми тканями у взрослых. Увеличенная концентрация углеводного антигена 72-4 отмечается в высоком проценте случаев рака желудочно-кишечного тракта, яичников и легких. Кроме того, повышение уровня СА72-4 обнаруживается у небольшого числа пациентов с разнообразными доброкачественными заболеваниями. В связи с этим, данные по содержанию СА72-4 всегда следует интерпретировать в комплексе с результатами других методов исследования и клиническими данными.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение СА72-4 основано на использовании «сэндвич»-варианта твердофазного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы мышинные моноклональные антитела к СА72-4 человека. В лунках планшета, при добавлении исследуемого образца, происходит связывание СА72-4, содержащегося в исследуемом образце, с антителами на твердой фазе. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата мышинных моноклональных антител к СА72-4 человека с пероксидазой хрена. В результате образуется связанный с пластиком «сэндвич», содержащий пероксидазу. Во время инкубации с раствором субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) происходит окрашивание растворов в лунках. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации СА72-4 в исследуемом образце. Концентрацию СА72-4 в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания СА72-4 в калибровочных пробах.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность.

Использование мышинных моноклональных антител к СА72-4 позволяет достичь высокой специфичности анализа.

3.2. Воспроизводимость.

Коэффициент вариации результатов определения содержания СА72-4 в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «СА72-4-ИФА» не превышает 8.0%.

3.3. Линейность.

Зависимость концентрации СА72-4 в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей СА72-4, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 5–200 Ед/мл и составляет $\pm 10.0\%$.

3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации СА72-4 предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 15 Ед/мл. Процент «открытия» составляет 90–110%.

3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «СА72-4-ИФА» концентрация СА72-4 в сыворотке (плазме) крови не превышает 1.0 Ед/мл.

4. СОСТАВ НАБОРА

Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1 P244Z	SORB MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2 C244Z	CAL 1-5	Калибровочные пробы на основе сыворотки крови человека, содержащие известные количества СА72-4 - 0; 5; 15; 50; 200 Ед/мл, готовы к использованию (по 0.5 мл каждая)	5	шт.	прозрачные жидкости синего цвета (калибровочная проба 0 - прозрачная бесцветная жидкость)
3 Q244Z	CONTROL	Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием СА72-4, готова к использованию (0.5 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
4 T244XZ	CONJ 11X	Концентрат конъюгата (1.2 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость зеленого цвета
5 ST244Z	DIL CONJ	Буфер для разведения концентрата конъюгата , готов к использованию (12 мл)	1	шт	прозрачная жидкость голубого 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 K244I	-	Инструкция по применению Набора реагентов «СА72-4-ИФА»	1	шт.	-
11 K244Q	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «СА72-4-ИФА»	1	шт.	-

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

5.1. Потенциальный риск применения Набора – класс 1 (ГОСТ Р 51609-2000).

5.2. Все компоненты Набора, за исключением стоп-реагента (5.0% раствор серной кислоты), в используемых концентрациях являются нетоксичными.

Раствор серной кислоты обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. При попадании на кожу и слизистые пораженный участок следует промыть большим количеством проточной воды.

5.3. При работе с Набором следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, 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 $+37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$;
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы в диапазоне 20–250 мкл;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- бумага фильтровальная.

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

7.1. Перед проведением анализа компоненты Набора и исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови следует выдержать при комнатной температуре ($+18...+25\text{ }^{\circ}\text{C}$) не менее 30 мин.

7.2. Приготовление планшета.

Вскрыть пакет с планшетом и установить на рамку необходимое количество стрипов. Оставшиеся неиспользованными стрипы, чтобы предотвратить воздействие на них влаги, тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре $+2...+8\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности Набора.

7.3. Приготовление отмывочного раствора.

Содержимое флакона с концентратом отмывочного раствора (22 мл), перенести в мерный цилиндр вместимостью 1000 мл, добавить 550 мл дистиллированной воды и тщательно перемешать. В случае дробного использования Набора следует отобрать необходимое количество концентрата отмывочного раствора и развести дистиллированной водой в 26 раз (1 мл концентрата отмывочного раствора + 25 мл дистиллированной воды).

7.4. Приготовление конъюгата.

Разбавьте концентрат конъюгата в 11 раза буфером для разведения концентрата конъюгата. Например, на один стрип понадобится 900 мкл конъюгата: 90 мкл концентрата конъюгата + 900 мкл буфера для разведения конъюгата.

ВНИМАНИЕ! Разбавленный раствор конъюгата не хранится! Разбавляйте только ту часть концентрата конъюгата, которая необходима для данной постановки!

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

8.1. Набор реагентов «СА72-4-ИФА» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности, указанного на упаковке Набора.

Допускается хранение (транспортировка) Набора при температуре до +25 °С не более 15 суток. Не допускается замораживание целого набора.

8.2. Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 42 исследуемых образцов, 5 калибровочных проб и 1 пробы контрольной сыворотки (всего 96 определений).

8.3. В случае дробного использования Набора компоненты следует хранить следующим образом:

- оставшиеся неиспользованными стрипы необходимо тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- оставшийся неиспользованным концентрат отмывочного раствора, конъюгат, субстрат, стоп-реагент после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- калибровочные пробы и контрольную сыворотку после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °С не более 2 месяцев;
- приготовленный отмывочный раствор следует хранить при комнатной температуре (+18...+25 °С) не более 15 суток или при температуре +2...+8 °С не более 45 суток;

Примечание. После использования реагента немедленно закрывайте крышку флакона. Закрывайте каждый флакон своей крышкой.

8.4. Для проведения анализа не следует использовать гемолизированную, мутную сыворотку (плазму) крови, а также сыворотку (плазму) крови, содержащую азид натрия. Если анализ производится не в день взятия крови, сыворотку (плазму) следует хранить при температуре -20 °С. Повторное замораживание-оттаивание образцов сыворотки (плазмы) крови не допускается.

8.5. Исключается использование для анализа образцов сыворотки (плазмы) крови людей, получавших в целях диагностики или терапии препараты, в состав которых входят мышинные антитела.

8.6. При использовании Набора для проведения нескольких независимых серий анализов следует иметь в виду, что для каждого независимого определения необходимо построение нового калибровочного графика; кроме этого, рекомендуется определение концентрации СА72-4 в контрольной сыворотке.

8.7. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение Инструкции по применению Набора.

8.8. Не используйте компоненты из других наборов или из аналогичных наборов других серий.

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов – исследуемые образцы в 2 повторах и 12 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки.
2	Приготовьте конъюгат (см п. 7.4.)
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 сыворотки (плазмы) крови. Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
4	Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.
5	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте его в течение 60 минут при температуре +37 °С.
6	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз.
7	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.
8	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.
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 (х) – концентрация СА72-4 в калибровочных пробах (Ед/мл), ось ординат (у) – оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма обчета (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный; «от точки к точке») метод.
11	Определите по калибровочному графику содержание СА72-4 в исследуемых образцах.

10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ

10.1. Основываясь на результатах исследований, проведенных ООО «ХЕМА», рекомендуем пользоваться нормами, приведенными ниже. Вместе с тем, в соответствии с правилами *GLP* (Хорошей лабораторной практики), каждая лаборатория должна сама определить параметры нормы, характерные для обследуемой популяции.

Примечание. Значения концентраций СА72-4 в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (1.0 Ед/мл), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (200 Ед/мл) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация СА72-4 ниже 1.0 Ед/мл или выше 200 Ед/мл.

Исследуемая группа	Единицы, Ед/мл	
	Нижний предел	Верхний предел
Здоровые доноры	-	6.0

11. ЛИТЕРАТУРА

1. DJ Byrne, MC Browning, and A Cuschieri – CA72-4: a new tumour marker for gastric cancer. Br J Surg, Sep 1990; 77(9): 1010-3.
2. Ian J. Jacobs and Usha Menon – Progress and Challenges in Screening for Early Detection of Ovarian Cancer. Mol. Cell. Proteomics, Apr 2004; 3: 355 – 366.
3. R Hamazoe, M Maeta, T Matsui, S Shibata, S Shiota, and N Kaibara – CA72-4 compared with carcinoembryonic antigen as a tumour marker for gastric cancer. Eur J Cancer, Jan 1992; 28A(8-9): 1351-4.

По вопросам, касающимся качества Набора «СА72-4-ИФА», следует обращаться в ООО «ХЕМА» по адресу:
105043, г. Москва, а/я 58
105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1-й под., 5 этаж,
тел/факс (495) 737-39-36, 737-00-40, 510-57-07 (многоканальный)

электронная почта: info@xema.ru; rqc@xema.ru
интернет: www.xema.ru; www.xema-medica.com

Руководитель службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА»,
к. б. н. Д. С. Кострикин

Instruction for use

A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF CA72-4 IN HUMAN SERUM OR PLASMA

1. INTENDED USE

A solid-phase enzyme immunoassay for the quantitative determination of CA72-4 in blood serum or plasma.

This kit is designed for measurement of CA72-4 in blood serum or plasma. The kit contains reagents sufficient for 96 determinations and allows to analyze 42 unknown samples in duplicates.

2. SUMMARY AND EXPLANATION

CA 72-4, or a carbohydrate antigen 72-4, is a high MW (230-1000 kD) antigen (epitope) associated to gastric and ovarian cancer as well as some other malignancies and not expressed in noticeable quantities in tissues of healthy adult individuals. Quantitative determination of CA 72-4 in serum or plasma is helpful (particularly, in combination with CA 19-9 – see Xema, Cat.# K223) for monitoring of gastric cancer and its therapy, while combined determination of CA 72-4 and CA 125 (see Xema, Cat.# K222) is used for monitoring of ovarian cancer.

Elevated levels of CA 72-4 are often seen in adenocarcinomas of the gastro-intestinal tract, ovaries (mucinous type) and lungs. Besides, raised CA 72-4 is sometimes also seen in patients with benign pathology (chronic inflammation, cysts, fibrosis). That is why, results of CA 72-4 determination should always be interpreted in conjunction with other laboratory and clinical data.

NOTE: the patients that have received murine monoclonal antibodies for radioimaging or immunotherapy may develop high titered anti-mouse antibodies (HAMA). The presence of these antibodies gives false results in the present assay. Sera from HAMA positive patients should be treated by depleting adsorbents before assaying.

3. PRINCIPLE OF THE TEST

This test is based on two-site sandwich enzyme immunoassay principle. Tested specimen is placed into the microwells coated by specific murine monoclonal antibodies to human CA72-4. Antigen from the specimen is captured by the antibodies coated onto the microwell surface. Unbound material is removed by washing procedure. Second antibodies – murine monoclonal Ab to human CA72-4, labelled with peroxidase, are then added into the microwells. After subsequent washing procedure, the remaining enzymatic activity bound to the microwell surface is detected and quantified by addition of chromogen-substrate mixture, stop solution and photometry at 450 nm. Optical density in the microwell is directly related to the concentration of the measured analyte in the specimen.

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

4.1. For professional use only.

4.2. This kit is intended for in vitro diagnostic use only.

4.3. INFECTION HAZARD: There is no available test methods that can absolutely assure that Hepatitis B and C viruses, HIV-1/2, or other infectious agents are not present in the reagents of this kit. All human products, including patient samples, should be considered potentially infectious. Handling and disposal should be in accordance with the procedures defined by an appropriate national biohazard safety guidelines or regulations.

4.4. Avoid contact with stop solution containing 5.0% 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. KIT COMPONENTS

5.1. Contents of the Kit

Symbol	Description	Qty	Units	Colour code	Stability of opened/ diluted components
1	SORB MTP CA72-4 EIA strips, 8x12 wells	polystyrene microwells coated with murine monoclonal Ab to human CA72-4	1	pcs	until exp.date
2	CAL 1-5 Calibrator set, 0.5 ml each. The set contains 5 calibrators: 0; 5; 15; 50; 200 U/ml	human CA72-4 diluted in a preselected human serum preservative - 0.01% Bronidox L, 0.01% 2-Methyl-4-isothiazolin-3-one-hydrochloride; also contains blue dye. Ready-to-use	5	pcs	blue (C1 - colourless) 2 months
3	CONTROL Control serum (0.5 ml)	dilution of preselected human serum, with high content of CA72-4 with preservative - 0.01% Bronidox L, 0.01% 2-Methyl-4-isothiazolin-3-one-hydrochloride; also contains purple dye. Ready-to-use	1	pcs	colourless 2 months
4	CONJ 11X Conjugate concentrate, 1.2 ml	Aqueous solution of murine monoclonal to human CA72-4 coupled with horseradish peroxidase diluted on phosphate buffered saline with casein from bovine milk and detergent (Tween-20), contains 0,1% phenol as preservative and green dye	1	pcs	green Concentrate - until exp.date Diluted - 1 day at 2-8 °C
5	DIL CONJ Conjugate dilution buffer, 12 ml	Aqueous Tris-buffered BSA solution, preservative - 0,01% Bronidox L, 0,01% 2-Methyl-4-isothiazolin-3-one-hydrochloride; contains light blue dye	1	pcs	light blue until exp.date
6	SUBS TMB Substrate solution, 14 ml	ready-to-use single-component tetramethylbenzidine (TMB) solution	1	pcs	colourless until exp.date
7	BUF WASH 26X Washing solution concentrate 26x, 22 ml	aqueous solution of sodium chloride and detergent (Tween 20), contains proClin300 as a preservative.	1	pcs	colourless Concentrate - until exp.date Diluted washing solution - 45 days at 2-8°C or 15 days at RT
8	STOP Stop solution, 14 ml	5,0% vol/vol solution of sulphuric acid. Ready-to-use	1	pcs	colourless until exp.date
9	N003 Plate sealing tape		2	pcs	N/A
10	K244I Instruction CA72-4 EIA		1	pcs	N/A
11	K244Q QC data sheet CA72-4 EIA		1	pcs	N/A

5.2. Equipment and material required but not provided

- Distilled or deionized water;
- Automatic or semiautomatic multichannel micropipettes, 100–250 µl, is useful but not essential;
- Calibrated micropipettes with variable volume, range volume 20–250 µl;
- Calibrated microplate photometer with 450 nm wavelength and OD measuring range 0–3.0

5.3. Storage and stability of the Kit

Store the whole kit at 2 to 8 °C upon receipt until the expiration date. A short-term storage at higher temperatures (nmt 25 °C for nmt 5 days) is allowed (e.g., during transportation).

After opening the pouch keep unused microtiter wells **TIGHTLY SEALED BY ADHESIVE TAPE (INCLUDED)** to minimize exposure to moisture.

6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

This kit is intended for use with serum or plasma (ACD- or heparinized). Grossly hemolytic, lipemic, or turbid samples should be avoided.

Specimens should be tested during the day of sampling. If test run is scheduled for another day, the specimens should be frozen at -20 °C or lower. Repeated freezing/thawing should be avoided.

7. TEST PROCEDURE**7.1. Reagent Preparation**

- All reagents (including unsealed microstrips) should be allowed to reach room temperature (+18 to +25 °C) before use.
- Prepare washing solution from the concentrate BUF WASH 26X by 26 dilutions in distilled water.

7.2. Assay procedure

1	Put the desired number of microstrips into the frame; allocate 12 wells for the calibrators CAL 1-5 and control samples CONTROL and two wells for each unknown sample. DO NOT REMOVE ADHESIVE SEALING TAPE FROM UNUSED STRIPS.
2	Prepare working conjugate solution by dilution of conjugate concentrate 11 fold by conjugate dilution buffer. ATTENTION: working conjugate solution is unstable and should not be stored! Prepare the volume required for actual assay run.
3	Pipet 20 µl of calibrators CAL 1-5, control samples CONTROL and unknown samples into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape (included into the kit).
4	Dispense 100 µl of CONJ HRP into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape.
5	Incubate 60 minutes at 37 °C.
6	Prepare washing solution by 26x dilution of washing solution concentrate BUF WASH 26X by distilled water. Wash the strips 5 times.
7	Dispense 100 µl of SUBS TMB into the wells. Dispensing of TMB should be completed within 3 minutes.
8	Incubate in a dark place for 10-20 minutes, depending on blue coloration of wells.
9	Dispense 100 µl of STOP into the wells in the same order as TMB.
10	Measure OD (optical density) at 450 nm.
11	Set photometer blank on first calibrator.
12	Apply point-by-point method for data reduction.

8. QUALITY CONTROL

It is recommended to use external control samples (not included) according to state and federal regulations. The use of external control samples is advised to assure the day to day validity of results.

The test must be performed exactly as per the manufacturer's instructions for use. Moreover the user must strictly adhere to the rules of GLP (Good Laboratory Practice) or other applicable federal, state, and local standards and/or laws. This is especially relevant for the use of control reagents. It is important to always include, within the test procedure, a sufficient number of controls for validating the accuracy and precision of the test.

The test results are valid only if all controls are within the specified ranges and if all other test parameters are also within the given assay specifications.

9. CALCULATION OF RESULTS

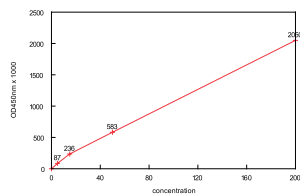
9.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

9.2. Plot a calibration curve on graph paper: OD versus CA72-4 concentration.

9.3. Determine the corresponding concentration of CA72-4 in unknown samples from the calibration curve. Manual or computerized data reduction is applicable on this stage. Point-by-point or linear data reduction is recommended due to non-linear shape of curve.

9.4. is presented a typical example of a standard curve with the XEMA Co. Not for calculations!

Calibrators	Value	Absorbance Units (450 nm)
CAL 1	0 U/ml	0.08
CAL 2	5 U/ml	0.17
CAL 3	15 U/ml	0.32
CAL 4	50 U/ml	0.67
CAL 5	200 U/ml	2.13



10. EXPECTED VALUES

Therapeutical consequences should not be based on results of IVD methods alone – all available clinical and laboratory findings should be used by a physician to elaborate therapeutical measures. Each laboratory should establish its own normal range for CA72-4. Based on data obtained by XEMA, the following normal range is recommended (see below).

NOTE: the patients that have received murine monoclonal antibodies for radioimaging or immunotherapy develop high titered anti-mouse antibodies (HAMA). The presence of these antibodies may cause false results in the present assay. Sera from HAMA positive patients should be treated with depleting adsorbents before assaying.

NOTE2: if analyte concentration in a specimen is lower than the analytical sensitivity (2 U/ml) or higher than the highest calibrator (200 U/ml), it is recommended to express the results in the following manner: "CA 72-4 concentration is lower than 1.0 U/ml" or "CA 72-4 concentration is higher than 200 U/ml".

Patient group	Units, U/ml	
	Lower limit	Upper limit
Healthy individuals	-	6

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical sensitivity

Sensitivity of the assay was assessed as being 1.0 U/ml.

11.2. Linearity

Linearity was checked by assaying dilution series of 5 samples with different CA72-4 concentrations. Linearity percentages obtained within the range of 5-200 U/ml fell within 90–110%.


















11.3. Recovery

Recovery was estimated by assaying a mixed sample (Contol + calibrator 3, 1:1) with known CA72-4 concentration. The recovery percentages ranged from 90% to 110%.

11.4. High-dose hook effect was not seen up to 50 000 IU/ml.

12. LITERATURE

1. DJ Byrne, MC Browning, and A Cuschieri - CA72-4: a new tumour marker for gastric cancer. *Br J Surg*, Sep 1990; 77(9): 1010-3.
2. Ian J. Jacobs and Usha Menon - Progress and Challenges in Screening for Early Detection of Ovarian Cancer. *Mol. Cell. Proteomics*, Apr 2004; 3: 355 - 366.
3. R Hamazoe, M Maeta, T Matsui, S Shibata, S Shiota, and N Kaibara - CA72-4 compared with carcinoembryonic antigen as a tumour marker for gastric cancer. *Eur J Cancer*, Jan 1992; 28A(8-9): 1351-4.

Символ / Symbol	Значение символа / Symbolize
	Производитель / Manufacturer
	Дата производства / Date of manufacture
	Номер по каталогу / Catalogue number
	Номер серии / Batch code
	Использовать до (год-месяц) / Use By
	Ограничение температуры / Temperature limitation
	Только для ин витро диагностики / In Vitro Diagnostic Medical Device
	Внимание! / Caution, consult accompanying documents
	Не использовать при нарушении целостности упаковки / Do not use if package damaged
	Планшет / EIA strips
	Калибровочные пробы / Calibrator set
	Контрольная сыворотка / Control sera
	Конъюгат / Conjugate
	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) / Substrate solution
	Концентрат отмывочного раствора / Washing solution concentrate
	Стоп-реагент / Stop solution
	ИФА-Буфер / EIA buffer

Уважаемый Клиент!

Если в процессе работы с нашими Наборами Вам понадобились пластиковые ванночки для жидких реагентов, одноразовые наконечники для дозаторов или дополнительные объемы реагентов (концентрат отмывочного раствора, ИФА-Буфер, раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), стоп-реагент), входящих в состав Набора, просим Вас обратиться к поставщику продукции ООО «ХЕМА» в Вашем регионе.

Все указанные расходные материалы предоставляются бесплатно, в необходимом для проведения анализа количестве.

Перечень наборов реагентов для диагностики инфекционных заболеваний производства ООО «ХЕМА»

№ по каталогу	Наименование
K101	«Toxoplasma IgG-ИФА»
K101M	«Toxoplasma IgM-ИФА»
K102	«Rubella IgG-ИФА»
K102M	«Rubella IgM-ИФА»
K103	«Cytomegalovirus IgG-ИФА»
K103M	«Cytomegalovirus IgM-ИФА»
K104	«HSV 1,2 IgG-ИФА»
K104M	«HSV 1,2 IgM-ИФА»
K105	«Chlamydia IgG-ИФА»
K106	«Mycoplasma IgG-ИФА»
K111G	«Сифилис IgG-ИФА»
K111	«Сифилис суммарные антитела-ИФА»
K121	«Aspergillus IgG-ИФА»



Russian Diagnostic
Manufacturers Association



Ассоциация российских
производителей иммунохимических
диагностических реагентов



Russian Association
of Medical Laboratory
Diagnosticians



Российская ассоциация
медицинской лабораторной
диагностики

Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

8 800 505 23 45

Все звонки на номер горячей линии бесплатны для звонящего с любого мобильного или стационарного телефона по всей территории России.

Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

105043, г. Москва, а/я 58

105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1-й под., 5 этаж

тел.: +7 (495) 510-57 07, 737-39-36;

факс: +7 (495) 737-00-40

e-mail: info@xema.ru

www.xema-medica.com

ФООО «Хема», тел.: +7 (812) 271-24-41

191144, Санкт-Петербург, Дегтярный пер., д. 8-10, литер А

e-mail: spb@xema.ru

СП ООО «Хемма-Тест», тел.: (17) 211-80-39

Офис: 220029, Минск, Проспект Машерова, д. 11,

литер А, корп. 8/К, офис 416

e-mail: hemma-test@yandex.ru

ТОВ «Хема», тел.: (044) 422-62-16;

03179, г. Киев, ул. Академика Ефремова, д. 23;

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com





Instruction for use



**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ
ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
С-ПЕПТИДА В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ ЧЕЛОВЕКА**

«С-ПЕПТИД-ИФА»

**A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY
FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION
OF C-PEPTIDE IN HUMAN BLOOD SERUM OR PLASMA, URINE**

C-peptide EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF** **K267C**

ТУ № 21.20.23-2671-18619450-2018

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
№ РЗН 2018/7915 от 06 декабря 2018 г.

Антитела к ВИЧ 1,2, вирусу гепатита С и HBsAg отсутствуют
Контрольные сыворотки, входящие в состав набора, инактивированы.



For 96 determinations/На 96 определений



Для *in vitro* диагностики

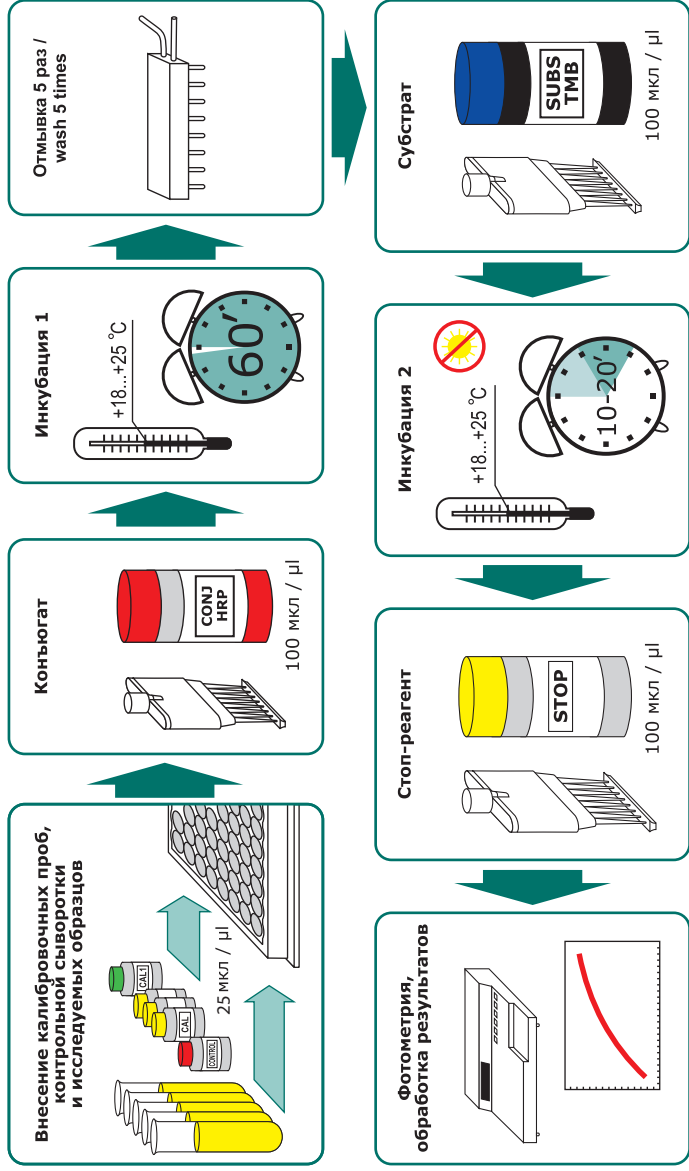


XEMA Co., Ltd.
The 9th Parkovaya str., 48
105264 Moscow, Russia
Tel./fax: +7(495) 510-57-07
e-mail: redkin@xema-medica.com
internet: www.xema-medica.com



Authorized Representative in EU:
Polmed.de
Steinacker 20, D-73773
Aichwald, Germany
e-mail: info@polmed.de

Схема проведения анализа / Test procedure



K267C

СОДЕРЖАНИЕ

1. НАЗНАЧЕНИЕ	2
2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА	2
3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	3
4. СОСТАВ НАБОРА	4
5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	5
6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ	5
7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА	5
8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА	6
9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА	7
10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ	8

CONTENT

1. INTENDED USE	9
2. PRINCIPLE OF THE TEST	9
3. WARNINGS AND PRECAUTIONS	10
4. KIT COMPONENTS	11
5. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE	12
6. TEST PROCEDURE	12
7. QUALITY CONTROL	14
8. CALCULATION OF RESULTS	14
9. EXPECTED VALUES	15
10. PERFORMANCE CHARACTERISTICS	15

Инструкция составлена Руководителем службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА», к. б. н. Д. С. Кострикиным

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ С-ПЕПТИДА В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ ЧЕЛОВЕКА «С-ПЕПТИД-ИФА»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «С-пептид-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации С-пептида в сыворотке (плазме) крови, моче методом твердофазного иммуноферментного анализа.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение С-пептида основано на использовании «сэндвич»-варианта твердофазного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы мышиные моноклональные антитела к с-пептиду человека. В лунках планшета, при добавлении исследуемого образца, происходит связывание С-пептида, содержащегося в исследуемом образце, с антителами на твердой фазе. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата мышиных моноклональных антител к С-пептиду человека с пероксидазой хрена. В результате образуется связанный с пластиком «сэндвич», содержащий пероксидазу. Во время инкубации с раствором субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) происходит окрашивание растворов в лунках. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации С-пептида в исследуемом образце. Концентрацию С-пептида в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания С-пептида в калибровочных пробах.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Перекрестная реакция мышинных моноклональных антител к С-пептиду человека с другими анализатами приведена в таблице:

Аналит	Перекрестная реакция, %
инсулин человека	<0.01
проинсулин человека (интактный)	2.7
Humalog	0.3

3.2. Воспроизводимость.

Коэффициент вариации результатов определения содержания С-пептида в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «С-пептид-ИФА» не превышает 8.0 %.

3.3. Линейность.

Зависимость концентрации С-пептида в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей С-пептид, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 0.2-20 нг/мл и составляет ± 10.0 %.

3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации С-пептида предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 0.5 нг/мл. Процент «открытия» составляет 90–110 %.

3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «С-пептид-ИФА» концентрация С-пептида в сыворотке (плазме) крови не превышает 0.015 нг/мл.

3.6. Хук-эффект.

Не обнаружен до концентрации 400 нг/мл.

4. СОСТАВ НАБОРА

	Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1	P267CZ	SORB MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2	C267CZ	CAL 1 - 6	Калибровочные пробы на основе трис-буфера (рН 7.2-7.4), содержащие известные количества С-пептида - 0; 0.2; 0.5; 2; 5; 20 нг/мл, лиофилизированные (по 0.5 мл каждая)	6	шт.	после восстановления: прозрачные жидкости синего цвета (калибровочная проба 0 - прозрачная бесцветная жидкость)
3	Q267CZ	CONTROL	Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием С-пептида, лиофилизированная (0.5 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
4	T267CZ	CONJ HRP	Конъюгат , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость синего цвета
5	S011Z2	DIL SPE	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 , 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	K267CI	-	Инструкция по применению Набора реагентов «С-пептид-ИФА»	1	шт.	-
11	K267CQ	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «С-пептид-ИФА»	1	шт.	-

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

5.1. Потенциальный риск применения Набора – класс 26 (ГОСТ Р 51609-2000).

5.2. Все компоненты Набора, за исключением стоп-реагента (5.0 % раствор серной кислоты), в используемых концентрациях являются нетоксичными. Раствор серной кислоты обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. При попадании на кожу и слизистые пораженный участок следует промыть большим количеством проточной воды.

5.3. При работе с Набором следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

5.4. При работе с Набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированный материал, способный длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

5.5. Все использованные одноразовые материалы подвергать обработке дезинфицирующими средствами с последующей утилизацией (см. МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения»).

5.6. Медицинские отходы класса Б. Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПин 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность содержимого лунок планшета при длине волны 450 нм;
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы в диапазоне 25–250 мкл;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- бумага фильтровальная.

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

7.1. Перед проведением анализа компоненты Набора и исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови следует выдержать при комнатной температуре (+18...+25 °С) не менее 30 мин.

7.2. Приготовление планшета.

Вскрыть пакет с планшетом и установить на рамку необходимое количество стрипов. Оставшиеся неиспользованными стрипы, чтобы предотвратить воздействие на них влаги, тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора.

7.3. Приготовление отмывочного раствора.

Содержимое флакона с концентратом отмывочного раствора (22 мл), перенести в мерный цилиндр вместимостью 1000 мл, добавить 550 мл дистиллированной воды и тщательно перемешать. В случае дробного использования Набора следует отобрать необходимое количество концентрата отмывочного раствора и развести

дистиллированной водой в 26 раз (1 мл концентрата отмывочного раствора + 25 мл дистиллированной воды).

7.4. Подготовка калибровочных проб.

Приготовьте калибровочные пробы и контрольную сыворотку: добавьте 0.5 мл бидистиллированной воды в каждый флакон и тщательно перемешайте. Жидкие калибраторы должны быть использованы в течение 72 часов; для повторного использования их рекомендуется заморозить в аликвотах при температуре ниже 15°C. Для более длительного хранения калибраторы можно аликвотировать и хранить замороженными при температуре ниже -15°C. ВНИМАНИЕ: допускается не более 1 цикла замораживания-оттаивания!

7.5. Подготовка образцов мочи:

Осветлите образцы центрифугированием. Разбавьте в 21 раз Буфером для разведения образцов. Пример: 10 мкл образца + 200 мкл Буфера для разведения образцов. Внимание: разбавленный образец не хранится!

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

8.1. Набор реагентов «С-пептид-ИФА» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности, указанного на упаковке Набора. Допускается хранение (транспортировка) Набора при температуре до +25 °С не более 15 суток. Не допускается замораживание целого набора.

8.2. Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 41 исследуемого образца, 6 калибровочных проб и 1 пробы контрольной сыворотки (всего 96 определений).

8.3. В случае дробного использования Набора компоненты следует хранить следующим образом:

- оставшиеся неиспользованными стрипы необходимо тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;

- ИФА-Буфер, конъюгат, субстрат, стоп-реагент после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;

- калибровочные пробы и контрольную сыворотку после приготовления следует хранить при температуре +2...+8 °С не более 72 часов. Допускается однократная заморозка при температуре -20 °С и ниже, хранить не более 12 месяцев;

- оставшийся неиспользованным концентрат отмывочного раствора следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;

- приготовленный отмывочный раствор следует хранить при комнатной температуре (+18...+25 °С) не более 15 суток или при температуре +2...+8 °С не более 45 суток.

Примечание. После использования реагента немедленно закрывайте крышку флакона. Закрывайте каждый флакон своей крышкой.

8.4. Для проведения анализа не следует использовать 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. Образцы мочи следует осветлить центрифугированием перед анализом или после разморозки.

8.6. При использовании Набора для проведения нескольких независимых серий анализов следует иметь в виду, что для каждого независимого определения необходимо построение нового калибровочного графика; кроме этого, рекомендуется определение концентрации С-пептида в контрольной сыворотке.

8.7. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение Инструкции по применению Набора.

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов - исследуемые образцы в 2 повторях и 14 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки.
2	Приготовьте калибровочные пробы и контрольную сыворотку: добавьте 0.5 мл бидистиллированной воды в каждый флакон и тщательно перемешайте. Жидкие калибраторы должны быть использованы в течение 72 часов; для повторного использования их рекомендуется заморозить в аликвотах при температуре ниже 15°C. Для более длительного хранения калибраторы можно алик-вотировать и хранить замороженными при температуре ниже -15°C. ВНИМАНИЕ: допускается не более 1 цикла замораживания-оттаивания!
3	Подготовьте образцы мочи для анализа (п 7.5)
4	Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 25 мкл калибровочной пробы и контрольной сыворотки . В остальные лунки внесите в дубликатах по 25 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови, подготовленных образцов мочи. Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
5	Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата .
6	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте его в течение 60 минут при температуре +18...+25 °С .
7	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз . При каждой отмывке добавьте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п.7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок постукиванием планшета в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.
8	Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина . Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2-3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной тем-пературе (+18...+25 °С) в течение 10-20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.
9	Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
10	Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм. Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометраставляйте по калибровочной пробе С1.
11	Постройте в линейных координатах калибровочный график: ось абсцисс (x) - концентрация С-пептида в калибровочных пробах (нг/мл), ось ординат (y) - оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма обсчета (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод.
12	Определите по калибровочному графику содержание С-пептида в исследуемых образцах. Если исследуемый образец предразводили (см. п.2), умножьте полученный результат на фактор разведения.

10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ

10.1. Основываясь на результатах исследований, проведенных ООО «ХЕМА», рекомендуем пользоваться нормами, приведенными ниже. Вместе с тем, в соответствии с правилами GLP (Хорошей лабораторной практики), каждая лаборатория должна сама определить параметры нормы, характерные для обследуемой популяции.

Примечание. Значения концентраций С-пептида в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0.015 нг/мл), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (20 нг/мл) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация С-пептида ниже 0.015 нг/мл или выше 20 нг/мл.

В Наборе «С-пептид-ИФА» значения концентраций калибровочных проб выражены в нг/мл. Для пересчета концентраций в пкмоль/л, полученное значение концентрации в нг/мл следует умножить на 331.

$$1 \text{ нг/мл} = 331 \text{ пкмоль/л}$$

Исследуемая группа	Единицы, нг/мл		Единицы доп., пкмоль/л	
	Нижний предел	Верхний предел	Нижний предел	Верхний предел
Сыворотка (плазма)	0.9	5.0	298	1655
моча	2 мкг/день	260 мкг/день		

По вопросам, касающимся качества Набора «С-пептид-ИФА», следует обращаться в ООО «ХЕМА» по адресу:
 105043, г. Москва, а/я 58
 105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1-й под., 5 этаж,
 тел/факс (495) 737-39-36, 737-00-40, 510-57-07 (многоканальный)
 электронная почта: info@xema.ru; rqc@xema.ru
 интернет: www.xema.ru; www.xema-medica.com
 Руководитель службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА»,
 к. б. н. Д. С. Кострикин

Instruction for use

A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF TOTAL PSA IN HUMAN SERUM OR PLASMA

1. INTENDED USE

A solid-phase enzyme immunoassay for the quantitative determination of C-peptide in blood serum or plasma.

This kit is designed for measurement of C-peptide in blood serum or plasma. For possibility of use with other sample types, please, refer to Application Notes (on request). The kit contains reagents sufficient for 96 determinations and allows to analyze 41 unknown samples in duplicates.

2. PRINCIPLE OF THE TEST

This test is based on two-site sandwich enzyme immunoassay principle. Tested specimen is placed into the microwells coated by specific murine monoclonal to human C-peptide-antibodies. Antigen from the specimen is captured by the antibodies coated onto the microwell surface. Second antibodies - murine monoclonal to human C-peptide, labelled with peroxidase enzyme, are then added into the microwells. After washing procedure, the remaining enzymatic activity bound to the microwell surface is detected and quantified by addition of chromogen-substrate mixture, stop solution and photometry at 450 nm. Optical density in the microwell is directly related to the quantity of the measured analyte in the specimen.

3. WARNINGS AND PRECAUTIONS

3.1. For professional use only.

3.2. This kit is intended for in vitro diagnostic use only.

3.3. INFECTION HAZARD: There is no available test methods that can absolutely assure that Hepatitis B and C viruses, HIV-1/2, or other infectious agents are not present in the reagents of this kit. All human products, including patient samples, should be considered potentially infectious. Handling and disposal should be in accordance with the procedures defined by an appropriate national biohazard safety guidelines or regulations.

3.4. Avoid contact with stop solution containing 5.0 % H₂SO₃. It may cause skin irritation and burns.

3.5. Wear disposable latex gloves when handling specimens and reagents. Microbial contamination of reagents may give false results.

3.6. Do not use the kit beyond the expiration date.

3.7. All indicated volumes have to be performed according to the protocol. Optimal test results are only obtained when using calibrated pipettes and microplate readers.

3.8. Do not smoke, eat, drink or apply cosmetics in areas where specimens or kit reagents are handled.

3.9. Chemicals and prepared or used reagents have to be treated as hazardous waste according to the national biohazard safety guidelines or regulations.

3.10. Do not mix reagents from different lots.

3.11. Replace caps on reagents immediately. Do not swap caps.

3.12. Do not pipette reagents by mouth.

3.13. Specimens must not contain any AZIDE compounds – they inhibit activity of peroxidase.

3.14. Material Safety Data Sheet for this product is available upon request directly from XEMA Co., Ltd.

3.15. The Material Safety Data Sheet fit the requirements of EU Guideline 91/155 EC.

4.1. Contents of the Kit

4. KIT COMPONENTS

Symbol	Description	Qty	Units	Colour code	Stability of opened/diluted components
1 SORB MTP	C-peptide EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp.date
2 CAL 1 - 6	Calibrator set, 0.5 ml each. The set contains 6 calibrators: 0; 0.2; 0.5; 2; 5; 20 ng/ml	6	pcs	blue (C1 - colourless)	2 months
3 CON-TROL	Control serum (0.5 ml)	1	pcs	colourless	2 months
4 CONJ HRP	Conjugate, 14 ml	1	pcs	blue	until exp.date
5 DIL SPE	EIA buffer 22 ml	1	pcs	blue	until exp.date
6 SUBS TMB	Substrate solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
7 BUF WASH 26X	Washing solution concentrate 26x, 22 ml	1	pcs	colourless	Concentrate - until exp. date Diluted washing solution - 45 days at +2...+8 °C or 15 days at RT
8 STOP	Stop solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
9 N003	Plate sealing tape	2	pcs	-	N/A
10 K267CI	Instruction C-peptide EIA	1	pcs	-	N/A
11 K267CQ	QC data sheet C-peptide EIA			-	N/A

4.2. Equipment and material required but not provided

- Distilled or deionized water;
- Automatic or semiautomatic multichannel micropipettes, 100–250 µl, is useful but not essential;
- Calibrated micropipettes with variable volume, range volume 25–250 µl;
- Calibrated microplate photometer with 450 nm wavelength and OD measuring range 0–3.0

4.3. Storage and stability of the Kit

Store the whole kit at +2...+8 °C upon receipt until the expiration date.

After opening the pouch keep unused microtiter wells **TIGHTLY SEALED BY ADHESIVE TAPE (INCLUDED)** to minimize exposure to moisture.

5. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

Specimens of serum/plasma may be stored for up to 72 hours at +2...+8 °C before testing. For a longer storage, the specimens should be frozen at -20 °C or lower. Repeated freezing/thawing should be avoided.

Urine:

Centrifuge sample to clear. Urine samples may be stored for up to 36 hours at +2...+8 °C prior to assaying.

Dilute sample by DIL SPE in 21 times. Do not store diluted samples!

6. TEST PROCEDURE**6.1.** Reagent Preparation

- All reagents (including unsealed microstrips) should be allowed to reach room temperature (+18 to +25 °C) before use.
- All reagents should be mixed by gentle inversion or vortexing prior to use. Avoid foam formation.
- It is recommended to spin down shortly the tubes with calibrators on low speed centrifuge.
- Prepare washing solution from the concentrate BUF WASH 26X by 26 dilutions in distilled water.

6.2. Procedural Note:

It is recommended that pipetting of all calibrators and samples should be completed within 3 minutes.

6.3. Assay flowchart

See the example of calibration graphic in Quality Control data sheet.

6.4. Assay procedure

1	Put the desired number of microstrips into the frame; allocate 14 wells for the calibrators CAL 1 - 6 and control samples CONTROL and two wells for each unknown sample. DO NOT REMOVE ADHESIVE SEALING TAPE FROM UNUSED STRIPS.
2	Before first use of the kit dissolve the calibrators: add 0.5 ml deionized water to each vial and mix thoroughly avoiding foam formation. Liquid calibrators should be assayed within an 72 hour, aliquoted and stored frozen below -15 °C. For long term storage it is recommended to freeze the calibrators in aliquoted portions and store below -15 °C. ATTENTION: AVOID MORE THAN 1 FREEZE-THAW CYCLES!
3	Pipet 25 µl of calibrators CAL 1 - 6, control samples CONTROL and unknown samples into the wells.
4	Dispense 100 µl of CONJ HRP into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape (included into the kit).
5	Incubate 60 minutes at 18-25°C.
6	Prepare washing solution by 26x dilution of washing solution concentrate (BUF WASH 26X) by distilled water. Wash the strips 5 times.
7	Dispense 100 µl of SUBS TMB into the wells.
8	Incubate 10-20 minutes at 18-25 °C.
9	Dispense 100 µl of STOP into the wells.
10	Measure OD (optical density) at 450 nm.
11	Set photometer blank on first calibrator.
12	Apply point-by-point method for data reduction.
13	Apply point-by-point method for data reduction.

6.5. Handling notes

Calibrators and control sample(s) – only one freezing/thawing cycle is allowed

7. QUALITY CONTROL

It is recommended to use control samples according to state and federal regulations. The use of control samples is advised to assure the day to day validity of results.

The test must be performed exactly as per the manufacturer's instructions for use. Moreover the user must strictly adhere to the rules of GLP (Good Laboratory Practice) or other applicable federal, state, and local standards and/or laws. This is especially relevant for the use of control reagents. It is important to always include, within the test procedure, a sufficient number of controls for validating the accuracy and precision of the test.

The test results are valid only if all controls are within the specified ranges and if all other test parameters are also within the given assay specifications.

8. CALCULATION OF RESULTS

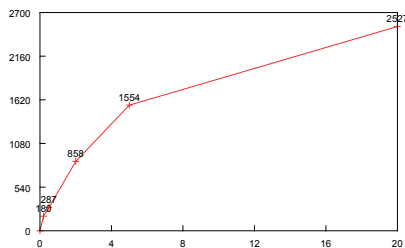
8.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

8.2. Plot a calibration curve on graph paper: OD versus C-peptide concentration.

8.3. Determine the corresponding concentration of C-peptide in unknown samples from the calibration curve. Manual or computerized data reduction is applicable on this stage. Point-by-point or linear data reduction is recommended due to non-linear shape of curve.

8.4. Below is presented a typical example of a standard curve with the XEMA Co. Not for calculations!

Calibrators	Value	Absorbance Units (450 nm)
CAL 1	0 ng/ml	0.05
CAL 2	0.2 ng/ml	0.23
CAL 3	0.5 ng/ml	0.33
CAL 4	2 ng/ml	0.90
CAL 5	5 ng/ml	1.60
CAL 6	20 ng/ml	2.57



9. EXPECTED VALUES

Therapeutical consequences should not be based on results of IVD methods alone – all available clinical and laboratory findings should be used by a physician to elaborate therapeutically measures. Each laboratory should establish its own normal range for C-peptide. Based on data obtained by XEMA, the following normal range is recommended (see below). NOTE: the patients that have received murine monoclonal antibodies for radioimaging or immunotherapy develop high titered anti-mouse antibodies (HAMA). The presence of these antibodies may cause false results in the present assay. Sera from HAMA positive patients should be treated with depleting adsorbents before assaying.

Sex, age	Units, ng/ml		Units alternative, pM	
	Lower limit	Upper limit	Lower limit	Upper limit
serum (plasma)	0.9	5.0	298	1655
urine	2 ug/day	260 ug/day	0	0

10. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

10.1. Analytical specificity / Cross reactivity

Analyte	Cross-reactivity, % wt/wt
Human insulin	<0.01
Human proinsulin (intact)	2.7
Humalog	0.3

10.2. Precision

Intra-assay precision is shown below:

Serum, no	duplicated	value, ng/ml	CV1, %
1	10	0.6	6.7
2	10	5.8	7,7

Inter-assay precision is shown below:

Serum, no	duplicated	value, ng/ml	CV, %
1	10	0.85	4.5
2	10	4.3	5.6

10.3. Analytical sensitivity


















Sensitivity of the assay was assessed as being 0.015 ng/ml.

10.4. Linearity

Linearity was checked by assaying dilution series of 5 samples with different C-peptide concentrations. Linearity percentages obtained ranged within 90 to 110%.

10.5. Recovery

Recovery was estimated by assaying 5 mixed samples with known C-peptide concentrations. The recovery percentages ranged from 90 to 110%.

Символ / Symbol	Значение символа / Symbolize
	Производитель / Manufacturer
	Дата производства / Date of manufacture
	Номер по каталогу / Catalogue number
	Номер серии / Batch code
	Использовать до (год-месяц) / Use By
	Ограничение температуры / Temperature limitation
	Только для ин витро диагностики / In Vitro Diagnostic Medical Device
	Внимание! / Caution, consult accompanying documents
	Не использовать при нарушении целостности упаковки / Do not use if package damaged
	Планшет / EIA strips
	Калибровочные пробы / Calibrator set
	Контрольная сыворотка / Control sera
	Конъюгат / Conjugate
	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) / Substrate solution
	Концентрат отмывочного раствора / Washing solution concentrate
	Стоп-реагент / Stop solution
	ИФА-Буфер / EIA buffer

Уважаемый Клиент!

Если в процессе работы с нашими Наборами Вам понадобились пластиковые ванночки для жидких реагентов, одноразовые наконечники для дозаторов или дополнительные объемы реагентов (концентрат отмывочного раствора, ИФА-Буфер, раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), стоп-реагент), входящих в состав Набора, просим Вас обратиться к поставщику продукции ООО «ХЕМА» в Вашем регионе.

Все указанные расходные материалы предоставляются бесплатно, в необходимом для проведения анализа количестве.

Перечень наборов реагентов для диагностики инфекционных заболеваний производства ООО «ХЕМА»

№ по каталогу	Наименование
K101	«Toxoplasma IgG-ИФА»
K101M	«Toxoplasma IgM-ИФА»
K102	«Rubella IgG-ИФА»
K102M	«Rubella IgM-ИФА»
K103	«Cytomegalovirus IgG-ИФА»
K103M	«Cytomegalovirus IgM-ИФА»
K104	«HSV 1,2 IgG-ИФА»
K104M	«HSV 1,2 IgM-ИФА»
K105	«Chlamydia IgG-ИФА»
K106	«Mycoplasma IgG-ИФА»
K111G	«Сифилис IgG-ИФА»
K111	«Сифилис суммарные антитела-ИФА»
K121	«Aspergillus IgG-ИФА»



Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

8 800 505 23 45

Все звонки на номер горячей линии бесплатны для звонящего с любого мобильного или стационарного телефона по всей территории России.

Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

105043, г. Москва, а/я 58

105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1-й под., 5 этаж

тел.: +7 (495) 510-57 07, 737-39-36;

факс: +7 (495) 737-00-40

e-mail: info@xema.ru

www.xema-medica.com

ФООО «Хема», тел.: +7 (812) 271-24-41

191144, Санкт-Петербург, Дегтярный пер., д. 8-10, литер А

e-mail: spb@xema.ru

СП ООО «Хемма-Тест», тел.: (17) 211-80-39

Офис: 220029, Минск, Проспект Машерова, д. 11,

литер А, корп. 8/К, офис 416

e-mail: hemma-test@yandex.ru

ТОВ «Хема», тел.: (044) 422-62-16;

03179, г. Киев, ул. Академика Ефремова, д. 23;

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com





Instruction for use



**НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО
ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИНСУЛИНА
В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ ЧЕЛОВЕКА**

«ИНСУЛИН-ИФА»

**A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY FOR
THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF INSULIN
IN HUMAN BLOOD SERUM OR PLASMA**

INSULIN EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF** **K267N**

ТУ № 21.20.23-267-18619450-2018

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
№ РЗН 2018/7882 от 07 декабря 2018 г.

Антитела к ВИЧ 1,2, вирусу гепатита С и HBsAg отсутствуют
Контрольные сыворотки, входящие в состав набора, инактивированы.



For 96 determinations/На 96 определений



Для *in vitro* диагностики

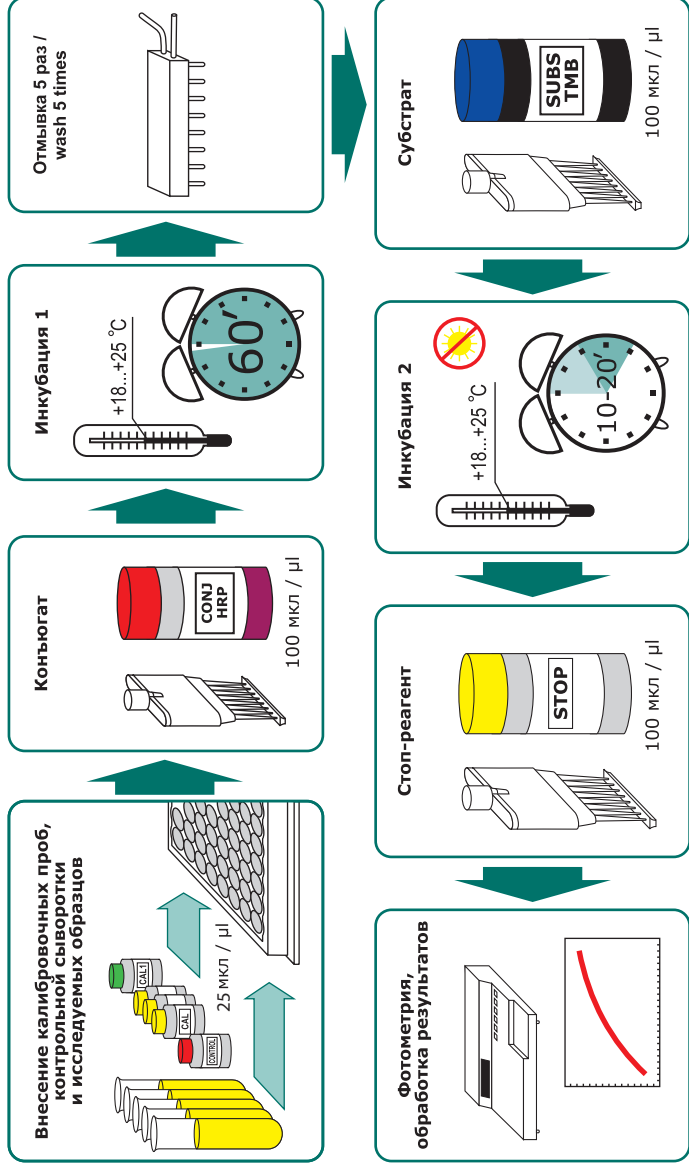


ООО "ХЕМА"
125000, Московская обл., г. Балашиха,
ул. Трубецкая, д. 2В
redkin@xema-medica.com
www.xema-medica.com



Authorized Representative in EU:
Polmed.de
Steinacker 20, D-73773
Aichwald, Germany
e-mail: info@polmed.de

Схема проведения анализа / Test procedure



K267N

СОДЕРЖАНИЕ

1. НАЗНАЧЕНИЕ	2
2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА	2
3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	3
4. СОСТАВ НАБОРА	4
5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	5
6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ	5
7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА	5
8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА	6
9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА	7
10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ	8

CONTENT

1. INTENDED USE	9
2. PRINCIPLE OF THE TEST	9
3. WARNINGS AND PRECAUTIONS	10
4. KIT COMPONENTS	11
5. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE	12
6. TEST PROCEDURE	12
7. QUALITY CONTROL	14
8. CALCULATION OF RESULTS	14
9. EXPECTED VALUES	15
10. PERFORMANCE CHARACTERISTICS	15

Инструкция составлена Руководителем службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА», к. б. н. Д. С. Кострикиным

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИНСУЛИНА В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ ЧЕЛОВЕКА «ИНСУЛИН-ИФА»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «ИНСУЛИН-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации инсулина в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение инсулина основано на использовании «сэндвич»-варианта твердофазного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы мышинные моноклональные антитела к инсулину человека. В лунках планшета, при добавлении исследуемого образца, происходит связывание инсулина, содержащегося в исследуемом образце, с антителами на твердой фазе. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата мышинных моноклональных антител к инсулину 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 инсулина в исследуемом образце. Концентрацию инсулина в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания инсулина в калибровочных пробах.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Перекрестная реакция мышинных моноклональных антител к инсулину человека с другими анализатами приведена в таблице:

Аналит	Перекрестная реакция, %
проинсулин человека	<0.01
бычий инсулин	<40
свиной инсулин	<60

3.2. Воспроизводимость.

Коэффициент вариации результатов определения содержания инсулина в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «ИНСУЛИН-ИФА» не превышает 8.0 %.

3.3. Линейность.

Зависимость концентрации инсулина в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей инсулин, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 4-200 мкМЕ/мл и составляет ± 10.0 %.

3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации инсулина предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 15 мкМЕ/мл. Процент «открытия» составляет 90-110%.

3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «ИНСУЛИН-ИФА» концентрация инсулина в сыворотке (плазме) крови не превышает 0.5 мкМЕ/мл.

3.6. Хук-эффект.

Не обнаружен до концентрации 5000 мкМЕ/мл.

4. СОСТАВ НАБОРА

Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1	P267NZ	ПЛАНШЕТ 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2	C267NZ	Калибровочные пробы на основе трис-буфера (рН 7.2-7.4), содержащие известные количества инсулина - 0; 4; 15; 60; 200; мкМЕ/мл, лиофилизированные (по 0.5 мл каждая)	5	шт.	после восстановления: прозрачные жидкости синего цвета (калибровочная проба 0 - прозрачная бесцветная жидкость)
3	Q267NZ	Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием инсулина, лиофилизированная (0.5 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
4	T267NZ	Конъюгат , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость пурпурного цвета
5	S011Z2	ИФА-Буфер , готов к использованию (22 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость синего цвета
6	R055Z	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
7	S008Z	Концентрат отмывочного раствора, 26x-кратный (22 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
8	R050Z	Стоп-реагент , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
9	N003	Бумага для заклеивания планшета	2	шт.	-
10	K267NI	Инструкция по применению Набора реагентов «Инсулин-ИФА»	1	шт.	-
11	K267NQ	Паспорт контроля качества Набора реагентов «Инсулин-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.

5.5. Все использованные одноразовые материалы подвергать обработке дезинфицирующими средствами с последующей утилизацией (см. МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения»).

5.6. Медицинские отходы класса Б. Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПин 2.1.7.2790-10 «Санитарноэпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность содержимого лунок планшета при длине волны 450 нм;
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы в диапазоне 25–250 мкл;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- бумага фильтровальная.

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

7.1. Перед проведением анализа компоненты Набора и исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови следует выдержать при комнатной температуре (+18...+25 °С) не менее 30 мин.

7.2. Приготовление планшета.

Вскрыть пакет с планшетом и установить на рамку необходимое количество стрипов. Оставшиеся неиспользованными стрипы, чтобы предотвратить воздействие на них влаги, тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора.

7.3. Приготовление отмывочного раствора.

Содержимое флакона с концентратом отмывочного раствора (22 мл), перенести в мерный цилиндр вместимостью 1000 мл, добавить 550 мл дистиллированной

воды и тщательно перемешать. В случае дробного использования Набора следует отобрать необходимое количество концентрата отмывочного раствора и развести дистиллированной водой в 26 раз (1 мл концентрата отмывочного раствора + 25 мл дистиллированной воды).

7.4. Подготовка калибровочных проб. Приготовьте калибровочные пробы и контрольную сыворотку: добавьте 0.5 мл бидистиллированной воды в каждый флакон и тщательно перемешайте. Жидкие калибраторы должны быть использованы в течение 72 часов; для повторного использования их рекомендуется заморозить в аликвотах при температуре ниже 15°C. Для более длительного хранения калибраторы можно аликвотировать и хранить замороженными при температуре ниже -15°C. **ВНИМАНИЕ:** допускается не более 1 цикла замораживания-оттаивания!

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

8.1. Набор реагентов «ИНСУЛИН-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 приготовления следует хранить при температуре +2...+8 °С не более 72 часов. Допускается однократная заморозка при температуре -20 °С и ниже, хранить не более 12 месяцев;
- оставшийся неиспользованным концентрат отмывочного раствора следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- приготовленный отмывочный раствор следует хранить при комнатной температуре (+18...+25 °С) не более 15 суток или при температуре +2...+8 °С не более 45 суток.

Примечание. После использования реагента немедленно закрывайте крышку флакона. Закрывайте каждый флакон своей крышкой.

8.4. Для проведения анализа не следует использовать 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.

8.6. 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 инсулина в контрольной сыворотке.

8.7. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение Инструкции по применению Набора.

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов - исследуемые образцы в 2 повторах и 12 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки.
2	Приготовьте калибровочные пробы и контрольную сыворотку: добавьте 0.5 мл бидистиллированной воды в каждый флакон и тщательно перемешайте. Жидкие калибраторы должны быть использованы в течение 72 часов; для повторного использования их рекомендуется заморозить в аликвотах при температуре ниже 15°C. Для более длительного хранения калибраторы можно аликвотировать и хранить замороженными при температуре ниже -15°C. ВНИМАНИЕ: допускается не более 1 цикла замораживания-оттаивания!
3	Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 25 мкл калибровочной пробы и контрольной сыворотки . В остальные лунки внесите в дубликатах по 25 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы). Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
4	Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата .
5	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте его в течение 60 минут при температуре +18...+25 °C .
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 °C) 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 выставьте по калибровочной пробе С1.
10	Постройте в линейных координатах калибровочный график: ось абсцисс (x) - концентрация инсулина в калибровочных пробах (нг/мл), ось ординат (y) - оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма обсчета (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод.
11	Определите по калибровочному графику содержание инсулина 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 инсулина в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0.5 мкМЕ/мл), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (200 мкМЕ/мл) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация инсулина ниже 0.5 мкМЕ/мл или выше 200 мкМЕ/мл.

В Наборе «ИНСУЛИН-ИФА» значения концентраций калибровочных проб выражены в мкМЕ/мл. Для пересчета концентраций в пкмоль/л, полученное значение концентрации в мкМЕ/мл следует умножить на 7.217.

1 мкМЕ/мл = 7.217 пкмоль/л

Исследуемая группа	Единицы, мкМЕ/мл		Единицы доп., пкмоль/л	
	Нижний предел	Верхний предел	Нижний предел	Верхний предел
сыворотка (плазма)	2.0	29.0	14	209.29

По вопросам, касающимся качества Набора «ИНСУЛИН-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 Insulin in blood serum or plasma.

This kit is designed for measurement of Insulin in blood serum or plasma. For possibility of use with other sample types, please, refer to Application Notes (on request). The kit contains reagents sufficient for 96 determinations and allows to analyze 41 unknown samples in duplicates.

2. PRINCIPLE OF THE TEST

This test is based on two-site sandwich enzyme immunoassay principle. Tested specimen is placed into the microwells coated by specific murine monoclonal to human Insulin-antibodies. Antigen from the specimen is captured by the antibodies coated onto the microwell surface. Second antibodies - murine monoclonal to human Insulin, labelled with peroxidase enzyme, are then added into the microwells. After washing procedure, the remaining enzymatic activity bound to the microwell surface is detected and quantified by addition of chromogen-substrate mixture, stop solution and photometry at 450 nm. Optical density in the microwell is directly related to the quantity of the measured analyte in the specimen.

3. WARNINGS AND PRECAUTIONS

3.1. For professional use only.

3.2. This kit is intended for in vitro diagnostic use only.

3.3. INFECTION HAZARD: There is no available test methods that can absolutely assure that Hepatitis B and C viruses, HIV-1/2, or other infectious agents are not present in the reagents of this kit. All human products, including patient samples, should be considered potentially infectious. Handling and disposal should be in accordance with the procedures defined by an appropriate national biohazard safety guidelines or regulations.

3.4. Avoid contact with stop solution containing 5.0 % H₂SO₃. It may cause skin irritation and burns.

3.5. Wear disposable latex gloves when handling specimens and reagents. Microbial contamination of reagents may give false results.

3.6. Do not use the kit beyond the expiration date.

3.7. All indicated volumes have to be performed according to the protocol. Optimal test results are only obtained when using calibrated pipettes and microplate readers.

3.8. Do not smoke, eat, drink or apply cosmetics in areas where specimens or kit reagents are handled.

3.9. Chemicals and prepared or used reagents have to be treated as hazardous waste according to the national biohazard safety guidelines or regulations.

3.10. Do not mix reagents from different lots.

3.11. Replace caps on reagents immediately. Do not swap caps.

3.12. Do not pipette reagents by mouth.

3.13. Specimens must not contain any AZIDE compounds – they inhibit activity of peroxidase.

3.14. Material Safety Data Sheet for this product is available upon request directly from XEMA Co., Ltd.

3.15. The Material Safety Data Sheet fit the requirements of EU Guideline 91/155 EC.

4.1. Contents of the Kit

4. KIT COMPONENTS

Symbol	Description	Qty	Units	Colour code	Stability of opened/diluted components
1	Insulin EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp.date
2	Calibrator set, 0.5 ml each. The set contains 5 calibrators: 0; 4; 15; 60; 200, uIU/ml	5	pcs	blue (C1 - colourless)	2 months
3	Control serum (0.5 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 Insulin EIA	1	pcs	-	N/A
11	QC data sheet Insulin EIA			-	N/A

4.2. Equipment and material required but not provided

- Distilled or deionized water;
- Automatic or semiautomatic multichannel micropipettes, 100–250 µl, is useful but not essential;
- Calibrated micropipettes with variable volume, range volume 25–250 µl;
- Calibrated microplate photometer with 450 nm wavelength and OD measuring range 0–3.0

4.3. Storage and stability of the Kit

Store the whole kit at +2...+8 °C upon receipt until the expiration date.

After opening the pouch keep unused microtiter wells **TIGHTLY SEALED BY ADHESIVE TAPE (INCLUDED)** to minimize exposure to moisture.

5. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

Specimens of serum/plasma may be stored for up to 72 hours at +2...+8 °C before testing. For a longer storage, the specimens should be frozen at -20 °C or lower. Repeated freezing/thawing should be avoided.

6. TEST PROCEDURE**6.1. Reagent Preparation**

- All reagents (including unsealed microstrips) should be allowed to reach room temperature (+18 to +25 °C) before use.
- All reagents should be mixed by gentle inversion or vortexing prior to use. Avoid foam formation.
- It is recommended to spin down shortly the tubes with calibrators on low speed centrifuge.
- Prepare washing solution from the concentrate BUF WASH 26X by 26 dilutions in distilled water.

6.2. Procedural Note:

It is recommended that pipetting of all calibrators and samples should be completed within 3 minutes.

6.3. Assay flowchart

See the example of calibration graphic in Quality Control data sheet.

6.4. Assay procedure

1	Put the desired number of microstrips into the frame; allocate 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	Before first use of the kit dissolve the calibrators: add 0.5 ml deionized water to each vial and mix thoroughly avoiding foam formation. Liquid calibrators should be assayed within an 72 hour, aliquoted and stored frozen below -15 °C. For long term storage it is recommended to freeze the calibrators in aliquoted portions and store below -15 °C. ATTENTION: AVOID MORE THAN 1 FREEZE-THAW CYCLES!
3	Pipet 25 µl of calibrators CAL 1 - 5, control samples CONTROL and unknown samples into the wells.
4	Dispense 100 µl of CONJ HRP into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape (included into the kit).
5	Incubate 60 minutes at +18...+25°C.
6	Prepare washing solution by 26x dilution of washing solution concentrate (BUF WASH 26X) by distilled water. Wash the strips 5 times.
7	Dispense 100 µl of SUBS TMB into the wells.
8	Incubate 10-20 minutes at +18...+25 °C.
9	Dispense 100 µl of STOP into the wells.
10	Measure OD (optical density) at 450 nm.
11	Set photometer blank on first calibrator.
12	Apply point-by-point method for data reduction.
13	Apply point-by-point method for data reduction.

6.5. Handling notes

Calibrators and control sample(s) – only one freezing/thawing cycle is allowed

7. QUALITY CONTROL

It is recommended to use control samples according to state and federal regulations. The use of control samples is advised to assure the day to day validity of results.

The test must be performed exactly as per the manufacturer's instructions for use. Moreover the user must strictly adhere to the rules of GLP (Good Laboratory Practice) or other applicable federal, state, and local standards and/or laws. This is especially relevant for the use of control reagents. It is important to always include, within the test procedure, a sufficient number of controls for validating the accuracy and precision of the test.

The test results are valid only if all controls are within the specified ranges and if all other test parameters are also within the given assay specifications.

8. CALCULATION OF RESULTS

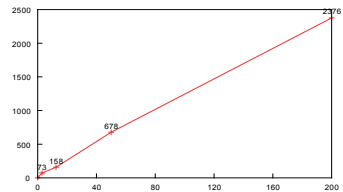
8.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

8.2. Plot a calibration curve on graph paper: OD versus insulin concentration.

8.3. Determine the corresponding concentration of Insulin in unknown samples from the calibration curve. Manual or computerized data reduction is applicable on this stage. Point-by-point or linear data reduction is recommended due to non-linear shape of curve.

8.4. Below is presented a typical example of a standard curve with the XEMA Co. Not for calculations!

Calibrators	Value	Absorbance Units (450 nm)
CAL 1	0 uIU/ml	0.05
CAL 2	4 uIU/ml	0.12
CAL 3	15 uIU/ml	0.21
CAL 4	60 uIU/ml	0.73
CAL 5	200 uIU/ml	2.42



9. EXPECTED VALUES

Therapeutical consequences should not be based on results of IVD methods alone – all available clinical and laboratory findings should be used by a physician to elaborate therapeutically measures. Each laboratory should establish its own normal range for Insulin. 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, uIU/ml		Units alternative, pM	
	Lower limit	Upper limit	Lower limit	Upper limit
serum (plasma)	2.0	29.0	14	209

10. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

10.1. Analytical specificity / Cross reactivity. The antibodies employed in this kit cross react with bovine insulin (20-25 %) and porcine insulin but not with proinsulin of any species or any other insulin complexes.

10.2. Precision

Intra-assay precision is shown below:

Serum, no	duplicated	value, uIU/ml	CV1, %
1	10	12.5	7.4
2	10	57.3	6.3

Inter-assay precision is shown below:

Serum, no	duplicated	value, uIU/ml	CV, %
1	10	6.7	6.5
2	10	34.3	5.4

10.3. Analytical sensitivity


















Sensitivity of the assay was assessed as being 0.5 uIU/ml.

10.4. Linearity

Linearity was checked by assaying dilution series of 5 samples with different Insulin concentrations. Linearity percentages obtained ranged within 90 to 110%.

10.5. Recovery

Recovery was estimated by assaying 5 mixed samples with known Insulin concentrations. The recovery percentages ranged from 90 to 110%.

Символ / Symbol	Значение символа / Symbolize
	Производитель / Manufacturer
	Дата производства / Date of manufacture
	Номер по каталогу / Catalogue number
	Номер серии / Batch code
 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»



Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

8 800 505 23 45

Все звонки на номер горячей линии бесплатны для звонящего с любого мобильного или стационарного телефона по всей территории России.

Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

105043, г. Москва, а/я 58

105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1-й под., 5 этаж

тел.: +7 (495) 510-57 07, 737-39-36;

факс: +7 (495) 737-00-40

e-mail: info@xema.ru

www.xema-medica.com

ФООО «Хема», тел.: +7 (812) 271-24-41

191144, Санкт-Петербург, Дегтярный пер., д. 8-10, литер А

e-mail: spb@xema.ru

СП ООО «Хемма-Тест», тел.: (17) 211-80-39

Офис: 220029, Минск, Проспект Машерова, д. 11,

литер А, корп. 8/К, офис 416

e-mail: hemma-test@yandex.ru

ТОВ «Хема», тел.: (044) 422-62-16;

03179, г. Киев, ул. Академика Ефремова, д. 23;

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com





Instruction for use



**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ
ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОБЩЕГО IgG
В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ**

«общий IgG-ИФА»

**A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY
FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION
OF TOTAL IgG IN HUMAN BIOLOGICAL FLUIDS**

Total IgG EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ REF **K271**

ТУ № 9398-271-18619450-2009

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
№ ФСР 2009/06104 от 19 ноября 2009 года

Антитела к ВИЧ 1,2, вирусу гепатита С и HBsAg отсутствуют
Контрольные сыворотки, входящие в состав набора, инактивированы.



For 96 determinations/На 96 определений



Для *ин vitro* диагностики

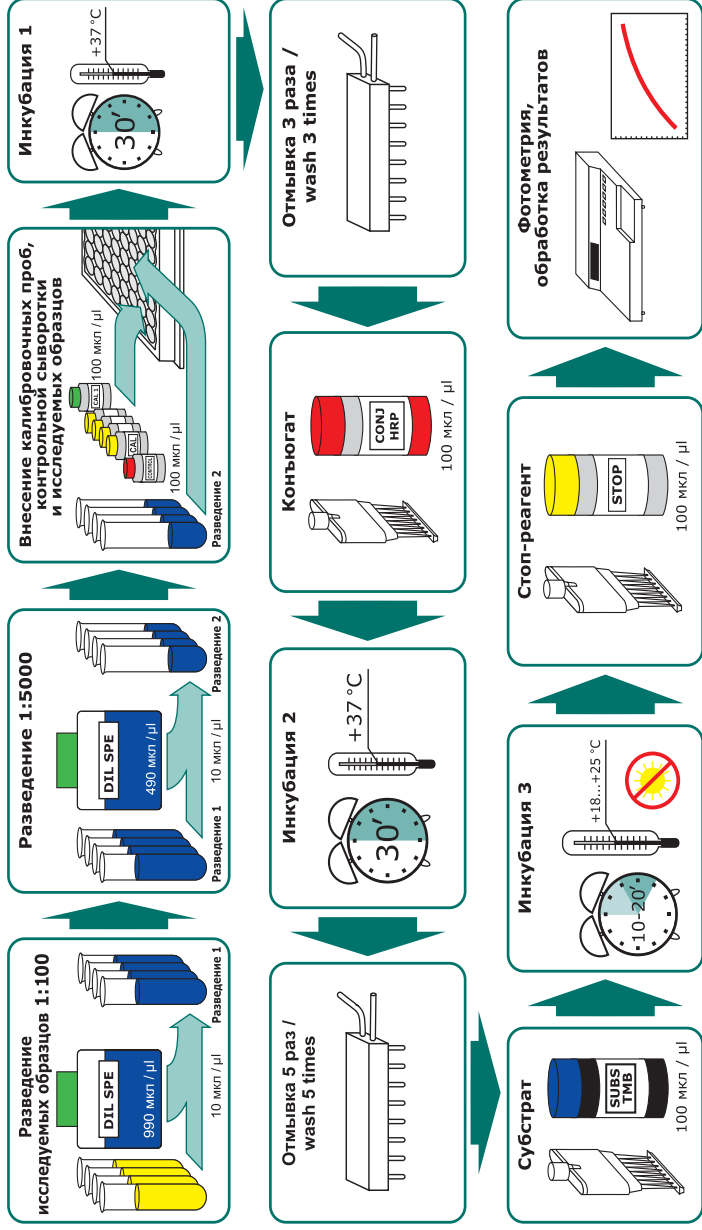


XEMA Co., Ltd.
The 9th Parkovaya str., 48
105264 Moscow, Russia
Tel./fax: +7(495) 510-57-07
e-mail: redkin@xema-medica.com
internet: www.xema-medica.com



Authorized Representative in EU:
Polmed.de
Steinacker 20, D-73773
Aichwald, Germany
e-mail: info@polmed.de

Схема проведения анализа / Test procedure *



* Для сыоротки (плазмы) крови.
Способ разведения для Других видов материала приведен в таблице M

* Blood serum or plasma
For other tested materials, see table M.

K271

СОДЕРЖАНИЕ

1. НАЗНАЧЕНИЕ	2
2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА	2
3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	3
4. СОСТАВ НАБОРА	4
5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	5
6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ	5
7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА	5
8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА	6
9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА	7
10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ	9
11. ЛИТЕРАТУРА	9

CONTENT

1. INTENDED USE	10
2. SUMMARY AND EXPLANATION	10
3. PRINCIPLE OF THE TEST	10
4. WARNINGS AND PRECAUTIONS	11
5. KIT COMPONENTS	12
6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE	13
7. TEST PROCEDURE	13
8. QUALITY CONTROL	15
9. CALCULATION OF RESULTS	15
10. EXPECTED VALUES	16
11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS	16
12. LITERATURE	16

Инструкция составлена Руководителем службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА»,
к. б. н. Д. С. Кострикиным

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОБЩЕГО IgG В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ «общий IgG-ИФА»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «общий IgG-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации общего IgG в биологических жидкостях (см. таблицу М) методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Антитела класса IgG преобладают в составе фракции γ – глобулинов и являются основным классом антител, присутствующих в сыворотке крови человека. Увеличение концентрации IgG в сыворотке крови является основным признаком зрелого иммунного ответа, а снижение их концентрации ниже 5 г/л свидетельствует о развитии тяжелого иммунодефицита. Определение концентрации IgG в сыворотке крови, как и соотношения содержания IgG/IgA/IgM может служить одним из основных критериев оценки иммунного статуса индивида и использоваться при контроле лечения некоторых инфекционных заболеваний. Резкое повышение концентрации IgG в сыворотке крови наблюдается при миеломной болезни.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение общего IgG основано на использовании «сэндвич»-варианта твердофазного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы мышинные моноклональные антитела к общему IgG человека. В лунках планшета, при добавлении исследуемого образца, происходит связывание общего IgG, содержащегося в исследуемом образце, с антителами на твердой фазе. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата мышинных моноклональных антител к общему IgG с пероксидазой хрена. В результате образуется связанный с пластиком «сэндвич», содержащий пероксидазу. Во время инкубации с раствором субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) происходит окрашивание растворов в лунках. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации общего IgG в исследуемом образце. Концентрацию общего IgG в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания общего IgG в калибровочных пробах.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Перекрестная реакция мышиных моноклональных антител к общему IgG с другими аналитами приведена в таблице:

Аналит	Перекрестная реакция, %
IgA	<0.1
IgM	<0.1
IgE	<0.1

3.2. Воспроизводимость.

Коэффициент вариации результатов определения содержания общего IgG в одном и том же образце биологических жидкостей с использованием Набора «общий IgG-ИФА» не превышает 8.0%.

3.3. Линейность.

Зависимость концентрации общего IgG в образцах биологических жидкостей при разведении их биологическими жидкостями, не содержащими общий IgG, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 1–25 г/л и составляет $\pm 10.0\%$.

3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации общего IgG предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 5.0 г/л. Процент «открытия» составляет 90–110%.

3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «общий IgG-ИФА» концентрация общего IgG в биологических жидкостях не превышает 0.06 г/л.

4. СОСТАВ НАБОРА

Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1 P271Z	SORB MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2 C271Z	CAL 1-5	Калибровочные пробы на основе трис-буфера (pH 7.2-7.4), содержащие известные количества общего IgG – 0; 1; 5; 10; 25 г/л , готовы к использованию (по 1 мл каждая)	5	шт.	прозрачные жидкости синего цвета (калибровочная проба 0 – прозрачная бесцветная жидкость)
3 Q271Z	CONTROL	Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием общего IgG, готова к использованию (1 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
4 T271Z	CONJ HRP	Конъюгат , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость красного цвета
5 SP271Z	DIL SPE	Буфер для разведения образцов , готов к использованию (100 мл)	1	шт	прозрачная жидкость синего цвета
6 R055Z	SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидина (TMB), 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 K271I	-	Инструкция по применению Набора реагентов «общий IgG-ИФА»	1	шт.	-
11 K271Q	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «общий IgG-ИФА»	1	шт.	-

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

5.1. Потенциальный риск применения Набора – класс 2а (ГОСТ Р 51609-2000).

5.2. Все компоненты Набора, за исключением стоп-реагента (5.0% раствор серной кислоты), в используемых концентрациях являются нетоксичными.

Раствор серной кислоты обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. При попадании на кожу и слизистые пораженный участок следует промыть большим количеством проточной воды.

5.3. При работе с Набором следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

5.4. При работе с Набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированный материал, способный длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность содержимого лунок планшета при длине волны 450 нм;
- термостат, поддерживающий температуру $+37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$;
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы в диапазоне 10–250 мкл;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- бумага фильтровальная.

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

7.1. Перед проведением анализа компоненты Набора и исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови следует выдержать при комнатной температуре ($+18\dots+25\text{ }^{\circ}\text{C}$) не менее 30 мин.

7.2. Приготовление планшета.

Вскрыть пакет с планшетом и установить на рамку необходимое количество стрипов. Оставшиеся неиспользованными стрипы, чтобы предотвратить воздействие на них влаги, тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре $+2\dots+8\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности Набора.

7.3. Приготовление отмывочного раствора.

Содержимое флакона с концентратом отмывочного раствора (22 мл), перенести в мерный цилиндр вместимостью 1000 мл, добавить 550 мл дистиллированной воды и тщательно перемешать. В случае дробного использования Набора следует отобрать необходимое количество концентрата отмывочного раствора и развести дистиллированной водой в 26 раз (1 мл концентрата отмывочного раствора + 25 мл дистиллированной воды).

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

8.1. Набор реагентов «общий IgG-ИФА» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре $+2...+8$ °С в течение всего срока годности, указанного на упаковке Набора.

Допускается хранение (транспортировка) Набора при температуре до $+25$ °С не более 15 суток. Не допускается замораживание целого набора.

8.2. Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 42 исследуемых образцов, 5 калибровочных проб и 1 пробы контрольной сыворотки (всего 96 определений).

8.3. В случае дробного использования Набора компоненты следует хранить следующим образом:

- оставшиеся неиспользованными стрипы необходимо тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре $+2...+8$ °С в течение всего срока годности Набора;
- Буфер для разведения образцов, конъюгат, субстрат, стоп-реагент после вскрытия флаконов следует хранить при температуре $+2...+8$ °С в течение всего срока годности Набора;
- калибровочные пробы и контрольную сыворотку после вскрытия флаконов следует хранить при температуре $+2...+8$ °С не более 2 месяцев;
- оставшийся неиспользованным концентрат отмывочного раствора следует хранить при температуре $+2...+8$ °С в течение всего срока годности Набора. Приготовленный отмывочный раствор следует хранить при комнатной температуре ($+18...+25$ °С) не более 15 суток или при температуре $+2...+8$ °С не более 45 суток.

Примечание. После использования реагента немедленно закрывайте крышку флакона. Закрывайте каждый флакон своей крышкой.

8.4. Для проведения анализа не следует использовать гемолизированную, мутную сыворотку (плазму) крови, а также сыворотку (плазму) крови, содержащую азид натрия. Если анализ производится не в день взятия крови, сыворотку (плазму) следует хранить при температуре -20 °С. Повторное замораживание-оттаивание образцов сыворотки (плазмы) крови не допускается. Допускается исследование сывороток, хранение которых с момента забора крови осуществлялось при температуре от $+2$ °С до $+8$ °С не более 7 суток.

8.5. Исключается использование для анализа образцов сыворотки (плазмы) крови людей, получавших в целях диагностики или терапии препараты, в состав которых входят мышинные антитела.

8.6. При использовании Набора для проведения нескольких независимых серий анализов следует иметь в виду, что для каждого независимого определения необходимо построение нового калибровочного графика; кроме этого, рекомендуется определение концентрации общего IgG в контрольной сыворотке.

8.7. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение Инструкции по применению Набора.

8.8. Не используйте компоненты из других наборов или из аналогичных наборов других серий.

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов – исследуемые образцы в 2 повторах и 12 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки.
2	Разбавьте образцы сыворотки (плазмы) крови в 5000 раз , используя Буфер для разведения образцов (SP271Z). Пример: в пробирку Разведение 1 (1:100) добавьте 10 мкл образца + 990 мкл Буфера для разведения образцов. В другую пробирку Разведение 2 (1:5000) добавьте: 10 мкл Разведения 1 + 490 мкл Буфера для разведения образцов. Разведение 2 (1:5000) следует использовать в анализе. Способ разведения для других видов материала приведен в таблице М. Не разбавляйте калибровочные пробы и контрольную сыворотку.
3	Если предполагаемая концентрация общего IgG в исследуемом образце превышает 25 г/л, его следует дополнительно развести, используя Буфер для разведения образцов (SP271Z). Использование других буферов и реагентов для разбавления образцов может исказить результаты определения! Примечание. Для получения надежных результатов рекомендуется использовать несколько последовательных разведений исследуемого образца биологических жидкостей.
4	Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 100 мкл каждой калибровочной пробы и контрольной сыворотки . При исследовании сыворотки (плазмы) крови в лунки, предназначенные для исследуемых образцов, внесите по 100 мкл разбавленных образцов (Разведение 2) . При исследовании других видов материала объем вносимого исследуемого образца указан в таблице М. Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
5	Аккуратно перемешайте содержимое планшета круговыми движениями по горизонтальной поверхности, закройте планшет бумагой для заклеивания планшета. Инкубируйте планшет в течение 30 минут при температуре +37 °С .
6	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.
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 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 общего IgG в калибровочных пробах (г/л), ось ординат (Y) – оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма подсчета (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод.
14	Определите по калибровочному графику содержание общего IgG в исследуемых образцах. Если исследуемый образец преобразовали (см. п. 3), умножьте полученный результат на фактор разведения. При анализе различных видов материала необходимо умножить полученные значения на Фактор пересчета, приведенный в таблице М.

Таблица М

Вид материала	Сбор, хранение и обработка материала	Пример разведения	Буфер для разведения образцов в лунку, мкл	Образец в лунку, мкл	Фактор пересчета
сыворотка (плазма) крови	Исследуемые образцы должны быть тщательно отцентрифугированы. Анализ мутных, хилезных и гемолитических образцов может привести к искажению результатов.	Разведение 1 (1:100): 10 мкл образца + 990 мкл Буфера для разведения образцов. Вторую пробу Разведение 2 (1:5000) добавьте 10 мкл Разведения 1 + 490 мкл Буфера для разведения образцов. Разведение 2 (1:5000) следует использовать в анализе	0	100	1
слюна	Исследуемые образцы должны быть тщательно отцентрифугированы. Анализ мутных образцов может привести к искажению результатов.		90	10	0.002
моча	Исследуемые образцы должны быть тщательно отцентрифугированы. Анализ мутных образцов может привести к искажению результатов.		50	50	0.0004
спинно-мозговая жидкость	Исследуемые образцы должны быть тщательно отцентрифугированы. Анализ мутных образцов может привести к искажению результатов.	10 мкл образца + 500 мкл буфера для разведения образцов	0	100	0.01

10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ

10.1. Основываясь на результатах исследований, проведенных ООО «ХЕМА», рекомендуем пользоваться нормами, приведенными ниже. Вместе с тем, в соответствии с правилами *GLP* (Хорошей лабораторной практики), каждая лаборатория должна сама определить параметры нормы, характерные для обследуемой популяции.

Примечание. Значения концентраций общего IgG в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0.06 г/л), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (25 г/л) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация общего IgG ниже 0.06 г/л или выше 25 г/л.

Исследуемая группа	Единицы, г/л	
	Нижний предел	Верхний предел
новорожденные	7.0	15
1-3 месяца	2.7	8.0
4-6 месяцев	1.8	8.5
7-12 месяцев	3.5	12
1-6 лет	6.5	18
7-11 лет	8.5	15
> 11 лет	9.0	20

11. ЛИТЕРАТУРА

1. RG Hamilton – Human IgG subclass measurements in the clinical laboratory. Clin. Chem., Oct 1987; 33: 1707 – 1725.
2. V. A. Semenova, E. Steward-Clark, K. L. Stamey, T. H. Taylor, Jr., D. S. Schmidt, S. K. Martin, N. Marano, and C. P. Quinn – Mass Value Assignment of Total and Subclass Immunoglobulin G in a Human Standard Anthrax Reference Serum. Clin. Diagn. Lab. Immunol., Sep 2004; 11: 919 – 923.

По вопросам, касающимся качества Набора **«общий IgG-ИФА»**, следует обращаться в ООО «ХЕМА» по адресу:
105043, г. Москва, а/я 58
105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1-й под., 5 этаж,
тел/факс (495) 737-39-36, 737-00-40, 510-57-07 (многоканальный)

электронная почта: info@xema.ru; rqc@xema.ru
интернет: www.xema.ru; www.xema-medica.com

Руководитель службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА»,
к. б. н. Д. С. Кострикин

Instruction for use

A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF TOTAL IgG IN HUMAN BIOLOGICAL FLUIDS

1. INTENDED USE

A solid-phase enzyme immunoassay for the quantitative determination of total IgG in biological fluids.

This kit is designed for measurement of total IgG in biological fluids. For possibility of use with other sample types, please, refer to Application Notes (on request). The kit contains reagents sufficient for 96 determinations and allows to analyze 42 unknown samples in duplicates.

2. SUMMARY AND EXPLANATION

Immunoglobulin G (IgG) is the main part of serum γ - globulin fraction. IgG is secreted during secondary immune response and plays a key role in humoral immunity. Decrease of serum IgG concentration below 5 g/l is a marker of severe life-threatening immunodeficiency. Determination of serum IgG concentration and IgG/IgA/IgM ratios can be used for monitoring of humoral immune status. Marked elevation of serum IgG may be observed in chronic inflammation, autoimmune diseases and myeloma.

3. PRINCIPLE OF THE TEST

This test is based on two-site sandwich enzyme immunoassay principle. Tested specimen is placed into the microwells coated by specific murine monoclonal to human total IgG-antibodies. Antigen from the specimen is captured by the antibodies coated onto the microwell surface. Unbound material is removed by washing procedure. Second antibodies - murine monoclonal to human total IgG, labelled with peroxidase enzyme, are then added into the microwells. After subsequent washing procedure, the remaining enzymatic activity bound to the microwell surface is detected and quantified by addition of chromogen-substrate mixture, stop solution and photometry at 450 nm. Optical density in the microwell is directly related to the quantity of the measured analyte in the specimen.

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

4.1. For professional use only.

4.2. This kit is intended for in vitro diagnostic use only.

4.3. INFECTION HAZARD: There is no available test methods that can absolutely assure that Hepatitis B and C viruses, HIV-1/2, or other infectious agents are not present in the reagents of this kit. All human products, including patient samples, should be considered potentially infectious. Handling and disposal should be in accordance with the procedures defined by an appropriate national biohazard safety guidelines or regulations.

4.4. Avoid contact with stop solution containing 5.0% H_2SO_4 . It may cause skin irritation and burns.

4.5. Wear disposable latex gloves when handling specimens and reagents. Microbial contamination of reagents may give false results.

4.6. Do not use the kit beyond the expiration date.

4.7. All indicated volumes have to be performed according to the protocol. Optimal test results are only obtained when using calibrated pipettes and microplate readers.

4.8. Do not smoke, eat, drink or apply cosmetics in areas where specimens or kit reagents are handled.

4.9. Chemicals and prepared or used reagents have to be treated as hazardous waste according to the national biohazard safety guidelines or regulations.

4.10. Do not mix reagents from different lots.

4.11. Replace caps on reagents immediately. Do not swap caps.

4.12. Do not pipette reagents by mouth.

4.13. Specimens must not contain any AZIDE compounds – they inhibit activity of peroxidase.

4.14. Material Safety Data Sheet for this product is available upon request directly from XEMA Co., Ltd.

4.15. The Material Safety Data Sheet fit the requirements of EU Guideline 91/155 EC.

5.1. Contents of the Kit

5. KIT COMPONENTS

Symbol	Description	Qty	Units	Colour code	Stability of opened/diluted components
1	SORB MTP total IgG EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp.date
2	CAL 1-5 Calibrator set, 1 ml each. The set contains 5 calibrators: 0; 1; 5; 10; 25 g/l	5	pcs	blue (Cl – colourless)	2 months
3	CONTROL Control serum (1 ml)	1	pcs	colourless	2 months
4	CONJ HRP Conjugate, 14 ml	1	pcs	red	until exp.date
5	DIL SPE EIA sample buffer 100 ml	1	pcs	blue	until exp.date
6	SUBS TMB Substrate solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
7	BUF WASH 26X Washing solution concentrate 26X, 22 ml	1	pcs	colourless	Concentrate – until exp.date Diluted washing solution – 45 days at 2-8 °C or 15 days at RT
8	STOP Stop solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
9	N003 Plate sealing tape	2	pcs		N/A
10	K2711 Instruction total IgG EIA	1	pcs		N/A
11	K271Q QC data sheet total IgG EIA	1	pcs		N/A

5.2. Equipment and material required but not provided

- Distilled or deionized water;
- Automatic or semiautomatic multichannel micropipettes, 100–250 μl , is useful but not essential;
- Calibrated micropipettes with variable volume, range volume 10–250 μl ;
- Dry thermostat for 37 $^{\circ}\text{C} \pm 0.1$ $^{\circ}\text{C}$
- Calibrated microplate photometer with 450 nm wavelength and OD measuring range 0–3.0

5.3. Storage and stability of the Kit

Store the whole kit at +2...+8 $^{\circ}\text{C}$ upon receipt until the expiration date.

After opening the pouch keep unused microtiter wells TIGHTLY SEALED BY ADHESIVE TAPE (INCLUDED) to minimize exposure to moisture.

6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

This kit is intended for use with serum or plasma (ACD- or heparinized). Grossly hemolytic, lipemic, or turbid samples should be avoided.

Specimens may be stored for up to 48 hours at +2...+8 $^{\circ}\text{C}$ before testing.

7. TEST PROCEDURE**7.1. Reagent Preparation**

- All reagents (including unsealed microstrips) should be allowed to reach room temperature (+18...+25 $^{\circ}\text{C}$) before use.
- All reagents should be mixed by gentle inversion or vortexing prior to use. Avoid foam formation.
- It is recommended to spin down shortly the tubes with calibrators on low speed centrifuge.
- Prepare washing solution from the concentrate BUF WASH 26X by 26 dilutions in distilled water.

7.2. Procedural Note:

It is recommended that pipetting of all calibrators and samples should be completed within 3 minutes.

7.3. Assay flowchart

See the example of calibration graphic in Quality Control data sheet.

7.4. Assay procedure

1	Put the desired number of microstrips into the frame; allocate 12 wells for the calibrators CAL 1-5 and control samples CONTROL and two wells for each unknown sample. DO NOT REMOVE ADHESIVE SEALING TAPE FROM UNUSED STRIPS.
2	Dilute samples using buffer DIL SPE (EIA sample buffer) 5000 fold. See table M for dilution modes and factors for different types of analyzed material. Do not dilute control sample and calibrators.
3	If suggested analyte concentration in the sample exceeds the highest calibrator, additionally dilute this sample accordingly, using DIL SPE (EIA sample buffer). Use of other buffers or reagents for sample dilution may lead to incorrect measurement.
4	Pipet 100 µl of calibrators CAL 1-5 and control samples CONTROL into allocated wells. For testing of blood serum or plasma pipet 100 µl of the unknown diluted sample (DILUTION 2) into the allocated wells. See table M for the volumes of other materials. Pipetting should be made within 3 minutes, to ensure an uniform incubation time for all samples. Carefully mix the contents of the wells by short horizontal rotating of the plate for 5-7 seconds and cover the wells by plate adhesive tape (included into the kit).
5	Incubate 30 minutes at +37 °C.
6	Prepare washing solution by 26X dilution of washing solution concentrate BUF WASH 26X by distilled water. Minimal quantity of washing solution should be 250 µl per well. Wash strips 3 times.
7	Dispense 100 µl of CONJ HRP into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape.
8	Incubate 30 minutes at +37 °C.
9	Wash the strips 5 times.
10	Dispense 100 µl of SUBS TMB into the wells.
11	Incubate 10-20 minutes at +18...+25 °C.
12	Dispense 100 µl of STOP into the wells.
13	Measure OD (optical density) at 450 nm.
14	Set photometer blank on first calibrator.
15	Apply point-by-point method for data reduction. Use Calculation factor listed in table M to calculate analyte concentration in different material types.

7.5. Sample processing

Material type	Notes on material collection, storage and handling	Sample dilution example	EIA sample buffer into the well, μl	Sample into the well, μl	Calculation factor
blood serum or plasma	Grossly hemolytic, lipemic, or turbid samples should be avoided and should be treated by centrifugation before testing.	10 μl of sample + 990 μl of diluent = DILUTION 1. 10 μl of DILUTION 1 + 490 μl of diluent = DILUTION 2	0	100	1
saliva	Grossly hemolytic, lipemic, or turbid samples should be avoided and should be treated by centrifugation before testing.		90	10	0.002
urine	Grossly hemolytic, lipemic, or turbid samples should be avoided and should be treated by centrifugation before testing.		50	50	0.0004
cerebrospinal fluid	Grossly hemolytic, lipemic, or turbid samples should be avoided and should be treated by centrifugation before testing.	10 μl of sample + 500 μl of diluent	0	100	0.01

8. QUALITY CONTROL

It is recommended to use control samples according to state and federal regulations. The use of control samples is advised to assure the day to day validity of results.

The test must be performed exactly as per the manufacturer's instructions for use. Moreover the user must strictly adhere to the rules of GLP (Good Laboratory Practice) or other applicable federal, state, and local standards and/or laws. This is especially relevant for the use of control reagents. It is important to always include, within the test procedure, a sufficient number of controls for validating the accuracy and precision of the test.

The test results are valid only if all controls are within the specified ranges and if all other test parameters are also within the given assay specifications.

9. CALCULATION OF RESULTS

9.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

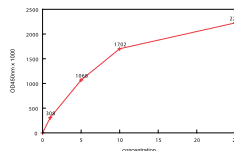
9.2. Plot a calibration curve on graph paper: OD versus total IgG concentration.

9.3. Determine the corresponding concentration of total IgG in unknown samples from the calibration curve. Manual or computerized data reduction is applicable on this stage. Point-by-point or linear data reduction is

recommended due to non-linear shape of curve.

9.4. Below is presented a typical example of a standard curve with the XEMA Co. Not for calculations!

Calibrators	Value	Absorbance Units (450 nm)
CAL 1	0 g/l	0.08
CAL 2	1 g/l	0.38
CAL 3	5 g/l	1.15
CAL 4	10 g/l	1.78
CAL 5	25 g/l	2.30



10. EXPECTED VALUES

Therapeutical consequences should not be based on results of IVD methods alone – all available clinical and laboratory findings should be used by a physician to elaborate therapeutically measures. Each laboratory should establish its own normal range for total IgG. Based on data obtained by XEMA, the following normal range is recommended (see below). NOTE: the patients that have received murine monoclonal antibodies for radioimaging or immunotherapy develop high titered anti-mouse antibodies (HAMA). The presence of these antibodies may cause false results in the present assay. Sera from HAMA positive patients should be treated with depleting adsorbents before assaying.

Sex, age	Units, g/l	
	Lower limit	Upper limit
newborn	7.0	15
1-3 month	2.7	8.0
4-6 month	1.8	8.5
7-12 month	3.5	12
1-6 yrs	6.5	18
7-11 yrs	8.5	15
> 11 yrs	9.0	20

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

Analyte	Cross-reactivity, % wt/wt
IgA	<0.1
IgM	<0.1
IgE	<0.1


















11.2. Analytical sensitivity. Sensitivity of the assay was assessed as being 0.06 g/l.

11.3. Linearity. Linearity was checked by assaying dilution series of 5 samples with different total IgG concentrations. Linearity percentages obtained ranged within 90 to 110%.

11.4. Recovery. Recovery was estimated by assaying 5 mixed samples with known total IgG concentrations. The recovery percentages ranged from 90 to 110%.

12. LITERATURE

- RG Hamilton – Human IgG subclass measurements in the clinical laboratory. Clin. Chem., Oct 1987; 33: 1707 – 1725.
- V. A. Semenova, E. Steward-Clark, K. L. Stamey, T. H. Taylor, Jr., D. S. Schmidt, S. K. Martin, N. Marano, and C. P. Quinn – Mass Value Assignment of Total and Subclass Immunoglobulin G in a Human Standard Anthrax Reference Serum. Clin. Diagn. Lab. Immunol., Sep 2004; 11: 919 – 923.

Символ / Symbol	Значение символа / Symbolize
	Производитель / Manufacturer
	Дата производства / Date of manufacture
	Номер по каталогу / Catalogue number
	Номер серии / Batch code
 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 ОБЩЕГО IgA
В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ**

«Общий IgA-ИФА»

**A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY
FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION
OF TOTAL IgA IN HUMAN BIOLOGICAL FLUIDS**

Total IgA EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF** **K275**

ТУ № 9398-275-18619450-2009

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
№ ФСР 2009/06103 от 19 ноября 2009 г.



For 96 determinations/На 96 определений



Для *ин витро* диагностики

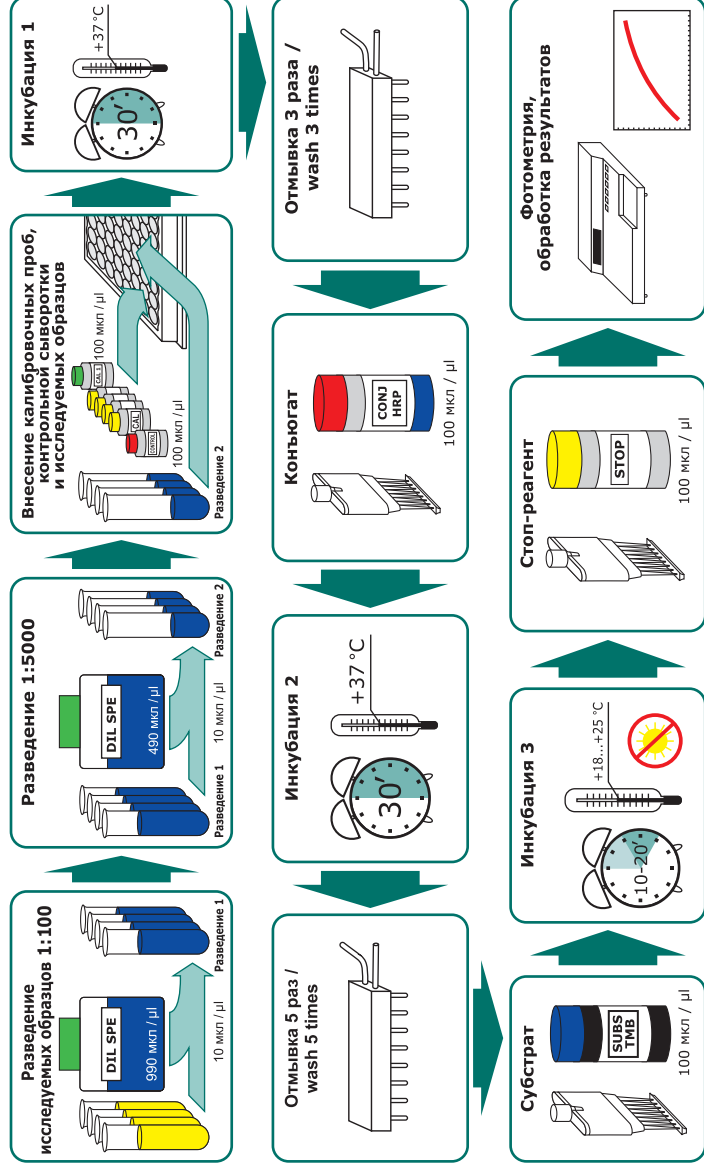


XEMA Co., Ltd.
The 9th Parkovaya str., 48
105264 Moscow, Russia
Telephone/fax: +7(495) 737-39-36; 737-00-40
e-mail: redkin@xema-medica.com
internet: www.xema-medica.com



Authorized Representative in EU:
Polmed.de
Steinacker 20, D-73773
Aichwald, Germany
e-mail: info@polmed.de

Схема проведения анализа / Test procedure *



K271, K274, K275, K277

* Для сыворотки (плазмы) крови. Способ разведения для других видов материала приведен в таблице M

* Blood serum or plasma
For other tested materials, see table M.

СОДЕРЖАНИЕ

1. НАЗНАЧЕНИЕ	2
2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА	2
3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	3
4. СОСТАВ НАБОРА	4
5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	5
6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ	5
7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА	5
8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА	6
9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА	7
10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ	9
11. ЛИТЕРАТУРА	9

CONTENT

1. INTENDED USE	10
2. SUMMARY AND EXPLANATION	10
3. PRINCIPLE OF THE TEST	10
4. WARNINGS AND PRECAUTIONS	11
5. KIT COMPONENTS	12
6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE	13
7. TEST PROCEDURE	13
8. QUALITY CONTROL	15
9. CALCULATION OF RESULTS	15
10. EXPECTED VALUES	16
11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS	16
12. LITERATURE	16

Инструкция составлена Руководителем службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА»,
к. б. н. Д. С. Кострикиным

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОБЩЕГО IgA В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ «общий IgA-ИФА»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «общий IgA-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации общего IgA в биологических жидкостях (см. таблицу М) методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Иммуноглобулин А (IgA) основной гуморальный фактор иммунной защиты слизистых оболочек. Один из наиболее часто встречающихся в популяции врожденных дефектов – это селективный IgA дефицит. Селективный дефицит IgA приводит к синдрому хронических инфекционных заболеваний желудочно-кишечного тракта, мочевыводящих и дыхательных путей. Определение концентрации IgA в сыворотке крови, а также в других биологических жидкостях может использоваться в качестве основного скринингового теста для оценки гуморального иммунного статуса индивида. Резкое повышение сывороточной концентрации IgA характерно для некоторых аутоиммунных заболеваний и миеломной болезни.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение общего IgA основано на использовании «сэндвич»-варианта твердофазного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы мышинные моноклональные антитела к общему IgA человека. В лунках планшета, при добавлении исследуемого образца, происходит связывание общего IgA, содержащегося в исследуемом образце, с антителами на твердой фазе. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата мышинных моноклональных антител к общему IgA с пероксидазой хрена. В результате образуется связанный с пластиком «сэндвич», содержащий пероксидазу. Во время инкубации с раствором субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) происходит окрашивание растворов в лунках. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации общего IgA в исследуемом образце. Концентрацию общего IgA в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания общего IgA в калибровочных пробах.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Перекрестная реакция мышиных моноклональных антител к общему IgA с другими анализатами приведена в таблице:

Аналит	Перекрестная реакция, %
IgG	<0.1
IgM	<0.1
IgE	<0.1

3.2. Воспроизводимость.

Коэффициент вариации результатов определения содержания общего IgA в одном и том же образце биологических жидкостей с использованием Набора «общий IgA-ИФА» не превышает 8.0%.

3.3. Линейность.

Зависимость концентрации общего IgA в образцах биологических жидкостей при разведении их биологическими жидкостями, не содержащей общий IgA, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 0.1–5 г/л и составляет $\pm 10.0\%$.

3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации общего IgA предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 0.5 г/л. Процент «открытия» составляет 90–110%.

3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «общий IgA-ИФА» концентрация общего IgA в биологических жидкостях не превышает 0.06 г/л.

4. СОСТАВ НАБОРА

Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1 P275Z	SORB MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2 C275Z	CAL 1-5	Калибровочные пробы на основе трис-буфера (рН 7,2-7,4), содержащие известные количества общего IgA – 0; 0.1; 0.5; 2; 5 г/л , готовы к использованию (по 1 мл каждая)	5	шт.	прозрачные жидкости синего цвета (калибровочная проба 0 – прозрачная бесцветная жидкость)
3 Q275Z	CONTROL	Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием общего IgA, готова к использованию (1 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
4 T275Z	CONJ HRP	Конъюгат , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость синего цвета
5 S011Z4	DIL SPE	ИФА-Буфер , готов к использованию (100 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость синего цвета
6 R055Z	SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
7 S008Z	BUF WASH 26X	Концентрат отмывочного раствора (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26х-кратный (22 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
8 R050Z	STOP	Стоп-реагент , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
9 N003	-	Бумага для заклеивания планшета	2	шт.	-
10 K275I	-	Инструкция по применению Набора реагентов «общий IgA-ИФА»	1	шт.	-
11 K275Q	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «общий IgA-ИФА»	1	шт.	-

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

5.1. Потенциальный риск применения Набора – класс 2a (ГОСТ Р 51609-2000).

5.2. Все компоненты Набора, за исключением стоп-реагента (5.0% раствор серной кислоты), в используемых концентрациях являются нетоксичными.

Раствор серной кислоты обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. При попадании на кожу и слизистые пораженный участок следует промыть большим количеством проточной воды.

5.3. При работе с Набором следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

5.4. При работе с Набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированный материал, способный длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность содержимого лунок планшета при длине волны 450 нм;
- термостат, поддерживающий температуру $+37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$;
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы в диапазоне 5–250 мкл;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- бумага фильтровальная.

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

7.1. Перед проведением анализа компоненты Набора и исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови следует выдержать при комнатной температуре ($+18...+25\text{ }^{\circ}\text{C}$) не менее 30 мин.

7.2. Приготовление планшета.

Вскрыть пакет с планшетом и установить на рамку необходимое количество стрипов. Оставшиеся неиспользованными стрипы, чтобы предотвратить воздействие на них влаги, тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре $+2...+8\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности Набора.

7.3. Приготовление отмывочного раствора.

Содержимое флакона с концентратом отмывочного раствора (22 мл), перенести в мерный цилиндр вместимостью 1000 мл, добавить 550 мл дистиллированной воды и тщательно перемешать. В случае дробного использования Набора следует отобрать необходимое количество концентрата отмывочного раствора и развести дистиллированной водой в 26 раз (1 мл концентрата отмывочного раствора + 25 мл дистиллированной воды).

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

8.1. Набор реагентов «общий IgA-ИФА» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности, указанного на упаковке Набора.

Допускается хранение (транспортировка) Набора при температуре до +25 °С не более 15 суток. Не допускается замораживание целого набора.

8.2. Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 42 исследуемых образцов, 5 калибровочных проб и 1 пробы контрольной сыворотки (всего 96 определений).

8.3. В случае дробного использования Набора компоненты следует хранить следующим образом:

- оставшиеся неиспользованными стрипы необходимо тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- ИФА-Буфер, конъюгат, субстрат, стоп-реагент после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- калибровочные пробы и контрольную сыворотку после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °С не более 2 месяцев;
- оставшийся неиспользованным концентрат отмывочного раствора следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора. Приготовленный отмывочный раствор следует хранить при комнатной температуре (+18...+25 °С) не более 15 суток или при температуре +2...+8 °С не более 45 суток.

Примечание. После использования реагента немедленно закрывайте крышку флакона. Закрывайте каждый флакон своей крышкой.

8.4. Для проведения анализа не следует использовать гемолизированную, мутную сыворотку (плазму) крови, а также сыворотку (плазму) крови, содержащую азид натрия. Если анализ производится не в день взятия крови, сыворотку (плазму) следует хранить при температуре -20 °С. Повторное замораживание-оттаивание образцов сыворотки (плазмы) крови не допускается.

8.5. Исключается использование для анализа образцов сыворотки (плазмы) крови людей, получавших в целях диагностики или терапии препараты, в состав которых входят мышинные антитела.

8.6. При использовании Набора для проведения нескольких независимых серий анализов следует иметь в виду, что для каждого независимого определения необходимо построение нового калибровочного графика; кроме этого, рекомендуется определение концентрации общего IgA в контрольной сыворотке.

8.7. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение Инструкции по применению Набора.

8.8. Не используйте компоненты из других наборов или из аналогичных наборов других серий.

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов – исследуемые образцы в 2 повторах и 12 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки.
2	Разбавьте образцы сыворотки (плазмы) крови в 5000 раз, используя ИФА-Буфер. Пример: в пробирку Разведение 1 (1:100): 10 мкл образца + 990 мкл ИФА-Буфера. В другую пробирку Разведение 2 (1:5000) добавьте 10 мкл Разведения 1 + 490 мкл ИФА-Буфера. Разведение 2 (1:5000) следует использовать в анализе. Способ разведения для других видов материала приведен в таблице М. Не разбавляйте калибровочные пробы и контрольную сыворотку.
3	Если предполагаемая концентрация общего IgA в исследуемом образце превышает 5 г/л, его следует дополнительно развести, используя ИФА-Буфер. Использование других буферов и реагентов для разбавления образцов может искажать результаты определения! Примечание. Для получения надежных результатов рекомендуется использовать несколько последовательных разведений исследуемого образца биологических жидкостей.
4	Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 100 мкл каждой калибровочной пробы и контрольной сыворотки. При исследовании сыворотки (плазмы) крови в лунки, предназначенные для исследуемых образцов, внесите по 100 мкл разбавленных образцов (Разведение 2) . При исследовании других видов материала объем вносимого исследуемого образца указан в таблице М. Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
5	Аккуратно перемешайте содержимое планшета круговыми движениями по горизонтальной поверхности, закройте планшет бумагой для заклеивания планшета. 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 добавляйте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п. 7.3), встряхните планшет движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок.
7	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 общего IgA в калибровочных пробах (г/л), ось ординат (y) – оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма обсева (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод.
14	Определите по калибровочному графику содержание общего IgA в исследуемых образцах. Если исследуемый образец преобразовали (см. п.3), умножьте полученный результат на фактор разведения. При анализе различных видов материала необходимо умножить полученные значения на фактор пересчета, приведенный в таблице М.

Таблица М

Вид материала	Сбор, хранение и обработка материала	Пример разведения	ИФА-Буфер в лунку, мкл	Образец в лунку, мкл	Фактор пересчета
сыворотка (плазма крови)	Исследуемые образцы должны быть тщательно отцентрифугированы. Анализ мутных, хилезных и гемолитических образцов может привести к искажению результатов.	Разведение 1 (1:100): 10 мкл образца + 990 мкл ИФА-Буфера. В другую пробирку Разведение 2 (1:5000) добавьте 10 мкл Разведения 1 + 490 мкл ИФА-Буфера. Разведение 2 (1:5000) следует использовать в анализе	0	100	1
слюна	Исследуемые образцы должны быть тщательно отцентрифугированы. Анализ мутных образцов может привести к искажению результатов.	5 мкл образца + 500 мкл ИФА-Буфера	90	10	0.2
моча	Исследуемые образцы должны быть тщательно отцентрифугированы. Анализ мутных образцов может привести к искажению результатов.		80	20	0.001
спинно-мозговая жидкость	Исследуемые образцы должны быть тщательно отцентрифугированы. Анализ мутных образцов может привести к искажению результатов.		50	50	0.0004

10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ

10.1. Основываясь на результатах исследований, проведенных ООО «ХЕМА», рекомендуем пользоваться нормами, приведенными ниже. Вместе с тем, в соответствии с правилами *GLP* (Хорошей лабораторной практики), каждая лаборатория должна сама определить параметры нормы, характерные для обследуемой популяции.

Примечание. Значения концентраций общего IgA в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0.06 г/л), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (5 г/л) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация общего IgA ниже 0.06 г/л или выше 5 г/л.

Исследуемая группа	Единицы, г/л	
	Нижний предел	Верхний предел
Здоровые доноры	0.9	5.0
>61 года	1.0	6.5
новорожденные	-	0.05
1-3 месяца	0.06	0.6
4-6 месяцев	0.1	1.0
7-12 месяцев	0.35	1.7
1-6 лет	0.8	2.2
7-11 лет	0.9	2.6

11. ЛИТЕРАТУРА

1. Heiddis B. Valdimarsdottir and Arthur A. Stone – Psychosocial Factors and Secretory Immunoglobulin A. Critical Reviews in Oral Biology & Medicine, Jan 1997; 8: 461 – 474.
2. Amir H Abdul Latiff and Michael A Kerr – The clinical significance of immunoglobulin A deficiency. Ann Clin Biochem, Mar 2007; 44: 131 – 139.

По вопросам, касающимся качества Набора «**общий IgA-ИФА**», следует обращаться в ООО «ХЕМА» по адресу:
105043, г. Москва, а/я 58
105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1-й под., 5 этаж,
тел/факс (495) 737-39-36, 737-00-40, 510-57-07 (многоканальный)

электронная почта: info@xema.ru; rqc@xema.ru
интернет: www.xema.ru; www.xema-medica.com

Руководитель службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА»,
к. б. н. Д. С. Кострикин

Instruction for use

A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF TOTAL IGA IN HUMAN BIOLOGICAL FLUIDS

1. INTENDED USE

A solid-phase enzyme immunoassay for the quantitative determination of total IgA in biological fluids.

This kit is designed for measurement of total IgA in biological fluids. For possibility of use with other sample types, please, refer to Application Notes (on request). The kit contains reagents sufficient for 96 determinations and allows to analyze 42 unknown samples in duplicates.

2. SUMMARY AND EXPLANATION

Immunoglobulin A (IgA) is a main factor of mucosal immune response to bacteria and viruses. Selective IgA deficiency is one of the most frequent hereditary disorders causing chronic infections inflammation in gastrointestinal, urinary and respiratory systems. Determination of IgA concentration in serum and other biological fluids can be used as screening for selective IgA deficiency and other immunodeficiency syndromes. Marked elevation of serum IgA is observed in some autoimmune diseases and IgA myeloma.

3. PRINCIPLE OF THE TEST

This test is based on two-site sandwich enzyme immunoassay principle. Tested specimen is placed into the microwells coated by specific murine monoclonal to human total IgA-antibodies. Antigen from the specimen is captured by the antibodies coated onto the microwell surface. Unbound material is removed by washing procedure. Second antibodies – murine monoclonal to human total IgA, labelled with peroxidase enzyme, are then added into the microwells. After subsequent washing procedure, the remaining enzymatic activity bound to the microwell surface is detected and quantified by addition of chromogen-substrate mixture, stop solution and photometry at 450 nm. Optical density in the microwell is directly related to the quantity of the measured analyte in the specimen.

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

4.1. For professional use only.

4.2. This kit is intended for in vitro diagnostic use only.

4.3. INFECTION HAZARD: There is no available test methods that can absolutely assure that Hepatitis B and C viruses, HIV-1/2, or other infectious agents are not present in the reagents of this kit. All human products, including patient samples, should be considered potentially infectious. Handling and disposal should be in accordance with the procedures defined by an appropriate national biohazard safety guidelines or regulations.

4.4. Avoid contact with stop solution containing 5.0% H_2SO_4 . It may cause skin irritation and burns.

4.5. Wear disposable latex gloves when handling specimens and reagents. Microbial contamination of reagents may give false results.

4.6. Do not use the kit beyond the expiration date.

4.7. All indicated volumes have to be performed according to the protocol. Optimal test results are only obtained when using calibrated pipettes and microplate readers.

4.8. Do not smoke, eat, drink or apply cosmetics in areas where specimens or kit reagents are handled.

4.9. Chemicals and prepared or used reagents have to be treated as hazardous waste according to the national biohazard safety guidelines or regulations.

4.10. Do not mix reagents from different lots.

4.11. Replace caps on reagents immediately. Do not swap caps.

4.12. Do not pipette reagents by mouth.

4.13. Specimens must not contain any AZIDE compounds – they inhibit activity of peroxidase.

4.14. Material Safety Data Sheet for this product is available upon request directly from XEMA Co., Ltd.

4.15. The Material Safety Data Sheet fit the requirements of EU Guideline 91/155 EC.

5.1. Contents of the Kit

5. KIT COMPONENTS

Symbol	Description	Qty	Units	Colour code	Stability of opened/diluted components
1	SORB MTP total IgA EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp.date
2	CAL 1-5 Calibrator set, 1 ml each. The set contains 5 calibrators: 0; 0.1; 0.5; 2; 5 g/l	5	pcs	blue (C1 – colourless)	2 months
3	CONTROL Control serum (1 ml)	1	pcs	colourless	2 months
4	CONJ HRP Conjugate, 14 ml	1	pcs	blue	until exp.date
5	DIL SPE EIA buffer 100 ml	1	pcs	blue	until exp.date
6	SUBS TMB Substrate solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
7	BUF WASH 26X Washing solution concentrate 26X, 22 ml	1	pcs	colourless	Concentrate – until exp.date Diluted washing solution - 45 days at 2-8 °C or 15 days at RT
8	STOP Stop solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
9	N003 Plate sealing tape	2	pcs		N/A
10	K275I Instruction total IgA EIA	1	pcs		N/A
11	K275Q QC data sheet total IgA EIA	1	pcs		N/A

5.2. Equipment and material required but not provided

- Distilled or deionized water;
- Automatic or semiautomatic multichannel micropipettes, 100–250 μl , is useful but not essential;
- Calibrated micropipettes with variable volume, range volume 5–250 μl ;
- Dry thermostat for $+37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$
- Calibrated microplate photometer with 450 nm wavelength and OD measuring range 0–3.0

5.3. Storage and stability of the Kit

Store the whole kit at $+2\dots+8\text{ }^{\circ}\text{C}$ upon receipt until the expiration date.

After opening the pouch keep unused microtiter wells **TIGHTLY SEALED BY ADHESIVE TAPE (INCLUDED)** to minimize exposure to moisture.

6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

This kit is intended for use with serum or plasma (ACD- or heparinized). Grossly hemolytic, lipemic, or turbid samples should be avoided.

Specimens may be stored for up to 48 hours at $+2\dots+8\text{ }^{\circ}\text{C}$ before testing.

7. TEST PROCEDURE**7.1.** Reagent Preparation

- All reagents (including unsealed microstrips) should be allowed to reach room temperature ($+18\dots+25\text{ }^{\circ}\text{C}$) before use.
- All reagents should be mixed by gentle inversion or vortexing prior to use. Avoid foam formation.
- It is recommended to spin down shortly the tubes with calibrators on low speed centrifuge.
- Prepare washing solution from the concentrate BUF WASH 26X by 26 dilutions in distilled water.

7.2. Procedural Note:

It is recommended that pipetting of all calibrators and samples should be completed within 3 minutes.

7.3. Assay flowchart

See the example of calibration graphic in Quality Control data sheet.

7.4. Assay procedure

1	Put the desired number of microstrips into the frame; allocate 12 wells for the calibrators CAL 1-5 and control samples CONTROL and two wells for each unknown sample. DO NOT REMOVE ADHESIVE SEALING TAPE FROM UNUSED STRIPS.
2	Dilute samples using buffer DIL SPE (EIA buffer) 5000 fold. See table M for dilution modes and factors for different types of analyzed material. Do not dilute control sample and calibrators.
3	If suggested analyte concentration in the sample exceeds the highest calibrator, additionally dilute this sample accordingly, using DIL SPE (EIA buffer). Use of other buffers or reagents for sample dilution may lead to incorrect measurement.
4	Pipet 100 µl of calibrators CAL 1-5 and control samples CONTROL into allocated wells. For testing of blood serum or plasma pipet 100 µl of the diluted unknown sample into the allocated wells. See table M for the volumes of other materials. Pipetting should be made within 3 minutes, to ensure an uniform incubation time for all samples. Carefully mix the contents of the wells by short horizontal rotating of the plate for 5-7 seconds and cover the wells by plate adhesive tape (included into the kit).
5	Incubate 30 minutes at +37 °C.
6	Prepare washing solution by 26X dilution of washing solution concentrate BUF WASH 26X by distilled water. Minimal quantity of washing solution should be 250 µl per well. Wash strips 3 times.
7	Dispense 100 µl of CONJ HRP into the wells.
8	Incubate 30 minutes at +37 °C.
9	Wash the strips 5 times.
10	Dispense 100 µl of SUBS TMB into the wells.
11	Incubate 10-20 minutes at +18...+25 °C.
12	Dispense 100 µl of STOP into the wells.
13	Measure OD (optical density) at 450 nm.
14	Set photometer blank on first calibrator.
15	Apply point-by-point method for data reduction. Use Calculation factor listed in table M to calculate analyte concentration in different material types.

7.5. Sample processing

Material type	Notes on material collection, storage and handling	Sample dilution example	EIA buffer into the well, µl	Sample into the well, µl	Calculation factor
blood serum or plasma	Grossly hemolytic, lipemic, or turbid samples should be avoided and should be treated by centrifugation before testing.	10 µl of sample + 990 µl of diluent = DILUTION 1. 10 µl of DILUTION 1 + 490 µl of diluent = DILUTION 2	0	100	1
saliva	Grossly hemolytic, lipemic, or turbid samples should be avoided and should be treated by centrifugation before testing.	5 µl of sample + 500 µl of diluent	90	10	0.2
urine	Grossly hemolytic, lipemic, or turbid samples should be avoided and should be treated by centrifugation before testing.		80	20	0.001
cerebrospinal fluid	Grossly hemolytic, lipemic, or turbid samples should be avoided and should be treated by centrifugation before testing.		50	50	0.0004

8. QUALITY CONTROL

It is recommended to use control samples according to state and federal regulations. The use of control samples is advised to assure the day to day validity of results.

The test must be performed exactly as per the manufacturer's instructions for use. Moreover the user must strictly adhere to the rules of GLP (Good Laboratory Practice) or other applicable federal, state, and local standards and/or laws. This is especially relevant for the use of control reagents. It is important to always include, within the test procedure, a sufficient number of controls for validating the accuracy and precision of the test.

The test results are valid only if all controls are within the specified ranges and if all other test parameters are also within the given assay specifications.

9. CALCULATION OF RESULTS

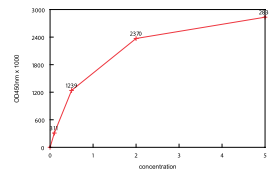
9.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

9.2. Plot a calibration curve on graph paper: OD versus total IgA concentration.

9.3. Determine the corresponding concentration of total IgA in unknown samples from the calibration curve. Manual or computerized data reduction is applicable on this stage. Point-by-point or linear data reduction is recommended due to non-linear shape of curve.

9.4. Below is presented a typical example of a standard curve with the XEMA Co. Not for calculations!

Calibrators	Value	Absorbance Units (450 nm)
CAL 1	0 g/l	0.08
CAL 2	0.1 g/l	0.40
CAL 3	0.5 g/l	1.32
CAL 4	2 g/l	2.45
CAL 5	5 g/l	2.92



10. EXPECTED VALUES

Therapeutical consequences should not be based on results of IVD methods alone – all available clinical and laboratory findings should be used by a physician to elaborate therapeutically measures. Each laboratory should establish its own normal range for total IgA. Based on data obtained by XEMA, the following normal range is recommended (see below). NOTE: the patients that have received murine monoclonal antibodies for radioimaging or immunotherapy develop high titered anti-mouse antibodies (HAMA). The presence of these antibodies may cause false results in the present assay. Sera from HAMA positive patients should be treated with depleting adsorbents before assaying.

Sex, age	Units, g/l	
	Lower limit	Upper limit
Healthy donors	0.9	5.0
>61 yr	1.0	6.5
newborn	-	0.05
1-3 month	0.06	0.6
4-6 month	0.1	1.0
7-12 month	0.35	1.7
1-6 yrs	0.8	2.2
7-11 yrs	0.9	2.6

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

Analyte	Cross-reactivity, % wt/wt
IgG	<0.1
IgM	<0.1
IgE	<0.1

11.2. Analytical sensitivity. Sensitivity of the assay was assessed as being 0.06 g/l.


















11.3. Linearity. Linearity was checked by assaying dilution series of 5 samples with different total IgA concentrations. Linearity percentages obtained ranged within 90 to 110%.

11.4. Recovery. Recovery was estimated by assaying 5 mixed samples with known total IgA concentrations. The recovery percentages ranged from 90 to 110%.

12. LITERATURE

1. Heiddis B. Valdimarsdottir and Arthur A. Stone – Psychosocial Factors and Secretory Immunoglobulin A. Critical Reviews in Oral Biology & Medicine, Jan 1997; 8: 461 – 474.

2. Amir H Abdul Latiff and Michael A Kerr – The clinical significance of immunoglobulin A deficiency. Ann Clin Biochem, Mar 2007; 44: 131 – 139.

Символ / Symbol	Значение символа / Symbolize
	Производитель / Manufacturer
	Дата производства / Date of manufacture
	Номер по каталогу / Catalogue number
	Номер серии / Batch code
	Использовать до (год-месяц) / Use By
	Ограничение температуры / Temperature limitation
	Только для ин витро диагностики / In Vitro Diagnostic Medical Device
	Внимание! / Caution, consult accompanying documents
	Не использовать при нарушении целостности упаковки / Do not use if package damaged
	Планшет / EIA strips
	Калибровочные пробы / Calibrator set
	Контрольная сыворотка / Control sera
	Конъюгат / Conjugate
	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) / Substrate solution
	Концентрат отмывочного раствора / Washing solution concentrate
	Стоп-реагент / Stop solution
	ИФА-Буфер / EIA buffer

Уважаемый Клиент!

Если в процессе работы с нашими наборами Вам понадобились пластиковые ванночки для жидких реагентов, одноразовые наконечники для дозаторов или дополнительные объемы реагентов (концентрат отмывочного раствора, ИФА-Буфер, раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), стоп-реагент), входящих в состав Набора, просим Вас обратиться к поставщику продукции ООО «ХЕМА» в Вашем регионе.

Все указанные расходные материалы предоставляются бесплатно, в необходимом для проведения анализа количестве.

Перечень наборов реагентов для диагностики инфекционных заболеваний производства ООО «ХЕМА»

№ по каталогу	Наименование
K101	«Toxoplasma IgG-ИФА»
K101M	«Toxoplasma IgM-ИФА»
K102	«Rubella IgG-ИФА»
K102M	«Rubella IgM-ИФА»
K103	«Cytomegalovirus IgG-ИФА»
K103M	«Cytomegalovirus IgM-ИФА»
K104	«HSV 1,2 IgG-ИФА»
K104M	«HSV 1,2 IgM-ИФА»
K105	«Chlamydia IgG-ИФА»
K106	«Mycoplasma IgG-ИФА»
K111G	«Сифилис IgG-ИФА»
K111	«Сифилис суммарные антитела-ИФА»
K121	«Aspergillus IgG-ИФА»



Russian Diagnostic
Manufacturers Association



Ассоциация российских
производителей средств медицинской
диагностики и диагностики



Russian Association
of Medical Laboratory
Diagnosticians



Российская Ассоциация
Медицинской Лабораторной
Диагностики

Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

8 800 505 23 45

Все звонки на номер горячей линии бесплатны для звонящего с любого мобильного или стационарного телефона по всей территории России.

Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

105043, г. Москва, а/я 58

105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1-й под., 5 этаж

тел.: +7 (495) 510-57 07, 737-39-36;

факс: +7 (495) 737-00-40

e-mail: info@xema.ru

www.xema-medica.com

ФООО «Хема», тел.: +7 (812) 271-24-41

191144, Санкт-Петербург, Дегтярный пер., д. 8-10, литер А

e-mail: spb@xema.ru

СП ООО «Хемма-Тест», тел.: (17) 211-80-39

Офис: 220029, Минск, Проспект Машерова, д. 11,

литер А, корп. 8/К, офис 416

e-mail: hemma-test@yandex.ru

ТОВ «Хема», тел.: (044) 422-62-16;

03179, г. Киев, ул. Академика Ефремова, д. 23;

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com





Instruction for use



**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ
ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОБЩЕГО IgM
В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ**

«Общий IgM-ИФА»

**A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY
FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION
OF TOTAL IgM IN HUMAN BIOLOGICAL FLUIDS**

Total IgM EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF K277**

ТУ № 9398-277-18619450-2009

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
№ ФСР 2009/06102 от 19 ноября 2009 г.

Антитела к ВИЧ 1,2, вирусу гепатита С и HBsAg отсутствуют
Контрольные сыворотки, входящие в состав набора, инактивированы.



For 96 determinations/На 96 определений



Для *ин витро* диагностики

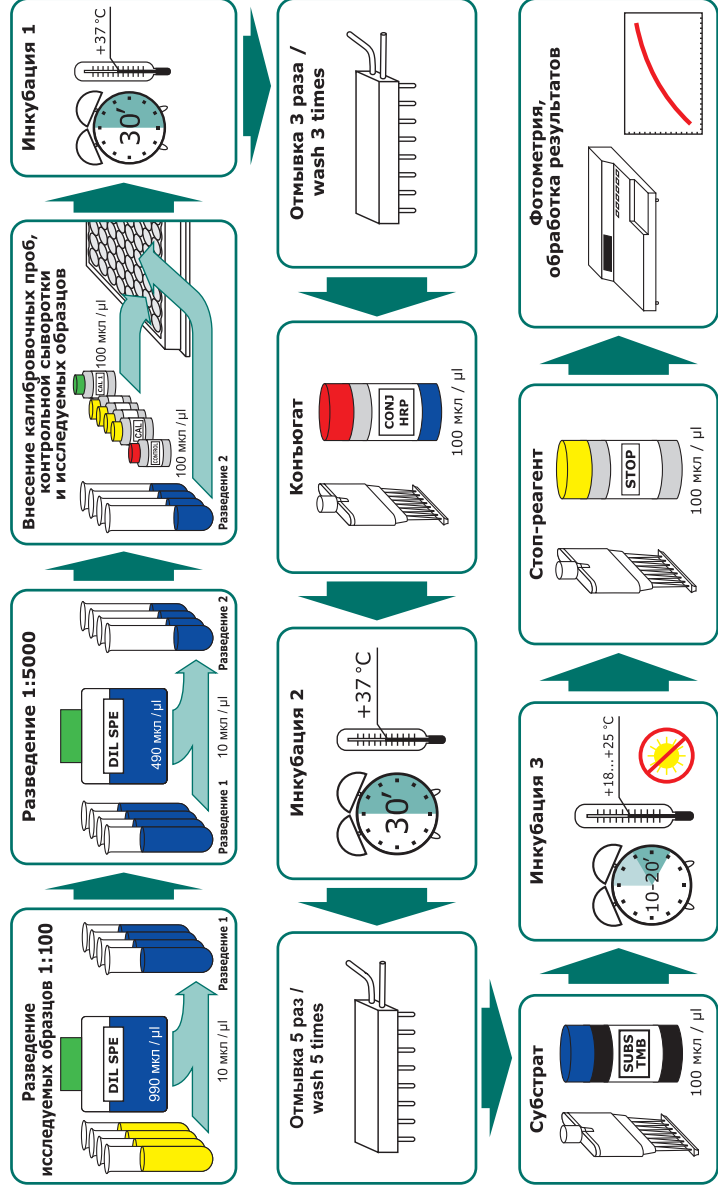


XEMA Co., Ltd.
The 9th Parkovaya str., 48
105264 Moscow, Russia
Telephone/fax: +7(495) 737-39-36; 737-00-40
e-mail: redkin@xema-medica.com
internet: www.xema-medica.com



Authorized Representative in EU:
Polmed.de
Steinacker 20, D-73773
Aichwald, Germany
e-mail: info@polmed.de

Схема проведения анализа / Test procedure *



* Для сыворотки (плазмы) крови.

Способ разведения для других видов материала приведен в таблице М

* Blood serum or plasma

For other tested materials, see table M.

K271, K274, K275, K277

СОДЕРЖАНИЕ

1. НАЗНАЧЕНИЕ	2
2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА	3
3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	3
4. СОСТАВ НАБОРА	4
5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	5
6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ	5
7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА	5
8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА	6
9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА	7
10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ	9
11. ЛИТЕРАТУРА	9

CONTENT

1. INTENDED USE	10
2. SUMMARY AND EXPLANATION	10
3. PRINCIPLE OF THE TEST	10
4. WARNINGS AND PRECAUTIONS	11
5. KIT COMPONENTS	12
6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE	13
7. TEST PROCEDURE	13
8. QUALITY CONTROL	15
9. CALCULATION OF RESULTS	15
10. EXPECTED VALUES	16
11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS	16
12. LITERATURE	16

Инструкция составлена Руководителем службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА»,
к. б. н. Д. С. Кострикиным

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОБЩЕГО IgM В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ «Общий IgM-ИФА»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «Общий IgM-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации общего IgM в биологических жидкостях (см. таблицу М) методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Иммуноглобулин М (IgM) присутствует в крови как в мономерной, так и в пентамерной формах. Повышенная концентрация IgM в сыворотке крови является основным признаком первичного иммунного ответа, а также может свидетельствовать о персистирующих бактериальных и вирусных инфекциях. Снижение концентрации IgM в сыворотке крови наблюдается при некоторых иммунодефицитах. Резкое повышение уровня IgM характерно для макроглобулинемии (болезни Вальденстрема) и IgM миеломы.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение общего IgM основано на использовании «сэндвич»-варианта твердофазного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы мышинные моноклональные антитела к общему IgM человека. В лунках планшета, при добавлении исследуемого образца, происходит связывание общего IgM, содержащегося в исследуемом образце, с антителами на твердой фазе. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата мышинных моноклональных антител к общему IgM с пероксидазой хрена. В результате образуется связанный с пластиком «сэндвич», содержащий пероксидазу. Во время инкубации с раствором субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) происходит окрашивание растворов в лунках. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации общего IgM в исследуемом образце. Концентрацию общего IgM в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания общего IgM в калибровочных пробах.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Перекрестная реакция мышиных моноклональных антител к общему IgM с другими аналитами приведена в таблице:

Аналит	Перекрестная реакция, %
IgA	<0.1
IgG	<0.1
IgE	<0.1

3.2. Воспроизводимость.

Коэффициент вариации результатов определения содержания общего IgM в одном и том же образце биологических жидкостей с использованием Набора «Общий IgM-ИФА» не превышает 8.0%.

3.3. Линейность.

Зависимость концентрации общего IgM в образцах биологических жидкостей при разведении их биологическими жидкостями, не содержащей общий IgM, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 0.5–10 г/л и составляет $\pm 10.0\%$.

3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации общего IgM предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 2.0 г/л. Процент «открытия» составляет 90–110%.

3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «Общий IgM-ИФА» концентрация общего IgM в биологических жидкостях не превышает 0.06 г/л.

4. СОСТАВ НАБОРА

Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1 P277Z	SORV MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2 C277Z	CAL 1-5	Калибровочные пробы на основе трис-буфера (рН 7.2-7.4), содержащие известные количества общего IgM – 0; 0.5; 2; 5; 10 г/л , готовы к использованию (по 1 мл каждая)	5	шт.	прозрачные жидкости пурпурного цвета (калибровочная проба 0 – прозрачная бесцветная жидкость)
3 Q277Z	CONTROL	Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием общего IgM, готова к использованию (1 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
4 T277Z	CONJ HRP	Конъюгат , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость пурпурного цвета
5 S011Z4	DIL SPE	ИФА-Буфер , готов к использованию (100 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость синего цвета
6 R055Z	SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
7 S008Z	BUF WASH 26X	Концентрат отмывочного раствора (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 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 K2771	-	Инструкция по применению Набора реагентов «Общий IgM-ИФА»	1	шт.	-
11 K277Q	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «Общий IgM-ИФА»	1	шт.	-

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

5.1. Потенциальный риск применения Набора – класс 2а (ГОСТ Р 51609-2000).

5.2. Все компоненты Набора, за исключением стоп-реагента (5.0% раствор серной кислоты), в используемых концентрациях являются нетоксичными.

Раствор серной кислоты обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. При попадании на кожу и слизистые пораженный участок следует промыть большим количеством проточной воды.

5.3. При работе с Набором следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

5.4. При работе с Набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированный материал, способный длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность содержимого лунок планшета при длине волны 450 нм;
- термостат, поддерживающий температуру $+37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$;
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы в диапазоне 5–250 мкл;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- бумага фильтровальная.

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

7.1. Перед проведением анализа компоненты Набора и исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови следует выдержать при комнатной температуре ($+18...+25\text{ }^{\circ}\text{C}$) не менее 30 мин.

7.2. Приготовление планшета.

Вскрыть пакет с планшетом и установить на рамку необходимое количество стрипов. Оставшиеся неиспользованными стрипы, чтобы предотвратить воздействие на них влаги, тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре $+2...+8\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности Набора.

7.3. Приготовление отмывочного раствора.

Содержимое флакона с концентратом отмывочного раствора (22 мл), перенести в мерный цилиндр вместимостью 1000 мл, добавить 550 мл дистиллированной воды и тщательно перемешать. В случае дробного использования Набора следует отобрать необходимое количество концентрата отмывочного раствора и развести дистиллированной водой в 26 раз (1 мл концентрата отмывочного раствора + 25 мл дистиллированной воды).

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

8.1. Набор реагентов «Общий IgM-ИФА» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности, указанного на упаковке Набора.

Допускается хранение (транспортировка) Набора при температуре до +25 °С не более 15 суток. Не допускается замораживание целого набора.

8.2. Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 42 исследуемых образцов, 5 калибровочных проб и 1 пробы контрольной сыворотки (всего 96 определений).

8.3. В случае дробного использования Набора компоненты следует хранить следующим образом:

- оставшиеся неиспользованными стрипы необходимо тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- Буфер для разведения образцов, конъюгат, субстрат, стоп-реагент после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;
- калибровочные пробы и контрольную сыворотку после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °С не более 2 месяцев;
- оставшийся неиспользованным концентрат отмывочного раствора следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора. Приготовленный отмывочный раствор следует хранить при комнатной температуре (+18...+25 °С) не более 15 суток или при температуре +2...+8 °С не более 45 суток.

Примечание. После использования реагента немедленно закрывайте крышку флакона. Закрывайте каждый флакон своей крышкой.

8.4. Для проведения анализа не следует использовать 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 общего IgM в контрольной сыворотке.

8.7. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение Инструкции по применению Набора.

8.8. Не используйте компоненты из других наборов или из аналогичных наборов других серий.

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов – исследуемые образцы в 2 повторях и 12 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки.
2	Разбавьте образцы сыворотки (плазмы) крови в 5000 раз, используя ИФА-Буфер. Пример: в пробирку Разведение 1 (1:100): 10 мкл образца + 990 мкл ИФА-Буфера. В другую пробирку Разведение 2 (1:5000) добавьте 10 мкл Разведения 1 + 490 мкл ИФА-Буфера. Разведение 2 (1:5000) следует использовать в анализе. Способ разведения для других видов материала приведен в таблице М. Не разбавляйте калибровочные пробы и контрольную сыворотку.
3	Если предполагаемая концентрация общего IgM в исследуемом образце превышает 10 г/л, его следует дополнительно развести, используя ИФА-Буфер. Использование других буферов и реагентов для разбавления образцов может исказить результаты определения! Примечание. Для получения надежных результатов рекомендуется использовать несколько последовательных разведений исследуемого образца биологических жидкостей.
4	Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 100 мкл каждой калибровочной пробы и контрольной сыворотки. При исследовании сыворотки (плазмы) крови в лунки, предназначенные для исследуемых образцов, внесите по 100 мкл разбавленных образцов (Разведение 2) . При исследовании других видов материала объем вносимого исследуемого образца указан в таблице М. Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
5	Аккуратно перемешайте содержимое планшета круговыми движениями по горизонтальной поверхности, заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета. 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 общего IgM в калибровочных пробах (г/л), ось ординат (y) – оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма обсчета (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод.
14	Определите по калибровочному графику содержание общего IgM в исследуемых образцах. Если исследуемый образец предразводили (см. п.3), умножьте полученный результат на фактор разведения. При анализе различных видов материала необходимо умножить полученные значения на Фактор пересчета, приведенный в таблице М.

Таблица М

Вид материала	Сбор, хранение и обработка материала	Пример разведения	Буфер для разведения образцов в лунку, мкл	Образец в лунку, мкл	Фактор пересчета
сыворотка (плазма) крови	Исследуемые образцы должны быть тщательно отцентрифугированы. Анализ мутных, хилезных и гемолитических образцов может привести к искажению результатов.	Разведение 1 (1:100): 10 мкл образца + 990 мкл Буфера для разведения образцов. В другую пробирку Разведение 2 (1:5000) добавьте 10 мкл Разведение 1 + 490 мкл Буфера для разведения образцов. Разведение 2 (1:5000) следует использовать в анализе	0	100	1
слюна	Исследуемые образцы должны быть тщательно отцентрифугированы. Анализ мутных образцов может привести к искажению результатов.		90	10	0.002
моча	Исследуемые образцы должны быть тщательно отцентрифугированы. Анализ мутных образцов может привести к искажению результатов.		50	50	0.0004
спинно-мозговая жидкость	Исследуемые образцы должны быть тщательно отцентрифугированы. Анализ мутных образцов может привести к искажению результатов.		80	20	0.001

10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ

10.1. Основываясь на результатах исследований, проведенных ООО «ХЕМА», рекомендуем пользоваться нормами, приведенными ниже. Вместе с тем, в соответствии с правилами *GLP* (Хорошей лабораторной практики), каждая лаборатория должна сама определить параметры нормы, характерные для обследуемой популяции.

Примечание. Значения концентраций общего IgM в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0.06 г/л), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (10 г/л) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация общего IgM ниже 0.06 г/л или выше 10 г/л.

Исследуемая группа	Единицы, г/л	
	Нижний предел	Верхний предел
Здоровые доноры	0.7	3.7
новорожденные	0.1	0.35
1-3 месяца	0.12	0.9
4-6 месяцев	0.25	1.2
7-12 месяцев	0.35	1.0
1-6 лет	0.55	2.2
7-11 лет	0.65	1.7

11. ЛИТЕРАТУРА

1. Erik J. Wiersma, Cathy Collins, Shafie Fazel, and Marc J. Shulman Structural and Functional Analysis of J Chain-Deficient IgM J. Immunol., Jun 1998; 160: 5979 – 5989.

По вопросам, касающимся качества Набора «**Общий IgM-ИФА**», следует обращаться в ООО «ХЕМА» по адресу:
105043, г. Москва, а/я 58
105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1-й под., 5 этаж,
тел/факс (495) 737-39-36, 737-00-40, 510-57-07 (многоканальный)

электронная почта: info@xema.ru; rqc@xema.ru
интернет: www.xema.ru; www.xema-medica.com

Руководитель службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА»,
к. б. н. Д. С. Кострикин

Instruction for use

A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF TOTAL IgM IN HUMAN BIOLOGICAL FLUIDS

1. INTENDED USE

A solid-phase enzyme immunoassay for the quantitative determination of total IgM in biological fluids.

This kit is designed for measurement of total IgM in biological fluids. For possibility of use with other sample types, please, refer to Application Notes (on request). The kit contains reagents sufficient for 96 determinations and allows to analyze 42 unknown samples in duplicates.

2. SUMMARY AND EXPLANATION

Immunoglobulin M (IgM) is secreted during primary immune response and exists in monomeric and pentameric forms. Elevated serum IgM is observed in chronic inflammation, macroglobulinemia and IgM myeloma. Decreased IgM level may occur in some immunodeficiency syndromes.

3. PRINCIPLE OF THE TEST

This test is based on two-site sandwich enzyme immunoassay principle. Tested specimen is placed into the microwells coated by specific murine monoclonal to human total IgM-antibodies. Antigen from the specimen is captured by the antibodies coated onto the microwell surface. Unbound material is removed by washing procedure. Second antibodies – murine monoclonal to human total IgM, labelled with peroxidase enzyme, are then added into the microwells. After subsequent washing procedure, the remaining enzymatic activity bound to the microwell surface is detected and quantified by addition of chromogen-substrate mixture, stop solution and photometry at 450 nm. Optical density in the microwell is directly related to the quantity of the measured analyte in the specimen.

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

4.1. For professional use only.

4.2. This kit is intended for in vitro diagnostic use only.

4.3. INFECTION HAZARD: There is no available test methods that can absolutely assure that Hepatitis B and C viruses, HIV-1/2, or other infectious agents are not present in the reagents of this kit. All human products, including patient samples, should be considered potentially infectious. Handling and disposal should be in accordance with the procedures defined by an appropriate national biohazard safety guidelines or regulations.

4.4. Avoid contact with stop solution containing 5.0% H_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	total IgM EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp.date
2	total IgM EIA strips, 8x12 wells Calibrator set, 1 ml each. The set contains 5 calibrators: 0; 0.5; 2; 5; 10 g/l	5	pcs	purple (C1 – colourless)	2 months
3	Control serum (1 ml)	1	pcs	colourless	2 months
4	Conjugate, 14 ml	1	pcs	purple	until exp. date
5	EIA buffer 100 ml	1	pcs	blue	until exp. date
6	Substrate solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
7	Washing solution concentrate 26X, 22 ml	1	pcs	colourless	Concentrate – until exp.date Diluted washing solution – 45 days at 2-8 °C or 15 days at RT
8	Stop solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp. date
9	Plate sealing tape	2	pcs		N/A
10	Instruction total IgM EIA	1	pcs		N/A
11	QC data sheet total IgM EIA	1	pcs		N/A

5.2. Equipment and material required but not provided

- Distilled or deionized water;
- Automatic or semiautomatic multichannel micropipettes, 100–250 µl, is useful but not essential;
- Calibrated micropipettes with variable volume, range volume 5–250 µl;
- Dry thermostat for 37 °C ±0.1 °C
- Calibrated microplate photometer with 450 nm wavelength and OD measuring range 0–3.0

5.3. Storage and stability of the Kit

Store the whole kit at +2...+8 °C upon receipt until the expiration date.

After opening the pouch keep unused microtiter wells TIGHTLY SEALED BY ADHESIVE TAPE (INCLUDED) to minimize exposure to moisture.

6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

This kit is intended for use with serum or plasma (ACD- or heparinized). Grossly hemolytic, lipemic, or turbid samples should be avoided.

Specimens may be stored for up to 48 hours at +2...+8 °C before testing.

7. TEST PROCEDURE**7.1. Reagent Preparation**

- All reagents (including unsealed microstrips) should be allowed to reach room temperature (+18...+25 °C) before use.
- All reagents should be mixed by gentle inversion or vortexing prior to use. Avoid foam formation.
- It is recommended to spin down shortly the tubes with calibrators on low speed centrifuge.
- Prepare washing solution from the concentrate BUF WASH 26X by 26 dilutions in distilled water.

7.2. Procedural Note:

It is recommended that pipetting of all calibrators and samples should be completed within 3 minutes.

7.3. Assay flowchart

See the example of calibration graphic in Quality Control data sheet.

7.4. Assay procedure

1	Put the desired number of microstrips into the frame; allocate 12 wells for the calibrators CAL 1–5 and control samples CONTROL and two wells for each unknown sample. DO NOT REMOVE ADHESIVE SEALING TAPE FROM UNUSED STRIPS.
2	Dilute samples using buffer DIL SPE (EIA sample buffer) 5000 fold. See table M for dilution modes and factors for different types of analyzed material. Do not dilute control sample and calibrators.
3	If suggested analyte concentration in the sample exceeds the highest calibrator, additionally dilute this sample accordingly, using DIL SPE (EIA sample buffer). Use of other buffers or reagents for sample dilution may lead to incorrect measurement.
4	Pipet 100 µl of calibrators CAL 1–5 and control samples CONTROL into allocated wells. For testing of blood serum or plasma pipet 100 µl of the unknown diluted sample (DILUTION 2) into the allocated wells. See table M for the volumes of other materials. Pipetting should be made within 3 minutes, to ensure an uniform incubation time for all samples. Carefully mix the contents of the wells by short horizontal rotating of the plate for 5–7 seconds and cover the wells by plate adhesive tape (included into the kit).
5	Incubate 30 minutes at 37 °C.
6	Prepare washing solution by 26X dilution of washing solution concentrate BUF WASH 26X by distilled water. Minimal quantity of washing solution should be 250 µl per well. Wash strips 3 times.
7	Dispense 100 µl of CONJ HRP into the wells.
8	Incubate 30 minutes at 37 °C.
9	Wash the strips 5 times.
10	Dispense 100 µl of SUBS TMB into the wells.
11	Incubate 10–20 minutes at +18...+25 °C.
12	Dispense 100 µl of STOP into the wells.
13	Measure OD (optical density) at 450 nm.
14	Set photometer blank on first calibrator.
15	Apply point-by-point method for data reduction. Use Calculation factor listed in table M to calculate analyte concentration in different material types.

7.5. Sample processing

Material type	Notes on material collection, storage and handling	Sample dilution example	EIA sample buffer into the well, µl	Sample into the well, µl	Calculation factor
blood serum or plasma	Grossly hemolytic, lipemic, or turbid samples should be avoided and should be treated by centrifugation before testing.	10 µl of sample + 990 µl of diluent = DILUTION 1. 10 µl of DILUTION 1 + 490 µl of diluent = DILUTION 2	0	100	1
saliva	Grossly hemolytic, lipemic, or turbid samples should be avoided and should be treated by centrifugation before testing.		90	10	0.002
urine	Grossly hemolytic, lipemic, or turbid samples should be avoided and should be treated by centrifugation before testing.		50	50	0.0004
cerebrospinal fluid	Grossly hemolytic, lipemic, or turbid samples should be avoided and should be treated by centrifugation before testing.		80	20	0.001

8. QUALITY CONTROL

It is recommended to use control samples according to state and federal regulations. The use of control samples is advised to assure the day to day validity of results.

The test must be performed exactly as per the manufacturer's instructions for use. Moreover the user must strictly adhere to the rules of GLP (Good Laboratory Practice) or other applicable federal, state, and local standards and/or laws. This is especially relevant for the use of control reagents. It is important to always include, within the test procedure, a sufficient number of controls for validating the accuracy and precision of the test.

The test results are valid only if all controls are within the specified ranges and if all other test parameters are also within the given assay specifications.

9. CALCULATION OF RESULTS

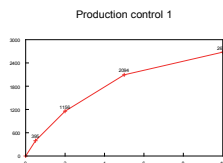
9.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

9.2. Plot a calibration curve on graph paper: OD versus total IgM concentration.

9.3. Determine the corresponding concentration of total IgM in unknown samples from the calibration curve. Manual or computerized data reduction is applicable on this stage. Point-by-point or linear data reduction is recommended due to non-linear shape of curve.

9.4. Below is presented a typical example of a standard curve with the XEMA Co. Not for calculations!

Calibrators	Value	Absorbance Units (450 nm)
CAL 1	0 g/l	0.08
CAL 2	0.5 g/l	0.32
CAL 3	2 g/l	0.93
CAL 4	5 g/l	2.15
CAL 5	10 g/l	3.01



10. EXPECTED VALUES

Therapeutical consequences should not be based on results of IVD methods alone – all available clinical and laboratory findings should be used by a physician to elaborate therapeutically measures. Each laboratory should establish its own normal range for total IgM. Based on data obtained by XEMA, the following normal range is recommended (see below). NOTE: the patients that have received murine monoclonal antibodies for radioimaging or immunotherapy develop high titered anti-mouse antibodies (HAMA). The presence of these antibodies may cause false results in the present assay. Sera from HAMA positive patients should be treated with depleting adsorbents before assaying.

Sex, age	Units, g/l	
	Lower limit	Upper limit
Healthy donors	0.7	3.7
newborn	0.1	0.35
1-3 month	0.12	0.9
4-6 month	0.25	1.2
7-12 month	0.35	1.0
1-6 yrs	0.55	2.2
7-11 yrs	0.65	1.7

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

Analyte	Cross-reactivity, % wt/wt
IgA	<0.1
IgG	<0.1
IgE	<0.1


















11.2. Analytical sensitivity. Sensitivity of the assay was assessed as being 0.06 g/l.

11.3. Linearity. Linearity was checked by assaying dilution series of 5 samples with different total IgM concentrations. Linearity percentages obtained ranged within 90 to 110%.

11.4. Recovery. Recovery was estimated by assaying 5 mixed samples with known total IgM concentrations. The recovery percentages ranged from 90 to 110%.

12. LITERATURE

Erik J. Wiersma, Cathy Collins, Shafie Fazel, and Marc J. Shulman Structural and Functional Analysis of J Chain-Deficient IgM J. Immunol., Jun 1998; 160: 5979 – 5989.

Символ / Symbol	Значение символа / Symbolize
	Производитель / Manufacturer
	Дата производства / Date of manufacture
	Номер по каталогу / Catalogue number
	Номер серии / Batch code
	Использовать до (год-месяц) / Use By
	Ограничение температуры / Temperature limitation
	Только для ин витро диагностики / In Vitro Diagnostic Medical Device
	Внимание! / Caution, consult accompanying documents
	Не использовать при нарушении целостности упаковки / Do not use if package damaged
	Планшет / EIA strips
	Калибровочные пробы / Calibrator set
	Контрольная сыворотка / Control sera
	Конъюгат / Conjugate
	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) / Substrate solution
	Концентрат отмывочного раствора / Washing solution concentrate
	Стоп-реагент / Stop solution
	ИФА-Буфер / EIA buffer

Уважаемый Клиент!

Если в процессе работы с нашими наборами Вам понадобились пластиковые ванночки для жидких реагентов, одноразовые наконечники для дозаторов или дополнительные объемы реагентов (концентрат отмывочного раствора, ИФА-Буфер, раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), стоп-реагент), входящих в состав Набора, просим Вас обратиться к поставщику продукции ООО «ХЕМА» в Вашем регионе.

Все указанные расходные материалы предоставляются бесплатно, в необходимом для проведения анализа количестве.

Перечень наборов реагентов для диагностики инфекционных заболеваний производства ООО «ХЕМА»

№ по каталогу	Наименование
K101	«Toxoplasma IgG-ИФА»
K101M	«Toxoplasma IgM-ИФА»
K102	«Rubella IgG-ИФА»
K102M	«Rubella IgM-ИФА»
K103	«Cytomegalovirus IgG-ИФА»
K103M	«Cytomegalovirus IgM-ИФА»
K104	«HSV 1,2 IgG-ИФА»
K104M	«HSV 1,2 IgM-ИФА»
K105	«Chlamydia IgG-ИФА»
K106	«Mycoplasma IgG-ИФА»
K111G	«Сифилис IgG-ИФА»
K111	«Сифилис суммарные антитела-ИФА»
K121	«Aspergillus IgG-ИФА»



Russian Diagnostic
Manufacturers Association



Классический российский
профессиональный союз клинических
лабораторных диагностов



Russian Association
of Medical Laboratory
Diagnosticians



РОССИЙСКАЯ АССОЦИАЦИЯ
МЕДИЦИНСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ
ДИАГНОСТИКИ

Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

8 800 505 23 45

Все звонки на номер горячей линии бесплатны для звонящего с любого мобильного или стационарного телефона по всей территории России.

Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

105043, г. Москва, а/я 58

105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1-й под., 5 этаж

тел.: +7 (495) 510-57 07, 737-39-36;

факс: +7 (495) 737-00-40

e-mail: info@xema.ru

www.xema-medica.com

ФООО «Хема», тел.: +7 (812) 271-24-41

191144, Санкт-Петербург, Дегтярный пер., д. 8-10, литер А

e-mail: spb@xema.ru

СП ООО «Хемма-Тест», тел.: (17) 211-80-39

Офис: 220029, Минск, Проспект Машерова, д. 11,

литер А, корп. 8/К, офис 416

e-mail: hemma-test@yandex.ru

ТОВ «Хема», тел.: (044) 422-62-16;

03179, г. Киев, ул. Академика Ефремова, д. 23;

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com

