



Instruction for use



**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
НАБОРА РЕАГЕНТОВ
ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
17-ОН-ПРОГЕСТЕРОНА В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ
«17-ОН-ПРОГЕСТЕРОН-ИФА»**

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

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF K217**

ТУ № 9398-067-18619450-2008

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
№ ФСР2009/04164 от 17 февраля 2009 года



For 96 determinations



Для ин витро диагностики



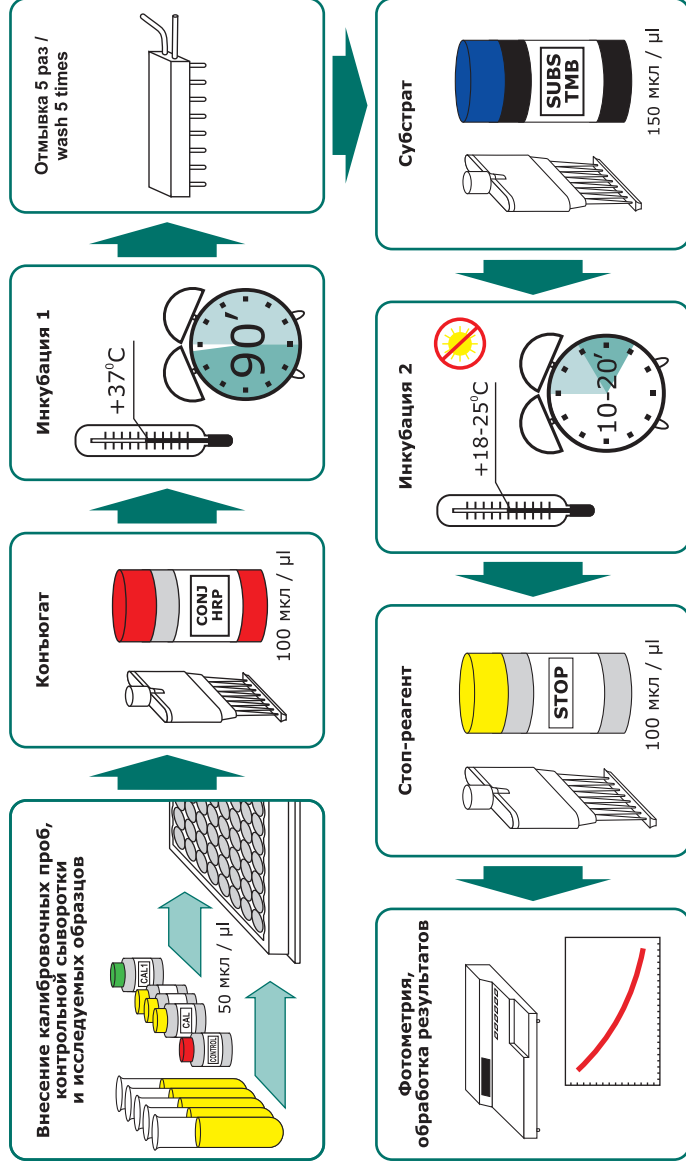
XEMA Co., Ltd.

The 9-ya Parkovaya str., 48, bld. 4,
105043 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



K217

СОДЕРЖАНИЕ

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

CONTENT

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

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

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ 17-ОН-ПРОГЕСТЕРОНА В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «17-ОН-ПРОГЕСТЕРОН-ИФА»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

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

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

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение 17-ОН-Прогестерона основано на использовании конкурентного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы кроличьи поликлональные антитела к 17-ОН-Прогестерону. 17-ОН-Прогестерон из образца конкурирует с конъюгированным 17-ОН-Прогестероном за связывание с антителами на поверхности лунки. В результате образуется связанный с пластиком «сэндвич», содержащий пероксидазу. Во время инкубации с раствором субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) происходит окрашивание растворов в лунках. Интенсивность окраски обратно пропорциональна концентрации 17-ОН-Прогестерона в исследуемом образце. Концентрацию 17-ОН-Прогестерона в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания 17-ОН-Прогестерона в калибровочных пробах.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

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

Аналит	Перекрестная реакция, %
17-ОН-Р	100%
11-Дезоксикортизол	2,3%
Прогестерон	<1,0%
Другие родственные стероиды	<0,1%

3.2. Воспроизводимость.

Коэффициент вариации результатов определения содержания 17-ОН-Прогестерона в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «17-ОН-ПРОГЕСТЕРОН-ИФА» не превышает 8,0%.

3.3. Линейность.

Зависимость концентрации 17-ОН-Прогестерона в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей 17-ОН-Прогестерон, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 0.5–100 нмоль/л и составляет $\pm 10,0\%$.

3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации 17-ОН-Прогестерона предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 1.5 нмоль/л. Процент «открытия» составляет 90-110%.

3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «17-ОН-ПРОГЕСТЕРОН-ИФА» концентрация 17-ОН-Прогестерона в сыворотке (плазме) крови не превышает 0.25 нмоль/л.

4. СОСТАВ НАБОРА

Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1	P217Z	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2	C217Z	Калибровочные пробы на основе сыворотки крови человека, содержащие известные количества 17-ОН-Прогестерона – 0; 0.5; 1.5; 5; 20; 100 нмоль/л , готовы к использованию (по 0.8 мл каждая)	6	шт.	прозрачные жидкости пурпурного цвета (калибровочная проба 0 – прозрачная бесцветная жидкость)
3	Q217Z	Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием 17-ОН-Прогестерона, готова к использованию (0.8 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
4	T217Z	Конъюгат , готов к использованию (1.1 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость пурпурного цвета
5	R055Z	Раствор субстрата тетраметилбензида (ТМБ), готов к использованию (11 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
6	S008Z	Концентрат отмывочного раствора , 21х-кратный (22 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
7	R050Z	Стоп-реагент , готов к использованию (1.1 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
8	N003	Бумага для заклеивания планшета	2	шт.	-
9	K2171	Инструкция по применению Набора реагентов «17-ОН-ПРОГЕСТЕРОН-ИФА»	1	шт.	-
10	K217Q	Паспорт контроля качества Набора реагентов «17-ОН-ПРОГЕСТЕРОН-ИФА»	1	шт.	-

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

5.1. Потенциальный риск применения Набора – класс 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 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 ($+18...+25\text{ }^{\circ}\text{C}$) 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.

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

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

8.1. Набор реагентов «17-ОН-ПРОГЕСТЕРОН-ИФА» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности, указанного на упаковке Набора.

Допускается хранение (транспортировка) Набора при температуре до +25 °С не более 5 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 5 суток или при температуре +2...+8 °С не более 30 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 17-ОН-Прогестерона 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 14 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки.
2	Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 50 мкл калибровочной пробы и контрольной сыворотки. В остальные лунки внесите в дубликатах по 50 мкл исследуемых образцов сыоротки (плазмы) крови. Внесение калибровочных проб, контрольной сыоротки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 5–10 минут.
3	Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.
4	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте его в течение 90 минут при температуре +37 °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 тетраметилбензидина. Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2–3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25°C) в течение 10–20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.
7	Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
8	Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм. Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра выставьте по воздуху.
9	Постройте в полулогарифмических координатах калибровочный график: ось абсцисс (x) – десятичный логарифм концентрации 17-ОН-Прогестерона в калибровочных пробах (нмоль/л), ось ординат (y) – оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма 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 17-ОН-Прогестерона в исследуемых образцах.

10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ

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

Примечание. Значения концентраций 17-ОН-Прогестерона в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0.25 нмоль/л), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (100 нмоль/л) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация 17-ОН-Прогестерона ниже 0.25 нмоль/л или выше 100 нмоль/л.

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

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

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

11. ЛИТЕРАТУРА

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

По вопросам, касающимся качества Набора **«17-ОН-ПРОГЕСТЕРОН-ИФА»**, следует обращаться в ООО «ХЕМА» по адресу:

105043, 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 17-OH-PROGESTERONE
IN HUMAN BLOOD SERUM OR PLASMA**

1. INTENDED USE

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

This kit is designed for measurement of 17-OH-progesterone in blood serum or plasma. For possibility of use with other sample types, please, refer to Application Notes (on request). The kit contains reagents sufficient for 96 determinations and allows to analyze 41 unknown samples in duplicates.

2. SUMMARY AND EXPLANATION

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

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

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

3. PRINCIPLE OF THE TEST

This test is based on competition enzyme immunoassay principle. Tested specimen is placed into the microwells coated by specific rabbit polyclonal to 17-OH-progesterone-antibodies simultaneously with conjugated 17-OH-progesterone-peroxidase. 17-OH-progesterone from the specimen competes with the conjugated 17-OH-progesterone for coating antibodies. After washing procedure, the remaining enzymatic activity bound to the microwell surface is detected and quantified by addition of chromogen-substrate mixture, stop solution and photometry at 450 nm. Optical density in the microwell is inversely related to the quantity of the measured analyte in the specimen.

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

4.1. For professional use only.

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

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

4.4. Avoid contact with stop solution containing 5,0% 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.

5.1. Contents of the Kit

5. KIT COMPONENTS

Symbol	Description	Qty	Units	Colour code	Stability of opened/diluted components
1 SORB MTP	17-OH-progesterone EIA strips, 8x12wells	1	pcs		until exp. date
2 CAL 1-6	Calibrator set, 0.8 ml each. The set contains 6 calibrators: 0; 0.5; 1.5; 5; 20; 100 nmol/l	6	pcs	purple (C1 – colourless)	2 months
3 CONTROL	Control serum (0.8 ml)	1	pcs	colourless	2 months
4 CONJ HRP	Conjugate, 1.1 ml	1	pcs	purple	until exp. date
5 SUBS TMB	Substrate solution, 11 ml	1	pcs	colourless	until exp. date
6 BUF WASH 21X	Washing solution concentrate 21X, 22 ml	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, 11ml	1	pcs	colourless	until exp. date
8 N003	Plate sealing tape	2	pcs		N/A
9 K2171	Instruction 17-OH-progesterone EIA	1	pcs		N/A
10 K217Q	QC datasheet 17-OH-progesterone EIA	1	pcs		N/A

5.2. Equipment and material required but not provided

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

5.3. Storage and stability of the Kit

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

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

6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

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

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

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

- All reagents (including unsealed microstrips) should be allowed to reach room temperature (+18...+25 °C) before use.
- All reagents should be mixed by gentle inversion or vortexing prior to use. Avoid foam formation.
- It is recommended to spin down shortly the tubes with calibrators on low speed centrifuge.
- Prepare washing solution from the concentrate BUF WASH 21X by 21 dilutions in distilled water.

7.2. Procedural Note:

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

7.3. Assay flowchart

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

7.4. Alternative units:

1 nmol/l = 0.32 ng/ml

7.5. Assay procedure

1	Put the desired number of microstrips into the frame; allocate 14 wells for the calibrators CAL 1–6 and control samples CONTROL and two wells for each unknown sample. DO NOT REMOVE ADHESIVE SEALING TAPE FROM UNUSED STRIPS.
2	Pipet 50 µl of calibrators CAL 1–6, control samples CONTROL and unknown samples into the wells.
3	Dispense 100 µl of CONJ HRP into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape (included into the kit).
4	Incubate 90 minutes at 37 °C.
5	Prepare washing solution by 21x dilution of washing solution concentrate (BUF WASH 21X) 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.
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

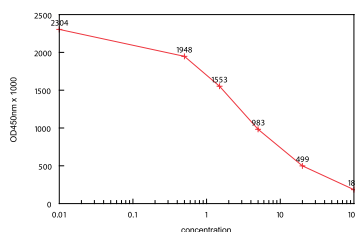
9.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

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

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

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

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



10. EXPECTED VALUES

Therapeutical consequences should not be based on results of IVD methods alone – all available clinical and laboratory findings should be used by a physician to elaborate therapeutically measures. Each laboratory should establish its own normal range for 17-OH-progesterone. Based on data obtained by XEMA, the following normal range is recommended (see below). NOTE: the patients that have received murine monoclonal antibodies for radioimaging or immunotherapy develop high titered anti-mouse antibodies (HAMA). The presence of these antibodies may cause false results in the present assay. Sera from HAMA positive patients should be treated with depleting adsorbents before assaying.

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

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

Analyte	Cross-reactivity, % wt/wt
17-OH-P	100%
11-Deoxycortisol	2,3%
Progesterone	<1,0%
other steroids	<0,1%

11.2. Analytical sensitivity.


















Sensitivity of the assay was assessed as being 0.25 nmol/l.

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

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

12. LITERATURE

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

Символ / Symbol	Значение символа / Symbolize
	Производитель / Manufacturer
	Дата производства / Date of manufacture
	Номер по каталогу / Catalogue number
	Номер серии / Batch code
 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 и т.д.), 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
диагностов

Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

8 800 505 23 45

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

Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

105043, г. Москва, а/я 58, 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

ФОО «Хема», тел.: (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;

03022 Киев, ул. Васильковская, д. 98, 2 этаж;

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com

