



# XEMA

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

10.02.2022

Исх. № 10-01/02

## STATEMENT

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

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

Signature:



Dmitry S. Kostrikin

Deputy general manager

## Annex 1

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

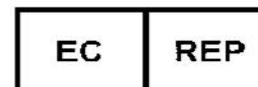
**XEMA Co., Ltd.**  
 bld.48/4, 9th Parkovaya str.  
 Moscow 105264, RUSSIA,  
 info@xema.ru; www.xema.ru



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

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

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



Polmed.de, Beata Rozwadowska  
Fichtenstr. 12A, 90763 Fürth  
Germany email: [info@polmed.de](mailto:info@polmed.de)

# MANAGEMENT SYSTEM CERTIFICATE

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

Initial certification date:  
14 February 2019

Valid:  
15 February 2022 – 14 February 2025

This is to certify that the management system of  
**XEMA Co, LTD**  
bld. 48, 9-th Parkovaya str., Moscow, Russian Federation, 105264  
and the sites as mentioned in the appendix accompanying this certificate

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

This certificate is valid for the following scope:

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

Place and date:  
Espoo, 14 February 2022



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



Kimmo Haarala  
Management Representative

## Appendix to Certificate

### XEMA Co, LTD

Locations included in the certification are as follows:

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



Instruction for use



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

**«Cytomegalovirus IgG-ИФА»**

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

**Cytomegalovirus IgG EIA**

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ REF **K103**

ТУ № 9398-103-18619450-2009

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ  
№ ФСР 2010/07034 от 1 марта 2010 г.

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



For 96 determinations/ На 96 определений



Для *in vitro* диагностики



XEMA Co., Ltd.

The 9th Parkovaya str., 48

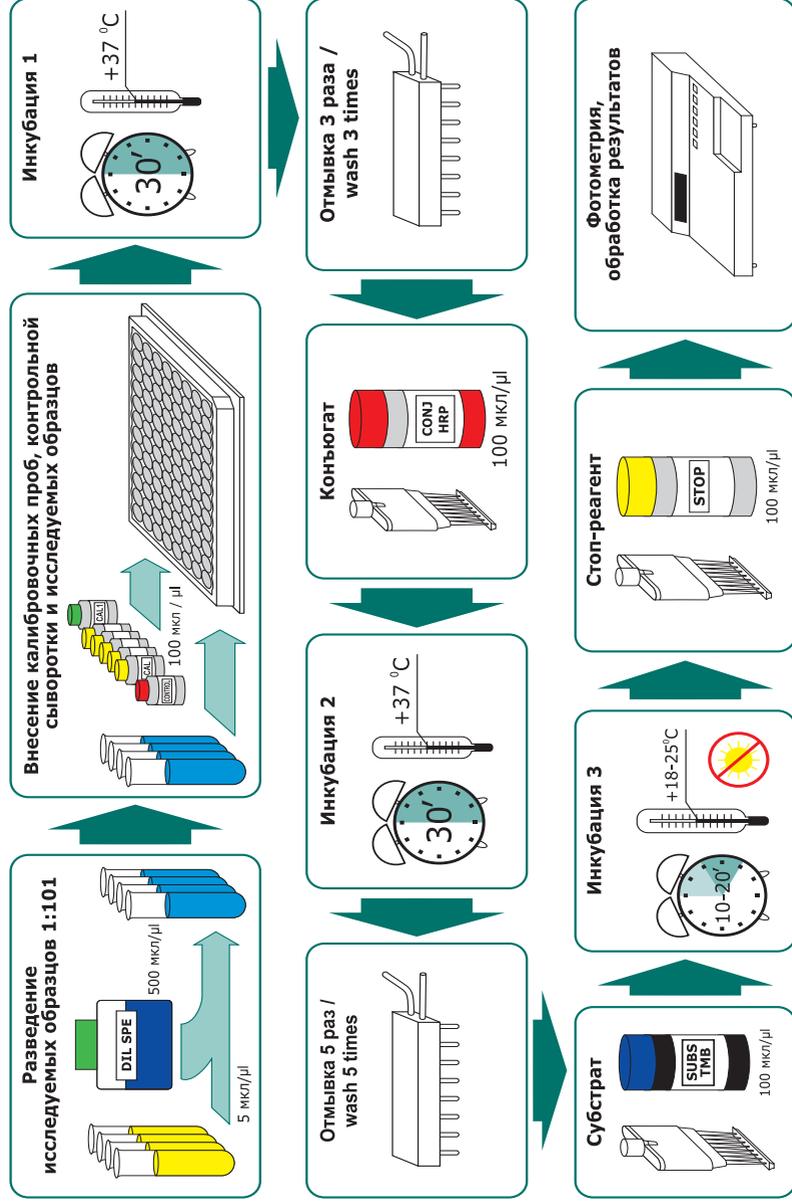
105264 Moscow, Russia

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

e-mail: redkin@xema-medica.com

internet: www.xema-medica.com

# Схема проведения анализа / Test procedure



**K101, K102, K103**

**СОДЕРЖАНИЕ**

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

**CONTENT**

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

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

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

**1. НАЗНАЧЕНИЕ**

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

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

## 2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение IgG антител к антигенам Cytomegalovirus основано на использовании непрямого варианта твердофазного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизован антиген - CMV. Антитела из образца связываются с антигеном на поверхности лунки. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата мышиных моноклональных антител к IgG человека с пероксидазой хрена. В результате образуется связанный с пластиком «сэндвич», содержащий пероксидазу. Во время инкубации с раствором субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) происходит окрашивание растворов в лунках. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации специфических IgG антител к антигенам Cytomegalovirus.

## 3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

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

### **3.2. Воспроизводимость.**

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

### **3.3. Линейность.**

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

## 4. СОСТАВ НАБОРА

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

## 5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

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

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

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

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

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

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

## 7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

**7.1.** Перед проведением анализа компоненты Набора и исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови следует 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 «Cytomegalovirus IgG-ИФА» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности, указанного на упаковке Набора. Допускается хранение (транспортировка) Набора при температуре до +25 °С не более 15 суток. Не допускается замораживание целого набора.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## 9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

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

12	<b>Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре</b> вертикального сканирования <b>при длине волны 450 нм</b> . Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стол-реагента. Бланк фотометра выставьте по воздуху.
13	<b>При количественном учете результатов: постройте в линейных координатах калибровочный график: ось абсцисс (X) - концентрация IgG антител к антигенам Cytomegalovirus в калибровочных пробах (Ед/мл), ось ординат (Y) - оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм).</b> Для алгоритма обсчета (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод.
14	Определите по калибровочному графику содержание IgG антител к антигенам Cytomegalovirus в исследуемых образцах.
15	<b>При качественном учете результатов:</b> 1. Рассчитайте среднее ОП калибровочной пробы CAL2 2. Умножьте это среднее на коэффициент (Q), значение которого указано в Паспорте серии - получите граничное значение оптической плотности (ОПГ); 3. Для каждого образца вычислите коэффициент K, получаемый делением ОП образца на ОПГ. При $K > 1.1$ образец положительный, при $K < 0.9$ - отрицательный. При значении K, лежащем в промежутке от 0.91 до 1.09 - результат в пограничной зоне (+/-).

**Таблица М**

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

## 10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ

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

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

Если значение лежит в интервале от 0.6 Ед/мл (К от 1.1) до «второго cut-off», это может свидетельствовать либо о начальном периоде первичной инфекции, либо об инфекции, перенесенной ранее. Чтобы прояснить ситуацию, необходимо исследовать повторные образцы крови того же пациента, взятые через несколько недель. Нарастание титра в повторном образце свидетельствует о наличии инфекции. Если же титр не нарастает, это свидетельствует об отсутствии активной инфекции и об анамнестическом характере антител.

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

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

\*материнские антитела

## 11. ЛИТЕРАТУРА

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

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

105043, г. Москва, а/я 58

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

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

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

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

Руководитель службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА»,

к. б. н. Д. С. Кострикин

*Instruction for use*

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

### **1. INTENDED USE**

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

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

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

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

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

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

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

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

#### 4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

**4.1.** For professional use only.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## 5.1. Contents of the Kit

## 5. KIT COMPONENTS

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

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

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

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

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

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

**6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE**

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

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

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

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

**7.2. Procedural Note:**

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

**7.3. Assay flowchart**

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

**7.4. Alternative units:**

**7.4. Assay procedure**

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

**7.5. Sample processing**

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

## 8. QUALITY CONTROL

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

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

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

## 9. CALCULATION OF RESULTS

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

## 10. EXPECTED VALUES

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

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

\*antibodies of maternal origin

## 11. LITERATURE

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

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

### Уважаемый Клиент!

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

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

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

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



Russian Diagnostic  
Manufacturers Association



Классический российский  
профессиональный союз клинических  
лабораторных диагностов



Russian Association  
of Medical Laboratory  
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  
СΥТОМЕГАЛОВИРУС В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ**

## **«Cytomegalovirus IgM-ИФА»**

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

## **Cytomegalovirus IgM-EIA**

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ REF **K103M**

ТУ № 9398-1031-18619450-2009

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ  
№ ФСР 2010/07073 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

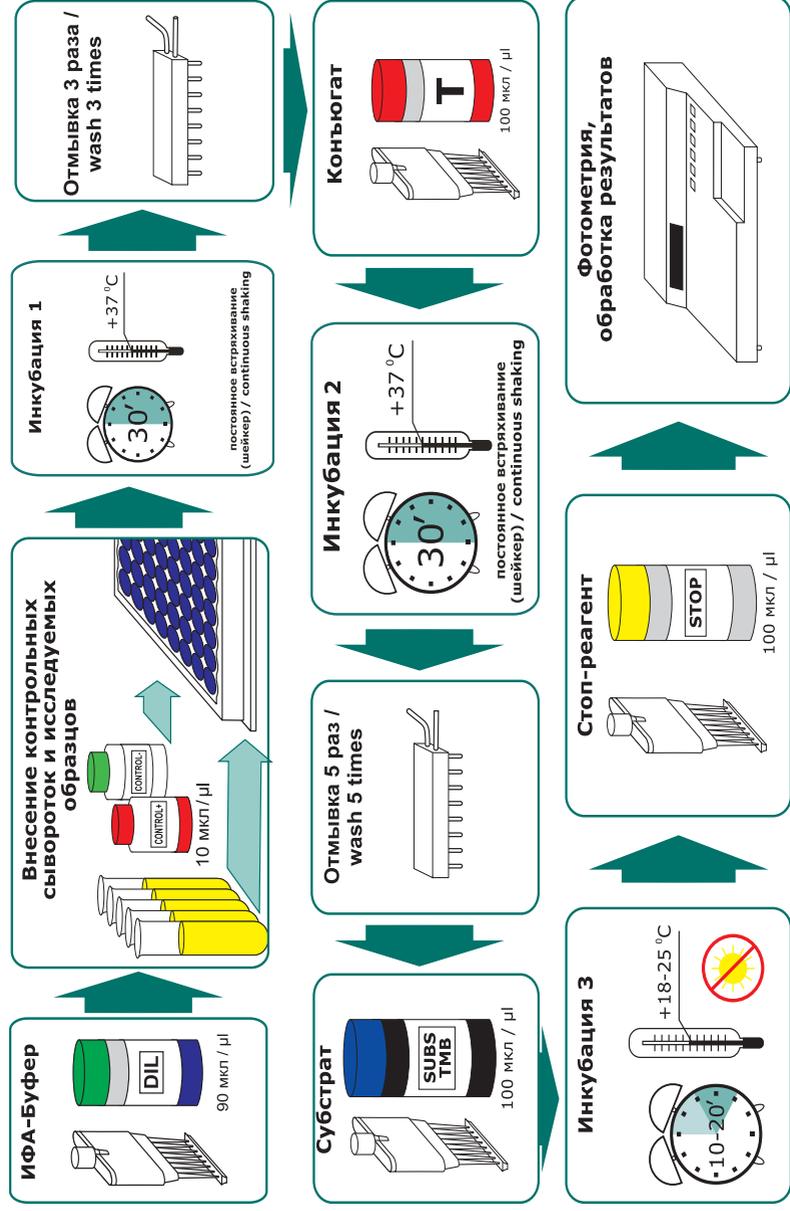
105264 Moscow, Russia

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

e-mail: [redkin@xema-medica.com](mailto:redkin@xema-medica.com)

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

# Схема проведения анализа / Test procedure



**K101M; K102M; K103M**

**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	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 IgM АНТИТЕЛ К АНТИГЕНАМ ЦЫТОМЕГАЛОВИРУС В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «Cytomegalovirus IgM-ИФА»**

### **1. НАЗНАЧЕНИЕ**

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

**1.2.** Цитомегаловирусная инфекция (ЦМВИ, Cytomegalovirus) – вирусное инфекционное заболевание человека, протекающее в субклинической и клинической формах с местными или полиорганными поражениями. Рецидивы болезни обусловлены пожизненной персистенцией вируса в инфицированном организме. В большинстве случаев протекание ЦМВИ бессимптомно, клинические проявления ЦМВИ наблюдаются в условиях иммунной недостаточности (вследствие ВИЧ-инфекции, химиотерапии, иммуносупрессивной терапии). ЦМВИ у беременных может приводить к внутриутробному инфицированию и формированию патологии плода. Поэтому важное значение имеют лабораторные методы диагностики ЦМВИ, особенно перед пересадкой органов, а также на этапе планирования беременности.

**1.3.** При первичном инфицировании цитомегаловирусом человека через несколько недель в крови выявляются специфические к ЦМВ IgM антитела, которые циркулируют в крови на протяжении нескольких недель и медленно снижаются через 4–6 месяцев. Анти-ЦМВ специфические IgG антитела появляются в крови на неделю позже IgM специфических антител. Антитела IgG сохраняются в крови на протяжении всей жизни. Реактивация инфекции вызывает нарастание титра IgG антител, нередко при этом поднимается и титр IgM, но не до такого уровня, как при первичном заражении.

### **2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА**

Определение IgM антител к антигенам Cytomegalovirus 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 ЦМВ pp150 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 Cytomegalovirus в исследуемом образце. Индекс позитивности (ИП, %) IgM антител к антигенам Cytomegalovirus в исследуемых образцах рассчитывается по формуле, приведенной в инструкции.

### 3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

#### 3.1. Специфичность и чувствительность.

Набор реагентов «Cytomegalovirus IgM-ИФА» определяет коммерческую панель сывороток Anti-CMV Mixed Titer Performance Panel PTC202(M) производства Boston Biomedica Company (США) в соответствии с паспортными данными и коррелирует со значениями, полученными на наборе реагентов Abbott EIA CMV-IgM (lot 44423M100). Панель содержит 3 положительных и 8 отрицательных образцов. При исследовании специфичности с использованием 52 сывороток, отрицательных на антитела к ЦМВ 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 Cytomegalovirus в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «Cytomegalovirus IgM-ИФА» не превышает 8.0%.

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

Образец, №	Кол-во повторов	Значение, ОП средняя	CV1, %	CV2, %
1	32	0.504	5.9	6.5
2	32	1.908	3.7	3.5

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

Образец, №	Кол-во повторов	Значение, ОП средняя	CV1, %
1	8	0.54	8.7
2	8	1.98	6.1

## 4. СОСТАВ НАБОРА

Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание	
1	<b>P103MZ</b>	SORB MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2	<b>CN103MZ CP103MZ</b>	CONTROL – CONTROL+	<b>Контрольные сыворотки</b> (отрицательный и положительный контроли) на основе сыворотки крови человека с известным содержанием IgM антител к антигенам Cytomegalovirus, готовы к использованию (0.5 мл и 0.2 мл соответственно)	2	шт.	прозрачная бесцветная жидкость и прозрачная жидкость красного цвета
3	<b>T103MZ</b>	CONJ HRP	<b>Конъюгат</b> , готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная жидкость зеленого цвета
4	<b>S011Z</b>	DIL	<b>ИФА-Буфер</b> , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость синего цвета
5	<b>R055Z</b>	SUBS TMB	<b>Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ)</b> , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
6	<b>S008Z</b>	BUF WASH 26X	<b>Концентрат отмывочного раствора</b> (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26x-кратный (22 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
7	<b>R050Z</b>	STOP	<b>Стоп-реагент</b> , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
8	<b>N003</b>		Бумага для заклеивания планшета	2	шт.	-
9	<b>K103MI</b>		Инструкция по применению Набора реагентов «Cytomegalovirus IgM-ИФА»	1	шт.	-
10	<b>K103MQ</b>		Паспорт контроля качества Набора реагентов «Cytomegalovirus 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).

## 8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

**8.1.** Набор реагентов «Cytomegalovirus 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 контрольных сывороток (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;
- 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;
- 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 забор 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.** Допускается проведение анализа в монопликатах при использовании автоматического или полуавтоматического анализаторов.

**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 4 лунки для контрольных сывороток (Отрицательный контроль 3 лунки, Положительный контроль 1 лунка).
2	<b>Внесите во все лунки планшета по 90 мкл ИФА-Буфера.</b>

продолжение таблицы на стр 7

3	<b>Внесите в соответствующие лунки</b> в дубликатах <b>по 10 мкл контрольных сывороток</b> . В остальные лунки внесите в дубликатах <b>по 10 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови</b> . Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
4	<b>ВНИМАНИЕ!</b> 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. <b>Инкубируйте планшет в течение 30 минут при температуре +37°C и постоянном встряхивании 500-600 об/мин.</b>
6	По окончании инкубации удалите содержимое лунок аспирацией (например, с помощью водоструйного насоса) или декантированием и <b>отмойте лунки 3 раза</b> . При каждой отмывке 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	<b>Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.</b>
8	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и <b>инкубируйте его в течение 30 минут при температуре +37 °C и постоянном встряхивании 500-600 об/мин.</b>
9	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и <b>отмойте лунки 5 раз.</b>
10	<b>Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензида.</b> Внесение раствора субстрата тетраметилбензида в лунки необходимо произвести в течение 2–3 мин. <b>Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °C) в течение 10-20 минут</b> в зависимости от степени развития синего окрашивания.
11	<b>Внесите во все лунки</b> с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензида, <b>по 100 мкл стоп-реактива</b> , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
12	<b>Измерьте величину оптической плотности (ОП)</b> содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования <b>при длине волны 450 нм</b> . Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реактива. Бланк фотометра выставляйте по воздуху.
13	<b>Рассчитайте содержание IgM антител к антигенам Cytomegalovirus в исследуемых образцах.</b> Для этого: 1. Рассчитайте среднее значение ОП Отрицательного контроля: $\text{ОП (CN103MZ)Cp} = (\text{ОП1 (CN103MZ)} + \text{ОП2 (CN103MZ)} + \text{ОП3 (CN103MZ)}) / 3;$ Результаты анализа считать достоверными, если - ОП Положительного контроля не ниже 1 оптических единиц (ОЕ) - ОП Отрицательного контроля не выше 0.15 ОЕ во всех лунках 2. Рассчитайте уровень граничного значения Cut off, для этого к среднему значению ОП Отрицательного контроля прибавьте 0.3 $\text{Cut off} = \text{ОП (CN103MZ)Cp} + 0.3$ 3. Рассчитайте Индекс Позитивности (ИП, %) для каждого исследуемого образца, для этого ОП образца разделите на значение Cut off $\text{ИП} = \text{ОП образца} / \text{Cut off}$

**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	<b>Внесите во все лунки планшета по 90 мкл ИФА-Буфера.</b>
3	<b>Внесите в соответствующие лунки</b> в дубликатах <b>по 10 мкл контрольных сывороток</b> . В остальные лунки внесите в дубликатах <b>по 10 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови</b> . Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
4	<b>ВНИМАНИЕ!</b> 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. <b>Инкубируйте планшет в течение 60 минут при температуре +37 °С.</b>
6	По окончании инкубации удалите содержимое лунок аспирацией (например, с помощью водоструйного насоса) или декантированием и <b>отмойте лунки 3 раза</b> . При каждой отмывке 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	<b>Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.</b>
8	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и <b>инкубируйте планшет в течение 30 минут при температуре +37 °С.</b>
9	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и <b>отмойте лунки 5 раз.</b>
10	<b>Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензи-дина</b> . Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2–3 мин. <b>Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °С) в течение 10-20 минут</b> в зависимости от степени развития синего окрашивания.
11	<b>Внесите во все лунки</b> с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, <b>по 100 мкл стоп-реагента</b> , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
12	<b>Измерьте величину оптической плотности (ОП)</b> содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования <b>при длине волны 450 нм</b> . Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра выставляйте по воздуху.

продолжение таблицы на стр 9

13	<p><b>Рассчитайте содержание IgM антител к антигенам Cytomegalovirus в исследуемых образцах.</b> Для этого:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Рассчитайте среднее значение ОП Отрицательного контроля:  <math display="block">\text{ОП (CN103MZ)}_{\text{Ср}} = (\text{ОП1 (CN103MZ)} + \text{ОП2 (CN103MZ)} + \text{ОП3 (CN103MZ)}) / 3;</math>           Результаты анализа считать достоверными, если           <ul style="list-style-type: none"> <li>- ОП Положительного контроля не ниже 1 оптических единиц (ОЕ)</li> <li>- ОП Отрицательного контроля не выше 0.15 ОЕ во всех лунках</li> </ul> </li> <li>2. Рассчитайте уровень граничного значения Cut off, для этого к среднему значению ОП Отрицательного контроля прибавьте 0.3  <b>Cut off = ОП (CN103MZ)Ср + 0.3</b> </li> <li>3. Рассчитайте Индекс Позитивности (ИП, %) для каждого исследуемого образца, для этого ОП образца разделите на значение Cut off  <b>ИП = ОПобразца / Cut off</b> </li> </ol>
----	--

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

По вопросам, касающимся качества Набора **«Cytomegalovirus IgM-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 QUALITATIVE DETERMINATION OF IGM ANTIBODIES TO CYTOMEGALOVIRUS IN HUMAN SERUM OR PLASMA**

### **1. INTENDED USE**

A solid-phase enzyme immunoassay for the qualitative determination of IgM antibodies to Cytomegalovirus in serum or plasma.

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

Cytomegalovirus (CMV) infection is a human infectious disease which may progress both with and without clinical signs and cause local or multiorgan damage. Due to a life-long persistence of CMV in the infected organism, the disease may have recurrences. Most cases of CMV infection are asymptomatic, clinical signs being evident only in immunocompromised patients (HIV infection, chemotherapy and other immunosuppressive treatment). CMV infection in pregnant women may cause intra-uterine infection of the fetus and birth defects. That is why in vitro diagnostics of CMV infection plays an important role - especially, before organ transplantation and during pregnancy.

In case of a primary infection, first anti-CMV antibodies of IgM isotype are found several weeks after infection. They persist in circulation for several weeks and then, from month 2-3, began to gradually decrease to reach minimal concentration by the month 8. CMV-specific IgG antibodies appear ca. 1 week following appearance of IgM and persist in circulation life-long. Recurrence of the infection induces raise of CMV-specific IgG. Sometimes it is accompanied by elevation of CMV-specific IgM level; however, this level never reaches titers seen during primary infection.

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

This test is based on two-site sandwich enzyme immunoassay principle. Tested specimen is placed into the microwells coated with murine monoclonal antibodies to human IgM. Antibodies from the specimen bind coated murine monoclonal antibodies to IgM on the microwell surface. Unbound material is removed by washing procedure. CMV antigen, labelled with peroxidase enzyme, is then added into the microwells and binds to anti-CMV IgM if present in total IgM fixed. 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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. It may cause skin irritation and burns.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## 5.1. Contents of the Kit

## 5. KIT COMPONENTS

Symbol	Description	Qty	Units	Colour code	Stability of opened/diluted components
1 SORB MTP	Cytomegalovirus IgM EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp.date
2 CONTROL -, CONTROL +	polystyrene microwells coated with CMV antigen pp150  (CONTROL-) dilution of preselected human serum, not containing IgM antibodies to Cytomegalovirus with preservative - 0.01% Bronidox L, 0.01% 2-Methyl-4-isothiazolin-3-one-hydrochloride, colourless; (CONTROL+) dilution of preselected human serum with high content of human IgM antibodies to Cytomegalovirus with preservative - 0.01% Bronidox L, 0.01 % 2-Methyl-4-isothiazolin-3-one-hydrochloride; also contains red dye	2	pcs	colour-less ; red	2 months
3 CONJ HRP	aqueous solution of murine monoclonal to IgM 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	green	until exp.date
4 DIL	Saline; contains blue dye	1	pcs	blue	until exp.date
5 SUBS TMB	ready-to-use single-component tetramethylbenzidine (TMB) solution	1	pcs	colour-less	until exp.date
6 BUF WASH 26X	aqueous solution of sodium chloride and detergent (Tween 20), contains proClin300 as a preservative	1	pcs	colour-less	Concentrate - until exp.date Diluted washing solution - 45 days at 2-8 °C or 15 days at RT
7 STOP	5.0% vol/vol solution of sulphuric acid	1	pcs	colour-less	until exp.date
8 N003	Plate sealing tape	2	pcs		N/A
9 K103MI	Instruction Cytomegalovirus IgM EIA	1	pcs		N/A
10 K103MQ	QC data sheet Cytomegalovirus 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.

(Continuation see page 14)

**K103MI**

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 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 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.

## 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  $\geq 1$  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

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-) + 0.3.
3. Calculate Positivity Index (PI) for each sample:  $PI = \text{mean OD450}(\text{sample}) / \text{Cut-off}$

## 10. EXPECTED VALUES AND ASSAY LIMITATIONS

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

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

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

Therapeutic consequences should not be based on results of IVD methods alone – all available clinical and laboratory findings should be used by a physician to elaborate therapeutic measures. NOTE: the patients that have received murine monoclonal antibodies for radioimaging or immunotherapy develop high titered anti-mouse antibodies (HAMA). The presence of these antibodies may cause false results in the present assay. Sera from HAMA positive patients should be treated with depleting adsorbents before assaying.

## 11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

### 11.1. Analytical specificity

Specificity of the test was evaluated on 55 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 Cytomegalovirus IgM EIA was evaluated using panel of naturally occurring serum and plasma specimens from Boston Biomedica, Inc (Anti-CMV Mixed Titer Performance Panel PTC202(M)).

### 11.3. Precision

Intra-assay precision is shown below:

Serum, no	duplicated	value, K	CV1, %	CV2, %
1	32	0.504	5.9	6.5
2	32	1.908	3.7	3.5

Inter-assay precision is shown below:

Serum, no	duplicated	value, K	CV, %
1	8	0.54	8.7
2	8	1.98	6.1

## 12. LITERATURE

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

Символ / Symbol	Значение символа / Symbolize
	Производитель / Manufacturer
	Дата производства / Date of manufacture
	Номер по каталогу / Catalogue number
	Номер серии / Batch code
 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 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





**EKVITESTLAB LLC**

Velyka Vasylkivska St. 114  
03150 Kyiv, Ukraine  
Tel. 0-800-31-89-87  
e-mail: [info@equitest.com.ua](mailto:info@equitest.com.ua)  
[www.equitest.com.ua](http://www.equitest.com.ua)

## **STATEMENT**

We, EKVITESTLAB LLC, having a registered office at Velyka Vasylkivska street 114, Kyiv, 03150, Ukraine assign SRL SANMEDICO having a registered office at A. Corobceanu street 7A, apt. 9, Chişinău MD-2012, Moldova, as authorized representative in correspondence with the conditions of directive 98/79/EEC.

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

Date: 03 January 2023

Signature:   
Director, Anna Yurchuk

# E.A.R.-CERTIFICATE

(ART 10.3 of the Directive 98/79/EC on In Vitro Diagnostic)

REF. NO. : RP 2901-2021

ORDER NO. : DK 2491-2021

DATE: 11/01/2022

**MANUFACTURER:**

EKVITESTLAB LLC  
Velyka Vasytkivska street, 114  
03150, Kyiv, Ukraine

**FACILITIES:**

EKVITESTLAB LLC  
Peremohy Avenue, 60/2  
03057, Kyiv, Ukraine

**PRODUCT  
CATEGORIES:**

Please See Annex A - List of Devices (13 Devices, 2 Pages)

**MODELS:**

Please See Annex A - List of Devices (13 Devices, 2 Pages)

The European Authorized Representative Center Obelis s.a. declares that the aforementioned manufacturer has fulfilled the essential requirement of appointing a European Authorized Representative in accordance with article 10.3 of the Directive 98/79/EC and to the terms and conditions set out in the agreement entered into force on 1st May 2021.\*



G. ELKAYAM  
C.E.O.

Obelis s.a. - O.E.A.R.C.

Registered Address :  
Bld Général Wahis 53  
1030 Bruxelles  
Tél. +32 2 732 59 54 - Fax +32 2 732 60 03

Mr. G. Elkayam CEO

Obelis sa



Obelis European Authorized Representative Center is a member of the European Association of Authorized Representatives (E.A.A.R.), ISO 9001 : 2015 and ISO 13485 : 2016 certified in accordance to the profession of a European Authorized Representative.

\* This is not a CE mark and is only provided as a template for informational purposes.

\*This certificate is not a confirmation of product notification nor an approval to place products on the market.  
\*\*This certificate will become void automatically upon termination of the EAR agreement.



## ANNEX to IVDD EAR Certificate

Order No.: DK 2491-2021

Reference No.: RP 2901-2021

**Manufacturer: Ekvitestlab LLC**

**Country: Ukraine**

#	EMDN	Generic device name (including BASIC UDI)	Commercial Name of device	Intended use	Class
1	52133	EQUI Ascaris lumbricoides IgG	EI-601	ELISA kit for the qualitative detection of IgG antibodies to Ascaris lumbricoides	Class I (Others)
2	63005	EQUI Opisthorchis felineus IgG	EI-602	ELISA kit for the qualitative detection of IgG antibodies to Opisthorchis felineus	Class I (Others)
3	52418	EQUI Toxocara canis IgG	EI-603	ELISA kit for the qualitative detection of IgG antibodies to Toxocara canis	Class I (Others)
4	52464	EQUI anti-Trichinella spiralis	EI-605	ELISA kit for the qualitative detection of antibodies to Trichinella spiralis	Class I (Others)
5	52464	EQUI anti-Trichinella spiralis	EI-605	ELISA kit for the qualitative detection of antibodies to Trichinella spiralis	Class I (Others)
6	62915	EQUI anti-Lamblia	EI-606	ELISA kit for the qualitative detection of antibodies to Giardia lamblia (intestinalis)	Class I (Others)
7	48281	EQUI HAV IgM	EI-031	ELISA kit for the qualitative detection of IgM antibodies to hepatitis A virus	Class I (Others)
8	51021	EQUI anti-Helicobacter	EI-501	ELISA kit for the qualitative detection of total antibodies to Helicobacter pylori	Class I (Others)
9	51008	EQUI Helicobacter IgG	EI-502	ELISA kit for the qualitative and semiquantitative detection of IgG antibodies to CagA protein of Helicobacter pylori	Class I (Others)
10	51012	EQUI Helicobacter	EI-504	ELISA kit for the qualitative detection of IgM	Class I (Others)

		IgM		antibodies to CagA protein of <i>Helicobacter pylori</i>	
11	64800	EQUI SARS-CoV-2 IgM swift	EI-165	ELISA kit for the qualitative detection of IgM antibodies to nucleoprotein and spike antigens of SARS-CoV-2 virus	Class I (Others)
12	64830	EQUI SARS-CoV-2 IgA swift	EI-166	ELISA kit for the qualitative detection of IgA antibodies to nucleoprotein and spike antigens of SARS-CoV-2 virus	Class I (Others)
13	64824	EQUI SARS-CoV-2 IgG swift	EI-167	ELISA kit for the qualitative detection of IgG antibodies to nucleoprotein and spike antigens of SARS-CoV-2 virus	Class I (Others)

**Date:** 11 January 2022

**CEO Of Obelis**

**Gideon Elkayam**

d (Jan 14, 2022 12:31 GMT+3)

G. ELKAYAM  
C.E.O.  
Obelis s.a. - O.E.A.R.C.  
Registered Address :  
Bld Général Wahis 53  
1030 Bruxelles  
Tél. +32 2 732 59 54 - Fax +32 2 732 60 03

# CERTIFICATE

MANAGEMENT SYSTEM CERTIFICATION BODY  
«CONFORMITY ASSESSMENT BODY «PROMSTANDART», LLC  
certifies that the enterprise

**EKVITESTLAB**  
Limited Liability Company

registration code 38745936

legal address:

Ukraine, 03150, Kyiv, 114 Velyka Vasylkivska street,

manufacturer's address:

Ukraine, 04212, Kyiv, 60/2 Peremohy Avenue



has established and applies quality management system for  
**development, production, storage and sale**  
**of ELISA kits for in vitro diagnostic**

Audit, № report 2020/015-20.2.1  
confirmed that the requirements

**ISO 13485:2016**

**«Medical devices — Quality management systems —  
Requirements for regulatory purposes»**

are performed.

The control of conformity of the certified quality management system to the requirements of the specified standard is carried out by means of supervisory audit, the periodicity and procedures of which are regulated by the program.

Certificate registration number № UA.QMS.00014-21  
Registered 06 April 2021  
Valid until 05 April 2024



80156  
DSTU EN ISO/IEC 17021-1

Director of Certification Body  
«CAB «PROMSTANDART», LLC



Sergiy Dubrovskiy 210107

The validity of certificate can be verified by telephone: (056) 742-82-39  
or on website of «CAB «PROMSTANDART», LLC: prom-standart.com.ua

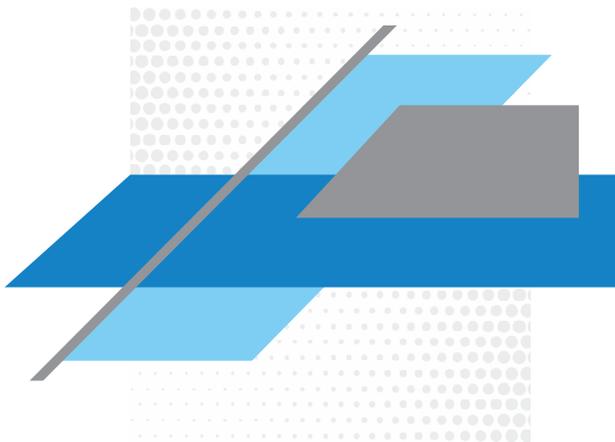
ПРОМСТАНДАРТ PROMSTANDART PROMSTANDART PROMSTANDART PROMSTANDART PROMSTANDART PROMSTANDART PROMSTANDART



# anti-HBscore

**ИФА-набор для качественного определения  
суммарных антител к коровому антигену вируса  
гепатита В**

Инструкция по применению



IVD

REF  
EI-014

$\Sigma$  96  
анализов

  
UA.TR.061



# EQUI anti-HBcore

ИФА-набор для качественного определения суммарных антител к коровому антигену вируса гепатита В

## 1. НАЗНАЧЕНИЕ

ИФА-набор («EQUI anti-HBcore») предназначен для качественного определения суммарных антител к коровому антигену вируса гепатита В (ВГВ) в сыворотке или плазме крови человека методом иммуноферментного анализа (ИФА) с целью диагностики гепатита В. Процедура анализа рассчитана как для ручной постановки с автоматическими пипетками и стандартным оборудованием, так и для автоматического иммуноферментного анализатора «открытого» типа.

**Целевая группа:** доноры; лица-потребители инъекционных наркотиков; реципиенты крови или органов; беременные женщины; дети, рожденные от инфицированных матерей; лица, инфицированные ВИЧ; пациенты с симптомами заболеваний печени.

**Применение:** ИФА-набор применяется в клинических диагностических лабораториях, в станциях переливания крови, а также в других учреждениях, работающих в области *in vitro* диагностики.

## 2. 2. КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Одним из самых распространенных заболеваний печени является гепатит В. Его этиологический агент – вирус гепатита В (ВГВ). ВГВ относится к семейству *Hepadnaviridae* и содержит двухцепочечную ДНК. Инфекционной формой вируса являются так называемые «частицы Дейна» диаметром 42-49 нм, в белковом составе которых основными являются поверхностный антиген (HBsAg) и коревой антиген (HBcAg).

Клиническая картина гепатита В не позволяет диагностировать его длительное время и отличить от других вирусных гепатитов. Поэтому для скрининговых исследований и подтверждения диагноза важную роль играет лабораторная диагностика, особенно выявление антигенов ВГВ и антител к ним методом ИФА. Первым и основным маркером гепатита В является HBsAg, который обнаруживается в крови через 3-5 недель после инфицирования. Примерно в то же время в крови можно обнаружить ДНК ВГВ и HBeAg, который считается маркером активной репликации вируса и («заразности») крови. ВОЗ рекомендует проводить проверку всей донорской крови на HBsAg, чтобы предотвратить трансмиссивной передачи ВГВ. Через 2-3 недели после появления HBsAg появляются антитела IgM к коровому антигену HBcAg, а вскоре после них – анти-HBcore IgG, которые быстро достигают высоких уровней. Выздоровление от острого гепатита В сопровождается выводом вируса из организма, перестают проявляться HBsAg и анти- HBc IgM, появляются антитела к HBeAg. Антитела IgG к коровому антигену персистируют в течение всей жизни и является маркером имеющегося или перенесенного гепатита В, их уровень в крови снижается медленно. Через несколько месяцев после исчезновения из крови HBsAg начинают проявляться анти-HBs антитела, которые являются свидетельством перенесенного гепатита В и наличия иммунитета. В период «серологического окна» между выводом HBsAg и появлением анти-HBs антител маркером инфекции ВГВ является суммарные антитела к коровому антигену, также могут проявляться анти-HBe антитела.

Если после острой фазы не происходит элиминация вируса и не появляются анти-HBs антитела, развивается хронический гепатит В. HBsAg продолжает определяться более 6 месяцев, его количество в крови может значительно колебаться. На репликативной стадии хронического гепатита В оказывается ДНК вируса и HBeAg, антител к HBeAg нет.

ВОЗ рекомендует диагностировать острый гепатит В по наличию HBsAg и антител IgM к HBcAg, а хронический - за стойким присутствием HBsAg в течение не менее шести месяцев.

Главным средством профилактики гепатита В является вакцинация, которая рекомендована в первую очередь новорожденным. После вакцинации организмом вырабатываются анти-HBs антитела и формируется иммунитет у лиц, которые не

сталкивались с вирусом гепатита В. Наличие анти-НВs антител на уровне более 10 IU/l (МО/л) принято считать нижней границей протективного иммунитета вследствие вакцинации или перенесенного гепатита В.

### 3. ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Выявление специфических к коровому антигену вируса гепатита В антител в ИФА-наборе «EQUI anti-HVcore» базируется на принципе «непрямого» твердофазного ИФА в двухэтапной инкубации. В лунках планшета засорбирован рекомбинантный HVcore антиген вируса гепатита В. Во время первого этапа инкубации исследуемых образцов в лунках планшета ИФА специфичные к HVcore антигена антитела, если они присутствуют в образцах, связываются с антигенами на твердой фазе. Лунки отмываются для удаления несвязанных антител, остаются только специфические комплексы антиген-антитело. После этого добавляется смесь конъюгатов антивидовых (анти-IgG и анти-IgM) моноклональных антител с пероксидазой хрена, которые связываются с иммунными комплексами на твердой фазе. Несвязанные компоненты удаляются во время отмывания. Комплексы антиген-антитело определяются путем добавления раствора хромогена 3,3',5,5'-тетраметилбензидина (ТМБ) с перекисью водорода. После 30-ти минутной инкубации реакция останавливается добавлением стоп-раствора. Оптическая плотность (ОП) в лунках определяется на спектрофотометре при длине волны 450/620-695 nm. Интенсивность желтой окраски пропорциональна количеству антител в образце.

## 4. МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

### 4.1. Состав набора

<b>STRIPS</b>	1 x 96 лунок	<b>Планшет ИФА</b> В каждой лунке планшета засорбирован рекомбинантный HVcore антиген вируса гепатита В. Лунки можно отделять. После первого вскрытия храните неиспользованные стрипы в упаковке при температуре 2-8°C не больше 6 месяцев
<b>CONTROL +</b>	1 x 0,35 ml	<b>Позитивный контроль</b> Раствор иммуноглобулинов человека, специфичных к HVcore антигена, с консервантом (розовый). Хранить при температуре 2-8°C
<b>CONTROL -</b>	1 x 1,2 ml	<b>Негативный контроль</b> Отрицательная сыворотка крови человека с консервантом (желтый). Хранить при температуре 2-8°C
<b>DIL SAMPLE</b>	1 x 11 ml	<b>Раствор для разведения сывороток</b> Буферный раствор с экстрактом молока, детергентом и консервантом (коричневый). Хранить при температуре 2-8°C
<b>SOLN CONJ</b>	1 x 13 ml	<b>Раствор конъюгата (готовый к использованию)</b> Буферный раствор моноклональных антител к IgG и IgM человека, конъюгированных с пероксидазой хрена, со стабилизаторами и консервантом (зеленый). Хранить при температуре 2-8°C
<b>SOLN TMB</b>	1 x 13 ml	<b>Раствор ТМБ (готовый к использованию)</b> Раствор ТМБ, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , стабилизатор, консервант (бесцветный). Хранить при температуре 2-8°C

### Раствор для промывки TWEEN (20x концентрат)

TWEEN|WASH|20x 1 x 50 ml

20-ти кратный концентрат фосфатного буфера с Твином-20 (бесцветный). Развести раствор для промывки TWEEN (20x) 1:20 дистиллированной или деионизированной водой (например, 5 ml концентрата + 95 ml воды для 8 лунок) перед использованием. Разведенный раствор хранить при температуре 2-8°C не больше 7 суток

SOLN|STOP 1 x 13 ml

### Стоп-раствор (готовый к использованию)

Раствор 0,5 mol H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (бесцветный). Хранить при температуре 2-8°C

В состав набора также входят: клейкая пленка (2 шт.), схема внесения образцов (1 шт.), лист контрольных испытаний и инструкция по применению.

## 4.2. Дополнительные реактивы, материалы и оборудование

Автоматические пипетки переменного объема на 10–1000 µl и наконечники к ним, мерная лабораторная посуда (10–1000 ml), деионизированная или дистиллированная вода, термостат на 37°C, автоматический или полуавтоматический промыватель планшетов (вошер), спектрофотометр (ридер) для микропланшетов на 450/620-695 nm, соответствующие контейнеры для отходов потенциально зараженного материала, таймер, фильтровальная бумага, одноразовые неопудренные перчатки, дезинфицирующие средства.

## 5. 5. ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ И ТЕХНИКА БЕЗОПАСНОСТИ

### 5.1. Предостережения

Перед проведением анализа внимательно ознакомьтесь с инструкцией по применению. Достоверность результата зависит от четкого следования процедуре анализа.

- не используйте компоненты ИФА-набора после окончания срока годности;
- не используйте во время анализа и не смешивайте компоненты разных серий, компоненты из наборов разных нозологий или реагенты других производителей в сочетании с набором «EQUI anti-HVcore»;
- не замораживайте ИФА-набор или его компоненты;
- после использования реагента закрывайте каждый флакон своей крышкой;
- во время промывания контролируйте наполнение и полную аспирацию раствора из лунок;
- каждый раз используйте новый наконечник пипетки для внесения образцов или реагентов;
- избегайте попадания прямых солнечных лучей на реагенты ИФА-набора;
- SOLN|TMB должен быть бесцветным перед использованием. Если раствор окрашен в синий или желтый цвет, его нельзя использовать. Избегайте контакта SOLN|TMB с металлами или ионами металлов. Для работы используйте только чистую, тщательно выполосканную дистиллированной водой посуду;
- не используйте реагенты, цвет которых не соответствует указанному в пункте 4.1;
- ни в коем случае не используйте одну и ту же посуду для SOLN|CONJ и SOLN|TMB
- не проводите визуальный учет результатов анализа (без использования ридера);
- дополнительное оборудование, находящееся в непосредственном контакте с биологическим материалом или компонентами набора, считается загрязненным и нуждается в очищении и обеззараживании;
- ИФА-набор предназначен для 96 анализов. Компоненты после использования и остатки неиспользованных компонентов должны быть утилизированы.

## 5.2. Техника безопасности

- все реагенты набора предназначены только для лабораторного профессионального применения в *in vitro* диагностике и могут использоваться только квалифицированным персоналом;
- постановку анализа проводить только в одноразовых неопудренных перчатках и защитных очках;
- не допускается принимать пищу, пить, курить или пользоваться косметикой в комнате проведения теста;
- не пипетировать растворы ртом;
- контроли ИФА-набора «EQUI anti-HBscore» протестированы и признаны отрицательными на HBsAg и антитела к ВИЧ1/2, ВГС, *Treponema pallidum*, однако работать с контролями и исследуемым материалом необходимо как с потенциально опасным инфекционным материалом;
- некоторые компоненты набора содержат низкие концентрации вредных веществ и могут спровоцировать раздражение кожи и слизистых оболочек. При попадании [SOLN|TMB], [SOLN|STOP] и [SOLN|CONJ] на слизистые оболочки или кожу необходимо немедленно промыть пораженное место большим количеством воды;
- в случае разбрызгивания растворов, не содержащих кислоту, например, сывороток, обработать поверхность дезинфицирующим средством, а затем насухо вытереть фильтровальной бумагой. В ином случае кислоту необходимо сначала нейтрализовать раствором бикарбоната натрия, а затем вытереть поверхность, как описано выше.

## 5.3. Инактивация и утилизация отходов

- жидкие отходы необходимо инактивировать, например, раствором перекиси водорода в конечной концентрации 6% в течение 3 часов при комнатной температуре или гипохлоритом натрия в конечной концентрации 5% в течение 30 минут или другими разрешенными дезинфицирующими средствами;
- твердые отходы следует инактивировать путем автоклавирования при температуре стерилизации не меньше 132°C;
- не автоклавируйте растворы, содержащие азид натрия или гипохлорит натрия;
- утилизацию инактивированных отходов проводить в соответствии с действующим национальным законодательством.

## 6. ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВКА

ИФА-набор стабилен в течение срока годности, указанного на этикетке, если его хранить при температуре 2-8°C. Транспортировать набор при температуре 2-8°C. Допускается одноразовая транспортировка при температуре не выше 23°C в течение двух суток.

## 7. РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ОТБОРУ, ТРАНСПОРТИРОВКЕ И ХРАНЕНИЮ ОБРАЗЦОВ

Кровь необходимо отбирать из вены в стерильную пробирку. Пробирка должна быть промаркирована с указанием идентификационных данных пациента и даты отбора образца. Цельную кровь до отделения сыворотки можно хранить до 24 часов при температуре 2-8°C, не допуская замораживания.

Сыворотку или плазму крови можно хранить при температуре 2-8°C не более 3 суток. Допускается более продолжительное хранение замороженной сыворотки при температуре -20°C или -70°C. Замороженные образцы перед использованием следует разморозить и выдержать при комнатной температуре в течение 30 минут. После размораживания образцы следует перемешать для достижения однородности. Избегать повторного замораживания-оттаивания исследуемых образцов. В случае помутнения сыворотки (или плазмы) освобождаются от нерастворенных включений центрифугированием при 3000 об/мин в течение 10-15 минут. Не следует использовать

образцы сывороток с выраженной липидемией, гемолизом, а также бактериальным проростом.

Образцы сывороток транспортировать в термоизоляционных контейнерах. Для этого закрытые промаркированные пробирки необходимо поместить в полиэтиленовый пакет, плотно запечатать и положить в центре термоконтнера. Замороженные хладагенты положить на дно вдоль боковых стенок термоконтнера и накрыть ими образцы сывороток.

## 8. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

*Примечание: Перед использованием выдержите все компоненты ИФА-набора при комнатной температуре 18-25°C в течение 30 минут!*

### 8.1. Подготовка планшета ИФА

Для предупреждения конденсации воды в лунках открывайте **STRIPS** только после выдерживания 30 минут при комнатной температуре. Раскройте вакуумную упаковку, отделите необходимое количество лунок, а остальное сразу же тщательно упакуйте с влагопоглотителем и храните плотно закрытыми на замок zip-lock при температуре 2-8°C. Хранение упакованного таким образом планшета обеспечивает его стабильность в течение 6 месяцев.

### 8.2. Приготовление раствора для промывания

Для приготовления раствора для промывания разведите **TWEEN WASH 20x** 1:20 (1+19) дистиллированной или деионизированной водой, потом перемешайте. Например, 5 ml концентрата + 95 ml воды, чего достаточно для 8 лунок. При наличии кристаллов в концентрате раствора для промывания прогрейте флакон при температуре 37°C до полного растворения кристаллов (15–20 минут). Разведенный раствор можно хранить при температуре 2-8°C не более 7 суток.

## 9. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

- 9.1. Подготовьте необходимое количество лунок для анализа (четыре лунки для контролей и необходимое количество для исследуемых образцов), вставьте их в рамку планшета ИФА. Лунки с контролями обязательно включайте в каждую постановку анализа.
- 9.2. Заполните схему внесения образцов.
- 9.3. Приготовьте раствор для промывания в соответствии с пунктом 8.2
- 9.4. Внесите во все лунки планшета по 80 µl **DIL SAMPLE**.
- 9.5. Внесите в лунки по 20 µl контролей и исследуемых образцов:  
**CONTROL +** – в лунку A1,  
**CONTROL -** – в лунки B1, C1, D1,  
в остальные лунки – исследуемые образцы.  
Во время внесения происходит изменение цвета раствора с коричневого на синий. Осторожно пипетируйте смесь в лунках, не допуская пенообразования.
- 9.6. Заклейте стрипы клейкой пленкой и инкубируйте в течение 30 минут при температуре 37°C.
- 9.7. По окончании инкубации аккуратно снимите клейкую пленку и промойте лунки пять раз с использованием автоматического промывателя или 8-канальной пипетки следующим образом:
  - удалите содержимое лунок в контейнер для жидких отходов;
  - наполните лунки стрипов не менее чем по 300 µl раствором для промывания, оставьте не менее, чем на 30 секунд;
  - аспирируйте раствор из лунок. Остаточный объем раствора после каждого этапа аспирации должен составлять не больше 5 µl;
  - повторите процедуру промывания еще четыре раза;

– после последней аспирации избавьтесь от лишней влаги, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге.

- 9.8. Внесите в лунки по 100  $\mu\text{l}$  [SOLN|CONJ]. Стрипы накройте новой клейкой плёнкой и инкубируйте в течение 30 минут при температуре 37°C.
- 9.9. По окончании инкубации аккуратно снимите клейкую пленку и промойте лунки пять раз, как описано в пункте 9.7.
- 9.10. Внесите в лунки по 100  $\mu\text{l}$  [SOLN|TMB], не касаясь дна и стенок лунок планшета.
- 9.11. Инкубируйте стрипы в течение 30 минут в темном месте при комнатной температуре 18-25°C. Не используйте клейкую пленку на данном этапе.
- 9.12. Внесите в лунки стрипов по 100  $\mu\text{l}$  [SOLN|STOP] для остановки ферментативной реакции, придерживаясь той же последовательности, что и при внесении [SOLN|TMB]. Во время внесения происходит изменение цвета раствора с голубого на желтый, в лунках с прозрачным раствором незначительно меняется оттенок.
- 9.13. Измерьте на ридере ОП в каждой лунке при длине волны 450/620-695 nm в течение 5 минут после остановки реакции. До проведения измерения убедитесь в чистоте внешней поверхности дна лунок и отсутствии пугырьков.

Учет результатов анализа можно проводить в одноволновом режиме при длине волны 450 nm, в этом случае оставьте лунку для установления бланка (в такую лунку внесите только [SOLN|TMB] и [SOLN|STOP]).

## 10. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ И ИХ ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

### 10.1. Учет результатов анализа

Рассчитайте среднее значение ОП негативного контроля ( $\bar{Nc}$ ) и уровень граничного значения (Cut off - CO).

$$\bar{Nc} = (Nc1 + Nc2 + Nc3)/3; \quad CO = \bar{Nc} + 0,2$$

### 10.2. Контроль достоверности результатов анализа

Данные теста считаются достоверными, если они соответствуют следующим требованиям:

[CONTROL|+] ОП  $\geq 1,5$

[CONTROL|-] ОП  $\leq 0,100$

[CONTROL|-]  $\bar{Nc} \times 0,5 \leq Ncn \leq \bar{Nc} \times 2,0$  где  $Ncn$  – ОП каждого повтора  $Nc$

Если одно из значений ОП негативного контроля выходит за пределы указанного выше интервала, его отбрасывают и рассчитывают  $\bar{Nc}$  по остальным значениям ОП негативного контроля. Если более одного значения ОП негативного контроля не отвечает указанным требованиям, то тест считается некорректным и требует повторного проведения.

### 10.3. Интерпретация результатов

$OD_{sample} \geq CO$  ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ\*

$OD_{sample} < CO$  ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ, где  $OD_{sample}$  - ОП образца

\* Первоначально положительные образцы должны быть исследованы повторно в двух лунках ИФА-набора «EQUI anti-HVcore». После повторного тестирования положительными считаются образцы, оптическая плотность которых хотя бы в одном из повторов превышает пороговое значение. Если при повторном тестировании

оптическая плотность образца в обоих повторах ниже предельного значения, такой образец считать отрицательным.

Результаты для образцов, ОП которых равна предельному значению или находится в пределах  $\pm 10\%$ , следует интерпретировать осторожно. Такие образцы должны быть исследованы повторно в двух лунках набора «EQUI anti-HVcore». Если при повторном тестировании  $OD_{\text{sample}}$  снова находится в пределах  $\pm 10\%$  от предельного значения, следует провести отбор и анализ нового образца.

## 11. ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

### 11.1. Аналитические характеристики

#### Прецизионность

Воспроизводимость результатов в пределах одной постановки анализа (*Intra assay repeatability*)

Коэффициент вариации (CV) для двух сывороток с различной концентрацией anti-HVcore антител оценивали в 32 повторах на одной серии ИФА-наборов.

№ сыворотки	ОП <sub>ср</sub>	CV, %
38/25	1,066	4,7
67/10	1,311	6,1

Воспроизводимость результатов между разными постановками анализа (*Inter assay reproducibility*)

Коэффициент вариации (CV) для двух сывороток с различной концентрацией anti-HVcore антител оценивали в течение 4 дней в 4 постановках анализа, по 8 повторов в каждом анализе.

№ сыворотки	ОП <sub>ср</sub>	CV, %
38/25	1,094	6,8
67/10	1,293	7,0

#### Аналитическая специфичность

На результат анализа не влияет присутствие в образце билирубина в концентрации до 0,21 mg/ml (361,8  $\mu\text{mol/l}$ ), гемоглобина в концентрации до 10 mg/ml и триглицеридов в концентрации до 10 mg/ml (11,3 mmol/l).

### 11.2. Диагностические характеристики

Для определения клинической чувствительности ИФА-наборов «EQUI anti-HVcore» использовали 57 образцов сывороток от пациентов, больных гепатитом В. По результатам анализа клиническая чувствительность ИФА-набора «EQUI anti-HVcore» составляет 100%.

Исследование характеристик метода по сравнению с аналогичным коммерческим ИФА-набором проводили на целевой группе беременных женщин и выборке доноров (всего 414 образцов). Для этих образцов относительная специфичность наборов «EQUI anti-HVcore» составляла 99,5%, процент совпадения - 99,0%.

## 12. ОГРАНИЧЕНИЯ АНАЛИЗА

Интерпретация результатов должна проводиться с учетом клинических проявлений и данных комплекса лабораторных исследований. Для диагностики острого, хронического или перенесенного гепатита В, оценки эффективности терапии рекомендуется дополнительно провести исследования образца на другие маркеры ВГВ, выявления ДНК и оценку биохимических показателей крови пациента.

Положительный результат в ИФА-наборе «EQUI anti-HVcore» является свидетельством наличия у пациента антител к корового антигена вируса гепатита В. Анти-HVcore антитела не являются показателем протективного иммунитета. Выявление антител к HVcore антигена у пациента не является доказательством наличия ВГВ в организме, эти

антитела обнаруживаются при остром, хроническом и перенесенном в анамнезе гепатите В.

Отрицательный результат в ИФА-наборе «EQUI anti-HBcore» не исключает инфицирование пациента вирусом гепатита В, особенно на ранних стадиях ВГВ инфекции.

Для корректной диагностики гепатита В рекомендуется провести исследование образца на наличие HBsAg и антител к HBsAg (например, в ИФА-наборах «EQUI HBsAg» и «EQUI anti-HBs»), соответственно).

### **13. ТРУДНОСТИ, КОТОРЫЕ МОГУТ ВОЗНИКНУТЬ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ИФА**

**Высокий фон в лунках всего планшета может возникнуть из-за:**

- загрязненного промывателя;
- низкого качества или загрязнения воды;
- использования плохо помытой посуды;
- использования дезинфицирующих средств, содержащих хлор;
- использования загрязненных наконечников;
- увеличения времени инкубации или изменения температурного режима.

**Высокий фон в отдельных рядах может быть связан с:**

- повторным внесением розчину ТМБ;
- загрязнением конуса автоматической пипетки раствором конъюгата;
- загрязнением одного из каналов промывателя.

**Полученное значение ОП положительного контроля ниже установленной границы, если:**

- неправильно приготовлен или не внесен один из реагентов (раствор конъюгата или раствор ТМБ);
- сокращено время инкубации на одном из этапов.

**Интенсивность окрашивания лунок не соответствует полученной оптической плотности.** Это может свидетельствовать о смещенном оптическом луче.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Mahoney F.J. Update on Diagnosis, Management, and Prevention of Hepatitis B Virus Infection // *Clinical Microbiology Review* – 1999. – Vol.12, N 2 - P.351–366.
2. Maddrey W.C. Hepatitis B - an important public health issue // *Clin. Lab.* - 2001. - Vol. 47, N 1-2. - P.51-55.
3. Spradling P.R., Xing J., Williams R. et al. Immunity to Hepatitis B Virus (HBV) Infection Two Decades after Implementation of Universal Infant HBV Vaccination: Association of Detectable Residual Antibodies and Response to a Single HBV Challenge Dose // *Clinical and Vaccine Immunology.* - 2013. - Vol.20, N 4. - P.559–561.
4. Walsh K., Alexander G.J.M. Update on chronic viral hepatitis // *Postgraduate Medical Journal* - 2001. - V. 77. - P. 498-505.
5. Возіанова Ж.І. Вірусний гепатит В // *Інфекційні та паразитарні хвороби: В 3 т. – К.: «Здоров'я», 2001. т.1. – С.601-614.*
6. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Systematic review on hepatitis B and C prevalence in the EU/EEA. Stockholm: 2016.
7. CDC Hepatitis B Information // <https://www.cdc.gov/hepatitis/hbv/index.htm>.
8. World Health Organization (WHO). WHO guidelines on hepatitis B and C testing. Geneva: World Health Organization; 2017 // <http://www.who.int/hepatitis/publications/guidelines-hepatitis-c-b-testing/en/>.
9. Regulation (EU) 2017/746 of the European Parliament and of the Council of 5 April 2017 on in vitro diagnostic medical devices and repealing Directive 98/79/EC and Commission Decision 2010/227/EU.
10. Закон України «Про відходи» // *Відомості Верховної Ради України.* - 1998. - №36-37.
11. Наказ МОЗ України №325 від 08.06.2015 «Про затвердження Державних санітарно-протиепідемічних правил і норм щодо поводження з медичними відходами».
12. Постанова КМУ від 02 жовтня 2013р. №754 «Про затвердження технічного регламенту щодо медичних виробів для діагностики in vitro».
13. Hanna Tolonen, Kari Kuulasmaa, Tiina Laatikainen, Hermann Wolf and the European Health Risk Monitoring Project. Recommendation for indicators, international collaboration, protocol and manual of operations for chronic disease risk factor surveys Part 4.Storage and transfer of serum/plasma samples// *Finnish National Public Health Institute 2002*// [https://thl.fi/publications/ehrm/product2/part\\_iii4.htm](https://thl.fi/publications/ehrm/product2/part_iii4.htm)
14. Surveillance Guidelines for Measles, Rubella and Congenital Rubella Syndrome in the WHO European Region. Annex 3.Collection, storage and shipment of specimens for laboratory diagnosis and interpretation of results//Geneva: World Health Organization; 2012 Dec.



Производитель



Медицинское изделие для диагностики *in vitro*



Номер по каталогу



Дата изготовления



Использовать до



Код партии



Температурное ограничение



Содержит достаточно для (n-) испытаний



Предостережение, ознакомьтесь с сопроводительными документами



Ознакомление с инструкцией по применению



Беречь от прямых солнечных лучей



Знак соответствия техническим регламентам

Редакция 7 от 10.12.2021г.

*С вопросами и пожеланиями по работе набора обращайтесь к производителю:*



ООО «Эквитестлаб»

ул. Большая Васильковская 114, г. Киев, Украина, 03150

проспект Победы 60/2, г. Киев, Украина, 03057 (адрес производства)

тел.: 0 (800)31-89-87, +38 (044)334-89-87,

e-mail: [info@equitest.com.ua](mailto:info@equitest.com.ua), [www.equitest.com.ua](http://www.equitest.com.ua)



## СХЕМА ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА

Выдержать реагенты 30 min при температуре 18-25°C

В лунки планшета внести по 80 µl **DIL|SAMPLE**  
(коричневый цвет)

Внести по 20 µl контролей и исследуемых образцов в лунки:  
A1 – **CONTROL|+**, B1, C1, D1 – **CONTROL|-**,  
E1 и в остальные лунки - исследуемые образцы  
(происходит изменение цвета с коричневого на синий)

Заклеить стрипы пленкой, инкубировать **30 min при температуре 37°C**

Промыть лунки 5 раз приготовленным 1:20 (1+19) раствором для промывания TWEEN (300 µl в лунку)

В лунки стрипов внести по 100 µl **SOLN|CONJ**  
(зеленый цвет)

Заклеить стрипы пленкой, инкубировать **30 min при температуре 37°C**

Промыть лунки 5 раз приготовленным 1:20 (1+19) раствором для промывания TWEEN (300 µl в лунку)

В лунки стрипов внести по 100 µl **SOLN|TMB**

Инкубировать в течение **30 min в темноте при температуре 18-25°C**

В лунки стрипов внести по 100 µl **SOLN|STOP**  
(происходит изменение цвета с голубого на желтый)

Измерить оптическую плотность (ОП) на спектрофотометре при 450/620-695 nm

## УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

$$N_c = (N_{c1} + N_{c2} + N_{c3})/3;$$

$$CO = N_c + 0,2;$$

$N_c$  - Среднее значение ОП 3-х **CONTROL|-**

$CO$  - Уровень граничного значения (Cut off)

## ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

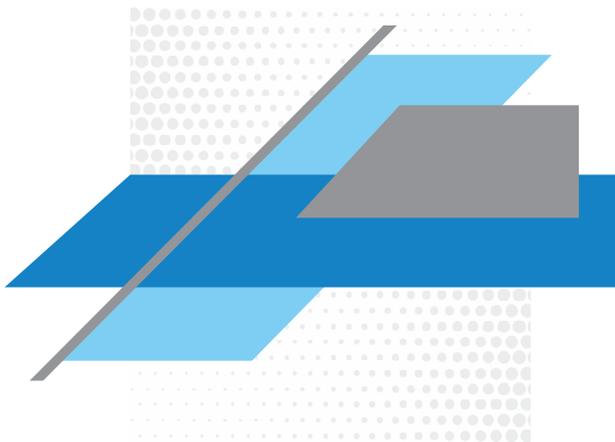
$OD_{sample} \geq CO$	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ
$OD_{sample} < CO$	ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ



# anti-HBs

**ИФА-набор качественного определения  
суммарных антител к поверхностному антигену  
вируса гепатита В**

Инструкция по применению



IVD

REF  
EI-017

$\Sigma$  96  
анализов

  
UA.TR.061



# EQUI anti-HBs

ИФА-набор для качественного определения суммарных антител к поверхностному антигену вируса гепатита В

## 1. НАЗНАЧЕНИЕ

ИФА-набор «EQUI anti-HBs» предназначен для качественного определения суммарных антител к поверхностному антигену вируса гепатита В (HBsAg) в сыворотке или плазме крови человека методом иммуноферментного анализа (ИФА) с целью диагностики перенесенного гепатита В и оценки протективного иммунитета. Использование комплекта калибраторов «EQUI anti-HBs Calibrators» с набором «EQUI anti-HBs» позволяет проводить количественное определение суммарных антител к HBsAg. Процедура анализа рассчитана как для ручной постановки с автоматическими пипетками и стандартным оборудованием, так и для автоматического иммуноферментного анализатора «открытого» типа.

**Целевая группа:** доноры; лица-потребители инъекционных наркотиков; реципиенты крови или органов; беременные женщины; дети, рожденные от инфицированных матерей; лица, инфицированные ВИЧ; пациенты с симптомами заболеваний печени.

**Применение:** ИФА-набор применяется в клинических диагностических лабораториях, в станциях переливания крови, а также в других учреждениях, работающих в области *in vitro* диагностики.

## 2. КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Одним из самых распространенных заболеваний печени является гепатит В. Его этиологический агент - вирус гепатита В (ВГВ). ВГВ относится к семейству *Herpesviridae* и содержит двухцепочечную ДНК. Инфекционной формой вируса являются так называемые «частицы Дейна» диаметром 42-49 нм, в белковом составе которых основными являются поверхностный антиген (HBsAg) и коревой антиген (HBeAg).

Клиническая картина гепатита В не позволяет диагностировать его длительное время и отличить от других вирусных гепатитов. Поэтому для скрининговых исследований и подтверждения диагноза важную роль играет лабораторная диагностика, особенно выявления антигенов ВГВ и антител к ним методом ИФА. Первым и основным маркером гепатита В является HBsAg, который обнаруживается в крови через 3-5 недель после инфицирования. Примерно в то же время в крови можно обнаружить ДНК ВГВ и HBeAg, который считается маркером активной репликации вируса и «заразности» крови. ВОЗ рекомендует проводить проверку всей донорской крови на HBsAg, чтобы предотвратить трансмиссивной передачи ВГВ. Через 2-3 недели после появления HBsAg появляются антитела IgM к коровому антигену HBeAg, а вскоре после них – анти HBeAg IgG, которые быстро достигают высоких уровней. Выздоровление от острого гепатита В сопровождается выводом вируса из организма, перестают проявляться HBsAg и анти-HBe IgM, появляются антитела к HBeAg. Антитела IgG

к коровому антигену персистируют в течение всей жизни и являются маркером имеющегося или перенесенного гепатита В, их уровень в крови снижается медленно. Через несколько месяцев после исчезновения из крови HBsAg начинают проявляться анти-HBs антитела, которые являются свидетельством перенесенного гепатита В и наличия иммунитета. В период «серологического окна» между выводом HBsAg и появлением анти-HBs антител маркером инфекции ВГВ является суммарные антитела к коровому антигену, также могут проявляться анти-HBe антитела.

Если после острой фазы не происходит элиминация вируса и не появляются анти-HBs антитела, развивается хронический гепатит В. HBsAg продолжает определяться более 6 месяцев, его количество в крови может значительно колебаться. На репликативной стадии хронического гепатита В оказывается ДНК вируса и HBeAg, антител к HBeAg нет.

ВОЗ рекомендует диагностировать острый гепатит В с наличием HBsAg и антител IgM к HBsAg, а хронический - за стойким присутствием HBsAg в течение не менее шести месяцев.

Главным средством профилактики гепатита В является вакцинация, которая рекомендована в первую очередь новорожденным. После вакцинации организмом вырабатываются анти-HBs антитела и формируется иммунитет у лиц, которые не сталкивались с вирусом гепатита В. Наличие анти-HBs антител на уровне более 10 IU / л (МЕ / л) принято считать нижней границей протективного иммунитета вследствие вакцинации или перенесенного гепатита В.

### **3. ПРИНЦИП АНАЛИЗА**

Выявление специфических антител к HBsAg в ИФА-наборе «EQUI anti-HBs» базируется на принципе «непрямого» твердофазного ИФА в двухэтапной инкубации. В лунках планшета засорбирован рекомбинантный HBsAg субтипов ad та ау. В каждую лунку добавляются образцы сыворотки или плазмы пациента и конъюгат рекомбинантных белков - аналогов HBsAg, с пероксидазой хрена. Во время инкубации, в случае наличия антител к HBsAg в образце, на твердой фазе формируется комплекс антиген-антитело-антиген («сэндвич»). Несвязанные компоненты удаляются во время отмывания. Иммунные комплексы оказываются путем добавления раствора хромогена 3,3',5'-тетраметилбензидина (ТМБ) с перекисью водорода. После 30-ти минутной инкубации реакция останавливается добавлением стоп-раствора. Оптическая плотность (ОП) в лунках определяется на спектрофотометре при длине волны 450 / 620-695nm. Интенсивность желтой окраски пропорциональна количеству антител в образце.

### **4. МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ**

#### **4.1. Состав набора**

### Планшет ИФА

STRIPS

1 x 96  
лунок

В лунках планшета засорбированы рекомбинантные белки - аналоги HBsAg субтипов ad та ay. Лунки можна отделять. После первого вскрытия храните неиспользованные стрипы в упаковке при температуре 2-8°C не больше 6 месяцев.

### Позитивный контроль

CONTROL +

1 x 1,6 ml

Раствор специфичных HBsAg иммуноглобулинов с консервантом (розовый). Хранить при температуре 2-8°C

### Отрицательный контроль

CONTROL -

2 x 1,6 ml

Отрицательная сыворотка крови с консервантом (желтый). Хранить при температуре 2-8°C

### Конъюгат (11x концентрат)

CONJ|11x

1 x 0,6 ml

11-ти кратный концентрат конъюгата рекомбинантных HBsAg субтипов ad и ay с пероксидазой хрена в буферном растворе со стабилизаторами (фиолетовый).

Развести конъюгат (11x) 1:11 раствором для разведения конъюгату перед использованием (например, 30 µl концентрата + 300 µl раствора для разведения, достаточно для 8 лунок). Разведенный раствор хранить при температуре 2-8 °C не более 1 суток.

### Раствор для розведения конъюгата

DIL|CONJ

1 x 6 ml

Буферный раствор с белками плазмы крови крупного рогатого скота, детергентом и консервантом (розовый). Хранить при температуре 2-8°C

### Раствор ТМБ (готовый к использованию)

SOLN|TMB

1 x 13 ml

Раствор ТМБ, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, стабилизатор, консервант (бесцветный). Хранить при температуре 2-8°C

### Раствор для промывки TWEEN (20x концентрат)

TWEEN|WASH|20x

1 x 50 ml

20-ти кратный концентрат фосфатного буфера с Твином-20 (бесцветный). Развести раствор для промывки TWEEN (20x) 1:20 дистиллированной или деионизированной водой (например, 5 ml концентрата + 95 ml воды для 8 лунок) перед использованием. Разведенный раствор хранить при температуре 2-8°C не больше 7 суток.

### Стоп-раствор (готовый к использованию)

SOLN|STOP

1 x 13 ml

Раствор 0,5 mol H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (бесцветный). Хранить при температуре 2-8°C

В состав набора также входят: клейкая пленка (2 шт.), схема внесения образцов (1 шт.), лист контрольных испытаний и инструкция по применению.

## 4.2. Дополнительные реактивы, материалы и оборудование

Автоматические пипетки переменного объема на 10–1000 µl и наконечники для них, мерная лабораторная посуда (10–1000 ml), деионизированная или дистиллированная вода, термостат на 37°C, деионизированная или дистиллированная вода, термостат на 450/620-695 nm, соответствующие контейнеры для отходов потенциально зараженного материала, таймер, фильтровальная бумага, одноразовые неопудренные перчатки, дезинфицирующие средства.

## 5. ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ И ТЕХНИКА БЕЗОПАСНОСТИ

### 5.1. Предостережения

*Перед проведением анализа внимательно ознакомьтесь с инструкцией по использованию. Достоверность результата зависит от четкого следования процедуре анализа.*

- не используйте компоненты ИФА-набора после окончания срока годности;
- не используйте во время анализа и не смешивайте компоненты разных серий, компоненты из наборов разных нозологий или реагенты других производителей в сочетании с набором «EQUI anti-HBs»;
- не замораживайте ИФА-набор или его компоненты;
- после использования реагента закрывайте каждый флакон своей крышкой;
- во время промывания контролируйте наполнение и полную аспирацию раствора из лунок;
- каждый раз используйте новый наконечник пипетки для внесения образцов или реагентов;
- избегайте попадания прямых солнечных лучей на реагенты ИФА-набора;
- **SOLN|TMB** должен быть бесцветным перед использованием. Если раствор окрашен в синий или желтый цвет, его нельзя использовать. Избегайте контакта **SOLN|TMB** с металлами или ионами металлов. Для работы используйте только чистую, тщательно выполосканную дистиллированной водой посуду;
- не используйте реагенты, цвет которых не соответствует указанному в пункте 4.1;
- ни в коем случае не используйте одну и ту же посуду для раствора конъюгата и **SOLN|TMB**;
- не проводите визуальный учет результатов анализа (без использования ридера);
- дополнительное оборудование, находящееся в непосредственном контакте с биологическим материалом или компонентами набора, считается загрязненным и нуждается в очищении и обеззараживании;

- ИФА-набор предназначен для 96 анализов. Компоненты после использования и остатки неиспользованных компонентов должны быть утилизированы.

## 5.2. Техника безопасности

- все реагенты набора предназначены только для лабораторного профессионального применения в *in vitro* диагностике и могут использоваться только квалифицированным персоналом;
- постановку анализа проводить только в одноразовых неопудренных перчатках и защитных очках;
- не допускается принимать пищу, пить, курить или пользоваться косметикой в комнате проведения теста;
- не пипетировать растворы ртом;
- контроли ИФА-набора «EQUI anti-HBs» протестированы и признаны отрицательными на HBsAg и антитела к ВИЧ1/2, ВГС, *Treponema pallidum*, однако работать с контролями и исследуемым материалом необходимо как с потенциально опасным инфекционным материалом;
- некоторые компоненты набора содержат низкие концентрации вредных веществ и могут спровоцировать раздражение кожи и слизистых оболочек. При попадании [SOLN|TMB], [SOLN|STOP] и раствора конъюгата на слизистые оболочки или кожу необходимо немедленно промыть пораженное место большим количеством воды;
- в случае разбрызгивания растворов, не содержащих кислоту, например, сывороток, обработать поверхность дезинфицирующим средством, а затем насухо вытереть фильтровальной бумагой. В ином случае кислоту необходимо сначала нейтрализовать раствором бикарбоната натрия, а затем вытереть поверхность, как описано выше.

## 5.3. Инактивация и утилизация отходов

- жидкие отходы необходимо инактивировать, например, раствором перекиси водорода в конечной концентрации 6% в течение 3 часов при комнатной температуре или гипохлоритом натрия в конечной концентрации 5% в течение 30 минут или другими разрешенными дезинфицирующими средствами;
- твердые отходы следует инактивировать путем автоклавирования при температуре стерилизации не меньше 132°C;
- не автоклавируйте растворы, содержащие азид натрия или гипохлорит натрия;
- утилизацию инактивированных отходов проводить в соответствии с действующим национальным законодательством.

## 6. ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВКА

ИФА-набор стабилен в течение срока годности, указанного на этикетке, если его хранить при температуре 2-8°C. Транспортировать набор при температуре 2-8°C. Допускается одноразовая транспортировка при температуре не выше 23°C в течение двух суток.

## **7. РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ОТБОРУ, ТРАНСПОРТИРОВКЕ И ХРАНЕНИЮ ОБРАЗЦОВ**

Кровь необходимо отбирать из вены в стерильную пробирку. Пробирка должна быть промаркирована с указанием идентификационных данных пациента и даты отбора образца. Цельную кровь до отделения сыворотки можно хранить до 24 часов при температуре 2-8°C, не допуская замораживания.

Сыворотку или плазму крови можно хранить при температуре 2-8°C не более 3 суток. Допускается более продолжительное хранение замороженной сыворотки при температуре -20°C или -70°C. Замороженные образцы перед использованием следует разморозить и выдержать при комнатной температуре в течение 30 минут. После размораживания образцы следует перемешать для достижения однородности. Избегать повторного замораживания-оттаивания исследуемых образцов. В случае помутнения сыворотки (или плазмы) освобождаются от нерастворенных включений центрифугированием при 3000 об/мин в течение 10-15 минут. Не следует использовать образцы сывороток с выраженной липидемией, гемолизом, а также бактериальным проростом.

Образцы сывороток транспортировать в термоизоляционных контейнерах. Для этого закрытые промаркированные пробирки необходимо поместить в полиэтиленовый пакет, плотно запечатать и положить в центре термоконтейнера. Замороженные хладагенты положить на дно вдоль боковых стенок термоконтейнера и накрыть ими образцы сывороток.

## **8. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ**

*Примечание: Перед использованием выдержите все компоненты ИФА-набора при комнатной температуре 18-25°C в течение 30 минут!*

### **8.1. Подготовка планшета ИФА**

Для предупреждения конденсации воды в лунках открывайте **STRIPS** только после выдерживания 30 минут при комнатной температуре. Раскройте вакуумную упаковку, отделите необходимое количество лунок, а остальное сразу же тщательно упакуйте с влагопоглотителем и храните плотно закрытыми на замок zip-lock при температуре 2-8°C. Хранение упакованного таким образом планшета обеспечивает его стабильность в течение 6 месяцев.

### **8.2. Приготовление промывочного раствора**

Для приготовления раствора для промывания разведите **TWEEN|WASH|20x** 1:20 (1+19) дистиллированной или деионизированной водой, потом перемешайте. Например, 5 ml концентрата + 95 ml воды, чего достаточно для 8 лунок. При наличии кристаллов в концентрате раствора для промывания прогрейте флакон при температуре 37°C до полного растворения кристаллов (15–20 минут). Разведенный раствор можно хранить при температуре 2-8°C не более 7 суток.

### 8.3. Приготовление раствора конъюгата

Рабочее разведение конъюгата готовится следующим образом: разведите  (фиолетовый) в чистом флаконе раствором  (розовый) в соотношении 1:11 (то есть, 1+10), раствор окрашивается в фиолетовый цвет. Например, для 8 лунок анализа добавить до 300 µl  30 µl . Раствор конъюгата в рабочем разведении стабильный в течение суток при условии хранения при температуре 2-8°C.

## 9. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

- 9.1. Подготовьте необходимое количество лунок для анализа (четыре лунки для контролей и необходимое количество для исследуемых образцов), вставьте их в рамку планшета ИФА. Лунки с контролями обязательно включайте в каждую постановку анализа.
- 9.2. Заполните схему внесения образцов.
- 9.3. Приготовьте раствор для промывания в соответствии с пунктом 8.2.
- 9.4. Приготовьте раствор конъюгата согласно пункту 8.3.
- 9.5. Внесите в лунки по 70 µl контролей и исследуемых образцов:  
 – в лунку A1,  
 – в лунки B1, C1, D1,  
в остальные лунки – исследуемые образцы.
- 9.6. Внесите в лунки по 35 µl раствора конъюгата поверх контролей и исследуемых образцов. Для предотвращения кроссконтаминации образцов внесите раствор конъюгата, не касаясь содержания лунок. Осторожно постукивая по планшету, перемешайте смесь в лунках.
- 9.7. Заклейте стрипы клейкой пленкой и инкубируйте в течение 120 минут при температуре 37°C.
- 9.8. По окончании инкубации аккуратно снимите клейкую пленку и промойте лунки пять раз с использованием автоматического промывателя или 8-канальной пипетки следующим образом:
  - удалите содержимое лунок в контейнер для жидких отходов;
  - наполните лунки стрипов не менее чем по 300 µl раствором для промывания, оставьте не менее, чем на 30 секунд;
  - аспирируйте раствор из лунок. Остаточный объем раствора после каждого этапа аспирации должен составлять не больше 5 µl;
  - повторите процедуру промывания еще пять раз;
  - после последней аспирации избавьтесь от лишней влаги, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге.
- 9.9. Внесите в лунки по 100 µl , не касаясь дна и стенок лунок планшета.
- 9.10. Инкубируйте стрипы в течение 30 минут в темном месте при комнатной температуре 18-25°C. Не используйте клейкую пленку на данном этапе.
- 9.11. Внесите в лунки стрипов по 100 µl  для остановки ферментативной реакции, придерживаясь той же последовательности,

что и при внесении [SOLN|TMB]. Во время внесения происходит изменение цвета раствора с голубого на желтый, в лунках с прозрачным раствором незначительно меняется оттенок.

9.12. Измерьте на ридере ОП в каждой лунке при длине волны 450/620-695 nm в течение 5 минут после остановки реакции. До проведения измерения убедитесь в чистоте внешней поверхности дна лунок и отсутствии пузырьков.

*Учет результатов анализа можно проводить в одноволновом режиме при длине волны 450 nm, в этом случае оставьте лунку для установления бланка (в такую лунку внесите только [SOLN|TMB] и [SOLN|STOP]).*

## 10. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ И ИХ ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

### 10.1. Учет результатов анализа

Рассчитать среднее значение ОП негативного контроля ( $\bar{Nc}$ ) уровень граничного значения (Cut off - CO).

$$\bar{Nc} = (Nc1 + Nc2 + Nc3)/3; \quad CO = \bar{Nc} + 0,2$$

### 10.2. Контроль достоверности результатов анализа

Данные теста считаются достоверными, если они соответствуют следующим требованиям:

CONTROL +

ОП  $\geq 1,5$

CONTROL -

ОП  $\leq 0,100$

CONTROL -

$\bar{Nc} \times 0,5 \leq Ncn \leq \bar{Nc} \times 2,0$

где Ncn – ОП каждого повтора Nc

Если одно из значений ОП негативного контроля выходит за пределы указанного выше интервала, его отбрасывают и рассчитывают  $\bar{Nc}$  по остальным значениям ОП негативного контроля. Если более одного значения ОП негативного контроля не отвечает указанным требованиям, то тест считается некорректным и требует повторного проведения.

### 10.3. Интерпретация результатов

OD<sub>sample</sub>  $\geq$  CO ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ

OD<sub>sample</sub>  $<$  CO ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ

, где OD<sub>sample</sub> - ОП образца

Результаты для образцов, ОП которых равна граничному значению или находится в пределах  $\pm 10\%$ , следует интерпретировать осторожно. Такие образцы должны быть исследованы повторно в двух лунках набора «EQUI anti-NBs». Если при повторном тестировании OD<sub>sample</sub> снова находится в пределах  $\pm 10\%$  от граничного значения, следует провести отбор и анализ нового образца.

## 11. ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

### 11.1. Аналитические характеристики

#### Прецизионность

*Воспроизводимость результатов в пределах одной постановки анализа (Intra assay repeatability)*

Коэффициент вариации (CV) для двух сывороток с различной концентрацией anti-HBcore антител оценивали в 32 повторях на одной серии ИФА-наборов.

№ сыворотки	ОП <sub>ср</sub>	mIU/ml (мМЕ/мл)	CV, %
103/10	1,654	95,9	3,4
104/24	0,389	16,7	5,1

*Воспроизводимость результатов между разными постановками анализа (Inter assay reproducibility)*

Коэффициент вариации (CV) для двух сывороток с различной концентрацией anti-HBcore антител оценивали в течение 3 дней в 3 постановках анализа, по 8 повторов в каждом анализе.

№ сыворотки	ОП <sub>ср</sub>	mIU/ml (мМЕ/мл)	CV, %
103/10	1,812	102,9	9,9
104/24	0,389	16,8	9,1

#### Аналитическая специфичность

На результат анализа не влияет присутствие в образце билирубина в концентрации до 0,21 mg/ml (361,8 μmol/l), гемоглобина в концентрации до 10 mg/ml и триглицеридов в концентрации до 10 mg/ml (11,3 mmol/l).

### 11.2. Диагностические характеристики

Для определения клинической чувствительности ИФА-наборов «EQUI anti-HBs» использовали 19 образцов сывороток от вакцинированных пациентов и 8 положительных образцов с коммерческой панели сывороток производства SeraCare Life Sciences Inc (США). Клиническая чувствительность наборов «EQUI anti-HBs» составила 100%.

Исследование характеристик метода по сравнению с аналогичным коммерческим ИФА-набором проводили на целевой группе беременных женщин и выборке доноров (168 образцов). Для выборки беременных женщин и доноров относительная специфичность составила 99,3%, процент совпадения составляет 97,6%.

## 12. ОГРАНИЧЕНИЕ АНАЛИЗА

Положительный результат в ИФА-наборе «EQUI anti-HBs» является свидетельством наличия у пациента антител к поверхностному антигену вируса гепатита В. Антитела к HBsAg являются показателем протективного

иммунитета.

Отрицательный результат в ИФА-наборе «EQUI anti-HBs» показывает, что тестируемый образец не содержит анти-HBs антител или их концентрация ниже уровня чувствительности анализа.

Выявление анти-HBs у пациента не является доказательством наличия вируса гепатита В в организме, эти антитела обнаруживаются при хроническом и перенесенном в анамнезе гепатите В, а также у вакцинированных против гепатита В лиц. Чтобы отличить эти состояния, рекомендуется протестировать пациента на другие маркеры гепатита В и исследовать образец на наличие HBsAg и специфических антител классов IgM и IgG к HBcore антигена (например, в ИФА-наборах «EQUI HBsAg», «EQUI HBcore IgM» и «EQUI HBcore IgG», соответственно).

Для оценки уровня протективного иммунитета рекомендуется определить концентрацию анти-HBs антител в образце с применением комплекта калибраторов «EQUI anti-HBs Calibrators».

### **13. ТРУДНОСТИ, КОТОРЫЕ МОГУТ ВОЗНИКНУТЬ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ИФА**

***Высокий фон в лунках всего планшета может возникнуть из-за:***

- загрязненного промывателя;
- низкого качества или загрязнения воды;
- использования плохо помытой посуды;
- использования дезинфицирующих средств, содержащих хлор;
- использования загрязненных наконечников;
- увеличения времени инкубации или изменения температурного режима.

***Высокий фон в отдельных рядах может быть связан с:***

- повторным внесением раствора ТМБ;
- загрязнением конуса автоматической пипетки раствором конъюгата;
- загрязнением одного из каналов промывателя.

***Полученное значение ОП положительного контроля ниже установленной границы, если:***

- неправильно приготовлен или не внесен один из реагентов (раствор конъюгата или раствор ТМБ);
- сокращено время инкубации на одном из этапов.

***Интенсивность окрашивания лунок не соответствует полученной оптической плотности.*** Это может свидетельствовать о смещенном оптическом луче.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Mahoney F.J. Update on Diagnosis, Management, and Prevention of Hepatitis B Virus Infection // *Clinical Microbiology Review* – 1999. – Vol.12, N 2 - P.351–366.
2. Maddrey W.C. Hepatitis B - an important public health issue // *Clin. Lab.* - 2001. - Vol. 47, N 1-2. - P.51-55.
3. Spradling P.R., Xing J., Williams R. et al. Immunity to Hepatitis B Virus (HBV) Infection Two Decades after Implementation of Universal Infant HBV Vaccination: Association of Detectable Residual Antibodies and Response to a Single HBV Challenge Dose // *Clinical and Vaccine Immunology.* - 2013. - Vol.20, N 4. - P.559–561.
4. Walsh K., Alexander G.J.M. Update on chronic viral hepatitis // *Postgraduate Medical Journal* - 2001. - V. 77. - P. 498-505.
5. Возіанова Ж.І. Вірусний гепатит В // *Інфекційні та паразитарні хвороби: В 3 т. – К.:»Здоров'я», 2001. т.1. – С.601-614.*
6. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Systematic review on hepatitis B and C prevalence in the EU/EEA. Stockholm: 2016.
7. CDC Hepatitis B Information // <https://www.cdc.gov/hepatitis/hbv/index.htm>.
8. World Health Organization (WHO). WHO guidelines on hepatitis B and C testing. Geneva: World Health Organization; 2017 // <http://www.who.int/hepatitis/publications/guidelines-hepatitis-c-b-testing/en/>.
9. Regulation (EU) 2017/746 of the European Parliament and of the Council of 5 April 2017 on in vitro diagnostic medical devices and repealing Directive 98/79/EC and Commission Decision 2010/227/EU.
10. Закон України «Про відходи» // *Відомості Верховної Ради України.* - 1998. - №36-37.
11. Наказ МОЗ України №325 від 08.06.2015 «Про затвердження Державних санітарно-протиепідемічних правил і норм щодо поводження з медичними відходами».
12. Постанова КМУ від 02 жовтня 2013р. №754 «Про затвердження технічного регламенту щодо медичних виробів для діагностики in vitro».
13. Hanna Tolonen, Kari Kuulasmaa, Tiina Laatikainen, Hermann Wolf and the European Health Risk Monitoring Project. Recommendation for indicators, international collaboration, protocol and manual of operations for chronic disease risk factor surveys Part 4.Storage and transfer of serum/plasma samples// *Finnish National Public Health Institute 2002//* [https://thl.fi/publications/ehrm/product2/part\\_iii4.htm](https://thl.fi/publications/ehrm/product2/part_iii4.htm)
14. Surveillance Guidelines for Measles, Rubella and Congenital Rubella Syndrome in the WHO European Region. Annex 3.Collection, storage and shipment of specimens for laboratory diagnosis and interpretation of results//Geneva: World Health Organization; 2012 Dec.



Производитель



Медицинское изделие для диагностики *in vitro*



Номер по каталогу



Дата изготовления



Использовать до



Код партии



Температурное ограничение



Содержит достаточно для (n-) испытаний



Предостережение, ознакомьтесь с сопроводительными документами



Ознакомление с инструкцией по применению



Беречь от прямых солнечных лучей



Знак соответствия техническим регламентам

Редакция 7 от 18.10.2021г.

*С вопросами и пожеланиями по работе набора обращайтесь к производителю:*



ООО «Эквигестлаб»

ул. Большая Васильковская 114, г. Киев, Украина, 03150

проспект Победы 60/2, г. Киев, Украина, 03057 (адрес производства)

тел.: 0 (800)31-89-87, +38 (044)334-89-87,

e-mail: [info@equitest.com.ua](mailto:info@equitest.com.ua), [www.equitest.com.ua](http://www.equitest.com.ua)



## СХЕМА ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА

Выдержать реагенты 30 min при температуре 18-25°C

Внести по 70 µl контролей и исследуемых образцов в лунки:  
A1 – [CONTROL+], B1, C1, D1 – [CONTROL-],  
E1 и в остальные лунки - исследуемые образцы

Внести по 35 µl приготовленного 1:11 (1+10) раствора конъюгата

Заклеить стрипы пленкой, инкубировать **120 min при температуре 37°C**

Промыть лунки 6 раз приготовленным 1:20 (1+19) раствором для промывания TWEEN (300 µl в лунку)

В лунки стрипов внести по 100 µl [SOLN|TMB]

Инкубировать на протяжении **30 min в темноте при температуре 18-25°C**

В лунки стрипов внести по 100 µl [SOLN|STOP]  
(происходит изменение цвета с голубого на желтый)

## УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

$$\bar{Nc} = (Nc1 + Nc2 + Nc3)/3;$$

$$CO = \bar{Nc} + 0,2;$$

$\bar{Nc}$  - Среднее значение ОП 3-х [CONTROL-]

CO - Уровень граничного значения (Cut off)

## ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

$OD_{\text{sample}} \geq CO$	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ
$OD_{\text{sample}} < CO$	ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ



---

# HBsAg

**ИФА-набор для качественного обнаружения  
поверхностного антигена вируса гепатита В**

---

Инструкция по применению



IVD

REF  
EI-011

$\Sigma$  96  
анализов

  
UA.TR.061



# EQUI HBsAg

ИФА-набор для качественного обнаружения поверхностного антигена вируса гепатита В

## 1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор «EQUI HBsAg» предназначен для качественного обнаружения поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg) в сыворотке или плазме крови человека методом иммуноферментного анализа (ИФА) с целью диагностики гепатита В и скрининга донорской крови. Процедура анализа рассчитана как для ручной постановки с автоматическими пипетками и стандартным оборудованием, так и для автоматического иммуноферментного анализатора «открытого» типа.

**Целевая группа:** доноры; лица-потребители инъекционных наркотиков; реципиенты крови или органов; беременные женщины; дети, рожденные от инфицированных матерей; лица, инфицированные ВИЧ; пациенты с симптомами заболеваний печени; пациенты гемодиализа.

**Применение:** ИФА-набор применяется в клинических диагностических лабораториях, станциях переливания крови, а также в других учреждениях, работающих в области *in vitro* диагностики.

## 2. КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Одним из распространенных заболеваний печени является гепатит В. Его этиологический агент – вирус гепатита В (ВГВ). ВГВ относится к семейству *Нepadnaviridae* и содержит двухцепочечную ДНК. Инфекционной формой вируса являются так называемые частицы Дейна диаметром 42-49 nm, в белковом составе которых основными являются поверхностный антиген (HBsAg) и коровой антиген (HBcAg).

Клиническая картина гепатита В не позволяет диагностировать его длительное время и отличить от других вирусных гепатитов. Поэтому для скрининговых исследований и подтверждения диагноза важную роль играет лабораторная диагностика, особенно выявление антигенов ВГВ и антител к ним методом ИФА. Первым и основным маркером гепатита В является HBsAg, проявляющийся в крови через 3-5 недель после инфицирования. Приблизительно в то же время в крови можно обнаружить ДНК ВГВ и HBeAg, который считается маркером активной репликации вируса и «заразности» крови. ВОЗ рекомендует проводить проверку всей донорской крови на HBsAg, чтобы предотвратить трансмиссивную передачу ВГВ. Через 2-3 недели после появления HBsAg появляются антитела IgM к коровому антигену HBcAg, а вскоре после них – анти-HBcore IgG, быстро достигающие высоких уровней. Выздоровление от острого гепатита В сопровождается выведением вируса из организма, перестают выявляться HBsAg и анти-HBc IgM, появляются антитела к HBeAg. Антитела IgG к коровому антигену персистируют в течение всей жизни и являются маркером имеющегося или перенесенного гепатита В, их уровень в крови снижается медленно. Через несколько месяцев после

исчезновения из крови HBsAg начинают выявляться анти-HBs антитела, свидетельствующие о перенесенном гепатите В и наличии иммунитета. В период «серологического окна» между выводом HBsAg и появлением анти-HBs антител маркером инфекции ВГВ являются суммарные антитела к коровому антигену, также могут проявляться анти-HBe антитела.

Если после острой фазы не происходит элиминация вируса и не появляются анти-HBs антитела, развивается хронический гепатит В. HBsAg продолжает определяться более 6 месяцев, его количество в крови может значительно колебаться. На репликативной стадии хронического гепатита В находится ДНК вируса и HBeAg, антител к HBeAg нет.

ВОЗ рекомендует диагностировать острый гепатит В при наличии HBsAg и антител IgM к HBeAg, а хронический – при устойчивом присутствии HBsAg в течение не менее шести месяцев.

Главным средством профилактики гепатита В является вакцинация, рекомендованная в первую очередь новорожденным. После вакцинации организмом продуцируются анти-HBs антитела и формируется иммунитет у лиц, не соприкасавшихся с вирусом гепатита В. Наличие анти-HBs антител на уровне более 10 IU/l (МЕ/л) принято считать нижним пределом протективного иммунитета вследствие вакцинации или перенесенного гепатита В.

### **3. ПРИНЦИП АНАЛИЗА**

Обнаружение HBsAg в ИФА-наборе «EQUI HBsAg» базируется на принципе «сэндвич»-варианта твердофазного ИФА в одноэтапной инкубации. В лунках планшета засорбированы моноклональные антитела, специфические к HBsAg. В каждую лунку добавляются образцы сыворотки или плазмы пациента и конъюгат специфических к HBsAg антител с пероксидазой хрена. Во время инкубации исследуемых образцов и пероксидазного конъюгата в лунках планшета HBsAg, при наличии в образцах, связывается как с первыми антителами на твердой фазе, так и со вторыми антителами, конъюгированными с пероксидазой хрена, образуя «сэндвич» антитело-антиген-антитело. Несвязанные компоненты удаляются при отмывании. Иммуные комплексы обнаруживаются путем добавления раствора хромогена 3,3',5,5'-тетраметилбензидина (ТМБ) с перекисью водорода. После 30-минутной инкубации реакция останавливается добавлением стоп-раствора. Оптическая плотность (ОП) в лунках определяется на спектрофотометре при длине волны 450/620-695 nm. Интенсивность желтой окраски пропорциональна количеству HBsAg в образце.

## **4. МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ**

### **4.1. Состав набора**

### Планшет ИФА

STRIPS

1 x 96  
лунок

В каждой лунке планшета засорбированы моноклональные антитела к HBsAg. Лунки можно отделять. После первого открытия храните неиспользованные стрипы в упаковке при температуре 2-8°C не более 6 месяцев

### Позитивный контроль

CONTROL +

1 x 1,6 ml

Раствор поверхностного антигена вируса гепатита В в буфере с альбумином и консервантом (розовый). Хранить при температуре 2-8°C

### Негативный контроль

CONTROL -

2 x 1,6 ml

Негативная сыворотка крови человека с консервантом (желтый). Хранить при температуре 2-8°C

### Конъюгат (11x концентрат)

CONJ|11x

1 x 0,8 ml

11-кратный концентрат конъюгата моноклональных антител к HBsAg с пероксидазой хрена в буферном растворе со стабилизаторами и консервантом (фиолетовый). Развести конъюгат (11x) 1:11 раствором для разведения конъюгата перед использованием (например, 50 µl концентрата + 500 µl раствора для разведения конъюгата, достаточно для 8 лунок). Разбавленный раствор хранить при температуре 2-8°C не более 1 суток

### Раствор для разведения конъюгата

DIL|CONJ

1 x 8 ml

Буферный раствор с белками сыворотки крови крупного рогатого скота и иммуноглобулинами мыши с консервантом (розовый). Хранить при температуре 2-8°C

### Раствор ТМБ (готов к использованию)

SOLN|TMB

1 x 13 ml

Раствор ТМБ, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, стабилизатор, консервант (бесцветный). Хранить при температуре 2-8°C

### Раствор для промывки TWEEN (20x концентрат)

TWEEN|WASH|20x

1 x 50 ml

20-кратный концентрат фосфатного буфера с Твином-20 (бесцветный). Развести раствор для промывки TWEEN (20x) 1:20 дистиллированной или деионизированной водой (например, 5 ml концентрата + 95 ml воды для 8 лунок) перед использованием. Разбавленный раствор хранить при температуре 2-8°C не более 7 суток

### Стоп-раствор (готов к использованию)

SOLN|STOP

1 x 13 ml

Раствор 0,5 mol H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (бесцветный). Хранить при температуре 2-8°C

В состав набора входят: клейкая пленка (1 шт.), схема внесения образцов (1 шт.), лист контрольных испытаний и инструкция по применению.

## 4.2. Дополнительные реактивы, материалы и оборудование

Автоматические пипетки переменного объема на 10–1000 µl и наконечники к ним, мерная лабораторная посуда (10–1000 ml), деионизированная или дистиллированная вода, термошейкер на 37°C или термостат на 42°C, автоматический или полуавтоматический промыватель планшетов (вошер), спектрофотометр (ридер) для микропланшетов на 450/620–695 nm, соответствующие контейнеры для отходов потенциально зараженного материала, таймер, фильтровальная бумага, одноразовые неопудренные перчатки, дезинфицирующие средства.

## 5. ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ И ТЕХНИКА БЕЗОПАСНОСТИ

### 5.1. Предостережение

*Перед проведением анализа внимательно ознакомьтесь с инструкцией по применению. Достоверность результата зависит от четкого следования процедуре анализа.*

- не используйте компоненты ИФА-набора после окончания срока годности;
- не используйте во время анализа и не смешивайте компоненты разных серий, компоненты из наборов разных нозологий или реагенты других производителей в сочетании с набором «EQUI HBsAg»;
- не замораживайте ИФА-набор или его компоненты;
- после использования реагента закрывайте каждый флакон своей крышкой;
- во время промывания контролируйте наполнение и полную аспирацию раствора из лунок;
- каждый раз используйте новый наконечник пипетки для внесения образцов или реагентов;
- избегайте попадания прямых солнечных лучей на реагенты ИФА-набора;
- **SOLN|TMB** должен быть бесцветным перед использованием. Если раствор окрашен в синий или желтый цвет, его нельзя использовать. Избегайте контакта **SOLN|TMB** с металлами или ионами металлов. Для работы используйте только чистую, тщательно выполосканную дистиллированной водой посуду;
- не используйте реагенты, цвет которых не соответствует указанному в пункте 4.1;
- ни в коем случае не используйте одну и ту же посуду для раствора конъюгата и **SOLN|TMB**;
- не проводите визуальный учет результатов анализа (без использования ридера);
- дополнительное оборудование, находящееся в непосредственном контакте с биологическим материалом или компонентами набора, считается загрязненным и нуждается в очищении и обеззараживании;

- ИФА-набор предназначен для 96 анализов. Компоненты после использования и остатки неиспользованных компонентов должны быть утилизированы.

## 5.2. Техника безопасности

- все реагенты набора предназначены только для лабораторного профессионального применения в *in vitro* диагностике и могут использоваться только квалифицированным персоналом;
- постановку анализа проводить только в одноразовых неопудренных перчатках и защитных очках;
- не допускается принимать пищу, пить, курить или пользоваться косметикой в комнате проведения теста;
- не пипетировать растворы ртом;
- [CONTROL+] ИФА-набора «EQUI HBsAg» содержит очищенный поверхностный антиген вируса гепатита В, выделенный с инаktivированным прогреванием сыворотки крови человека, в которой не было обнаружено антител к ВИЧ1/2, ВГС и *Treponema pallidum*, однако работать с контролем следует как с потенциально инфекционным материалом;
- [CONTROL-] ИФА-набора «EQUI HBsAg» протестирован и признан отрицательным на HBsAg и антитела к ВИЧ1/2, ВГС, *Treponema pallidum*, однако обращаться с контролем и исследуемыми образцами следует как с потенциально опасным инфекционным материалом;
- некоторые компоненты набора содержат низкие концентрации вредных веществ и могут вызвать раздражение кожи и слизистых. При попадании [SOLN|TMB], [SOLN|STOP] и раствора конъюгата на слизистые или кожу, необходимо немедленно промыть пораженное место большим количеством воды;
- в случае разбрызгивания растворов, не содержащих кислоту, например, сывороток, обработать поверхность дезинфицирующим средством, а затем насухо вытереть фильтровальной бумагой. В ином случае кислоту необходимо сначала нейтрализовать раствором бикарбоната натрия, а затем вытереть поверхность, как описано выше.

## 5.3. Инаktivация и утилизация отходов

- жидкие отходы необходимо инаktivировать, например, раствором перекиси водорода в конечной концентрации 6% в течение 3 часов при комнатной температуре или гипохлоритом натрия в конечной концентрации 5% в течение 30 минут или другими разрешенными дезинфицирующими средствами;
- твердые отходы следует инаktivировать путем автоклавирования при температуре стерилизации не меньше 132°C;
- не автоклавируйте растворы, содержащие азид натрия или гипохлорит натрия;
- утилизацию инаktivированных отходов проводить в соответствии с действующим национальным законодательством.

## 6. ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВКА

ИФА-набор стабилен в течение срока годности, указанного на этикетке, если его хранить при температуре 2-8°C. Транспортировать набор при температуре 2-8°C. Допускается одноразовая транспортировка при температуре не выше 23°C в течение двух суток.

## 7. РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ОТБОРУ, ТРАНСПОРТИРОВКЕ И ХРАНЕНИЮ ОБРАЗЦОВ

Кровь необходимо отбирать из вены в стерильную пробирку. Пробирка должна быть промаркирована с указанием идентификационных данных пациента и даты отбора образца. Цельную кровь до отделения сыворотки можно хранить до 24 часов при температуре 2-8°C, не допуская замораживания.

Сыворотку или плазму крови можно хранить при температуре 2-8°C не более 3 суток. Допускается более продолжительное хранение замороженной сыворотки при температуре -20°C или -70°C. Замороженные образцы перед использованием следует разморозить и выдержать при комнатной температуре в течение 30 минут. После размораживания образцы следует перемешать для достижения однородности. Избегать повторного замораживания-оттаивания исследуемых образцов. В случае помутнения сыворотки (или плазмы) освобождаются от нерастворенных включений центрифугированием при 3000 об/мин в течение 10-15 минут. Не следует использовать образцы сывороток с выраженной липидемией, гемолизом, а также бактериальным проростом.

Образцы сывороток транспортировать в термоизоляционных контейнерах. Для этого закрытые промаркированные пробирки необходимо поместить в полиэтиленовый пакет, плотно запечатать и положить в центре термоконтнера. Замороженные хладагенты положить на дно вдоль боковых стенок термоконтнера и накрыть ими образцы сывороток.

## 8. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

*Примечание: Перед использованием выдержите все компоненты ИФА-набора при комнатной температуре 18-25°C в течение 30 минут!*

### 8.1. Подготовка планшета ИФА

Для предупреждения конденсации воды в лунках открывайте **STRIPS** только после выдерживания 30 минут при комнатной температуре. Раскройте вакуумную упаковку, отделите необходимое количество лунок, а остальное сразу же тщательно упакуйте с влагопоглотителем и храните плотно закрытыми на замок zip-lock при температуре 2-8°C. Хранение упакованного таким образом планшета обеспечивает его стабильность в течение 6 месяцев.

### 8.2. Приготовление промывочного раствора

Для приготовления раствора для промывания разведите **TWEEN|WASH|20x** 1:20 (1+19) дистиллированной или деионизированной водой, потом

перемешайте. Например, 5 ml концентрата + 95 ml воды, чего достаточно для 8 лунок. При наличии кристаллов в концентрате раствора для промывания прогрейте флакон при температуре 37°C до полного растворения кристаллов (15–20 минут). Разведенный раствор можно хранить при температуре 2-8°C не более 7 суток.

### 8.3. Приготовление раствора конъюгата

Рабочее разведение конъюгата готовится следующим образом: разведите [CONJ]11x (фиолетовый) в чистом флаконе раствором [DIL]CONJ (розовый) в соотношении 1:11 (то есть, 1+10), раствор окрашивается в фиолетовый цвет. Например, для 8 лунок анализа добавить до 500 µl [DIL]CONJ 50 µl [CONJ]11x. Раствор конъюгата в рабочем разведении стабильный в течение суток при условии хранения при температуре 2-8°C.

## 9. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

9.1. Подготовьте необходимое количество лунок для анализа (четыре лунки для контролей и необходимое количество для исследуемых образцов), вставьте их в рамку планшета ИФА. Лунки с контролями обязательно включайте в каждую постановку анализа.

9.2. Заполните схему внесения образцов.

9.3. Приготовьте раствор для промывания в соответствии с пунктом 8.2.

9.4. Приготовьте раствор конъюгата согласно пункту 8.3.

9.5. Внесите в лунки по 100 µl контролей и исследуемых образцов:

[CONTROL] + – в лунку A1,

[CONTROL] - – в лунки B1, C1, D1,

в остальные лунки – исследуемые образцы.

9.6. Внесите в лунки по 50 µl раствора конъюгата поверх контролей и исследуемых образцов. Для предотвращения кроссконтаминации образцов внесите раствор конъюгата, не касаясь содержания лунок. Осторожно постукивая по планшету, перемешайте смесь в лунках.

9.7. Заклейте стрипы клейкой пленкой и инкубируйте в течение 120 минут при 37°C и постоянном орбитальном перемешивании содержимого лунок со скоростью 300 об/мин. *Инкубацию образцов с конъюгатом в лунках ИФА-планшета можно проводить в течение 120 минут при температуре 42°C в статическом режиме. Однако при этом может наблюдаться снижение специфичности анализа.*

9.8. По окончании инкубации аккуратно снимите клейкую пленку и промойте лунки пять раз с использованием автоматического промывателя или 8-канальной пипетки следующим образом:

– удалите содержимое лунок в контейнер для жидких отходов;

– наполните лунки стрипов не менее чем по 300 µl раствором для промывания, оставьте не менее, чем на 30 секунд;

– аспирируйте раствор из лунок. Остаточный объем раствора после каждого этапа аспирации должен составлять не больше 5 µl;

- повторите процедуру промывания еще пять раз;
- после последней аспирации избавьтесь от лишней влаги, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге.

- 9.9. Внесите в лунки по 100  $\mu\text{l}$  [SOLN|TMB], не касаясь дна и стенок лунок планшета.
- 9.10. Инкубируйте стрипы в течение 30 минут в темном месте при комнатной температуре 18-25°C. Не используйте клейкую пленку на данном этапе.
- 9.11. Внесите в лунки стрипов по 100  $\mu\text{l}$  [SOLN|STOP] для остановки ферментативной реакции, придерживаясь той же последовательности, что и при внесении [SOLN|TMB]. Во время внесения происходит изменение цвета раствора с голубого на желтый, в лунках с прозрачным раствором незначительно меняется оттенок.
- 9.12. Измерьте на ридере ОП в каждой лунке при длине волны 450/620-695 nm в течение 5 минут после остановки реакции. До проведения измерения убедитесь в чистоте внешней поверхности дна лунок и отсутствии пузырьков.

*Учет результатов анализа можно проводить в одноволновом режиме при длине волны 450 nm, в этом случае оставьте лунку для установления бланка (в такую лунку внесите только [SOLN|TMB] и [SOLN|STOP]).*

## 10. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ И ИХ ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

### 10.1. Учет результатов анализа

Рассчитать среднее значение ОП негативного контроля ( $\bar{N}_c$ ) уровень граничного значения (Cut off - CO).

$$\bar{N}_c = (N_{c1} + N_{c2} + N_{c3})/3; \quad CO = \bar{N}_c + 0,07$$

### 10.2. Контроль достоверности результатов анализа

Данные теста считаются достоверными, если они соответствуют следующим требованиям:

$$\text{[CONTROL|+]} \quad ОП \geq 1,5$$

$$\text{[CONTROL|-]} \quad ОП \leq 0,100$$

$$\text{[CONTROL|-]} \quad \bar{N}_c \times 0,5 \leq N_{cn} \leq \bar{N}_c \times 2,0 \quad \text{где } N_{cn} - \text{ОП каждого повтора } N_c$$

Если одно из значений ОП негативного контроля выходит за пределы указанного выше интервала, его отбрасывают и рассчитывают  $\bar{N}_c$  по остальным значениям ОП негативного контроля. Если более одного значения ОП негативного контроля не отвечает указанным требованиям, то тест считается некорректным и требует повторного проведения.

### 10.3. Интерпретация результатов

$OD_{\text{sample}} \geq CO$       ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ

$OD_{\text{sample}} < CO$       ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ\*\* , где  $OD_{\text{sample}}$  – ОП образца

\* Первоначально положительные образцы должны быть исследованы повторно в двух лунках ИФА-набора «EQUI HBsAg». После повторного тестирования положительными считаются образцы, оптическая плотность которых хотя бы в одном из повторов превышает граничное значение. Если при повторном тестировании оптическая плотность образца в обоих повторах ниже граничного значения, такой образец считать отрицательным.

Результаты для образцов, ОП которых равно граничному значению или находится в пределах  $\pm 10\%$ , следует интерпретировать осторожно. Такие образцы должны быть исследованы повторно в двух лунках набора «EQUI HBsAg». Если при повторном тестировании  $OD_{\text{sample}}$  снова находится в пределах  $\pm 10\%$  граничного значения, следует провести отбор и анализ нового образца.

\*\* Образцы со значением оптической плотности ниже граничного значения считаются отрицательными в ИФА-наборе «EQUI HBsAg». Однако результаты в пределах 10% ниже граничного значения следует интерпретировать с осторожностью (рекомендуется повторно исследовать такие образцы в двух лунках набора ИФА).

## 11. ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

### 11.1. Аналитические характеристики

#### Прецизионность

*Воспроизводимость результатов в пределах одной постановки анализа (Intra assay repeatability)*

Коэффициент вариации (CV) для двух сывороток с разной концентрацией поверхностного антигена оценивали в 32 повторах на одной серии ИФА-наборов.

№ сыворотки	ОП <sub>ср</sub>	CV, %
2	1,809	3,3
45/15	0,922	3,7

*Воспроизводимость результатов между разными постановками анализа (Inter assay reproducibility)*

Коэффициент вариации (CV) для двух сывороток с разным уровнем специфических антител оценивали в течение 4 дней в 4 постановках анализа по 8 повторов в каждом анализе.

№ сыворотки	ОП <sub>ср</sub>	CV, %
2	1,827	5,6
45/15	0,936	5,8

### **Аналитическая чувствительность**

Предел чувствительности анализа по обнаружению поверхностного антигена вируса гепатита В определяли на Британском стандартном образце 07/288-010 для HBsAg (Национальный институт биологических стандартов Соединенного королевства, NIBSC) и подтверждали с использованием Третьего Международного Стандарта для HBsAg 12/226 (Third International Standard for HBsAg, производства NIBSC). Предел чувствительности ИФА-набора «EQUI HBsAg» составил 0,05 IU/ml (МЕ/мл).

### **Аналитическая специфичность**

На результат анализа не влияет присутствие в образце билирубина в концентрации до 0,1 mg/ml (172,3  $\mu$ mol/l), гемоглобина в концентрации до 5 mg/ml и триглицеридов в концентрации до 10 mg/ml (11,3 mmol/l).

### **11.2. Диагностические характеристики**

Для определения клинической чувствительности и специфичности наборов «EQUI HBsAg» использовали 57 образцов сывороток, полученных от пациентов с диагнозом гепатит В, и 294 образца сывороток клинически здоровых доноров (сероотрицательных по отношению к вирусу гепатита В). Кроме того, были использованы образцы из коммерческих панелей производства «SeraCare Life Sciences» (США). По результатам анализа клиническая чувствительность ИФА-набора составляет 100%, клиническая специфичность – 100%.

Исследование характеристик метода по сравнению с аналогичной коммерческой тест-системой проводилось на целевой группе беременных женщин (171 образец). Для выборки беременных женщин относительная специфичность составляла 100%, процент совпадения – 100%.

Положительная прогностическая ценность (PPV) ИФА-набора «EQUI HBsAg» составляет 100%, отрицательная прогностическая ценность (NPV) – 100%.

## **12. ОГРАНИЧЕНИЕ АНАЛИЗА**

Отрицательный результат в ИФА-наборе «EQUI HBsAg» показывает, что тестируемый образец не содержит HBsAg или его концентрация ниже 0,05 IU/ml (МЕ/мл). Поскольку образец может содержать HBsAg в очень низкой концентрации, отрицательный результат в ИФА-наборе «EQUI HBsAg» не позволяет полностью исключить инфицирование вирусом гепатита В.

Кроме того, в литературных источниках описаны некоторые примеры вирусного гепатита В (острого или хронического), когда в образце обнаруживалась вирусная ДНК при отсутствии HBsAg. В таких случаях полезным будет исследование образца на другие маркеры вирусного гепатита В, выявление ДНК и оценка биохимических показателей сыворотки крови пациента.

Для верификации специфичности реакции каждый положительный результат (согласно критериям интерпретации ИФА-набора «EQUI HBsAg») необходимо подтвердить в нейтрализационном ИФА с использованием комплекта реагентов «EQUI HBsAg Confirmation». Для корректной диагностики гепатита В рекомендуется провести исследование образца на наличие специфических антител классов IgM и IgG к HBcore антигену и антител к HBsAg (например, в ИФА-наборах «EQUI HBcore IgM», «EQUI HBcore IgG» и «EQUI anti-HBs», соответственно).

В целях нивелирования ложноположительных результатов, вызванных наличием в образцах сывороток крови человека антител, специфических к иммуноглобулинам мыши, в ИФА-наборе используется специальный блок-компонент, препятствующий формированию иммунных комплексов с антимышиными антителами (англ. НАМА) на твердой фазе.

### **13. ТРУДНОСТИ, КОТОРЫЕ МОГУТ ВОЗНИКНУТЬ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ИФА**

***Высокий фон в лунках всего планшета может возникнуть из-за:***

- загрязненного промывателя;
- низкого качества или загрязнения воды;
- использования плохо помытой посуды;
- использования дезинфицирующих средств, содержащих хлор;
- использования загрязненных наконечников;
- увеличения времени инкубации или изменения температурного режима.

***Высокий фон в отдельных рядах может быть связан с:***

- повторным внесением раствора ТМБ;
- загрязнением конуса автоматической пипетки раствором конъюгата;
- загрязнением одного из каналов промывателя.

***Полученное значение ОП положительного контроля ниже установленной границы, если:***

- неправильно приготовлен или не внесен один из реагентов (раствор конъюгата или раствор ТМБ);
- сокращено время инкубации на одном из этапов.

***Интенсивность окрашивания лунок не соответствует полученной оптической плотности.*** Это может свидетельствовать о смещенном оптическом луче.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Mahoney F.J. Update on Diagnosis, Management, and Prevention of Hepatitis B Virus Infection // *Clinical Microbiology Review* – 1999. – Vol.12, N 2 - P.351–366.
2. Maddrey W.C. Hepatitis B - an important public health issue // *Clin. Lab.* - 2001. - Vol. 47, N 1-2. - P.51-55.
3. Spradling P.R., Xing J., Williams R. et al. Immunity to Hepatitis B Virus (HBV) Infection Two Decades after Implementation of Universal Infant HBV Vaccination: Association of Detectable Residual Antibodies and Response to a Single HBV Challenge Dose // *Clinical and Vaccine Immunology.* - 2013. - Vol.20, N 4. - P.559–561.
4. Walsh K., Alexander G.J.M. Update on chronic viral hepatitis // *Postgraduate Medical Journal* - 2001. - V. 77. - P. 498-505.
5. Возіанова Ж.І. Вірусний гепатит В // *Інфекційні та паразитарні хвороби: В 3 т. – К.:»Здоров'я», 2001. т.1. – С.601-614.*
6. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Systematic review on hepatitis B and C prevalence in the EU/EEA. Stockholm: 2016.
7. CDC Hepatitis B Information // <https://www.cdc.gov/hepatitis/hbv/index.htm>.
8. World Health Organization (WHO). WHO guidelines on hepatitis B and C testing. Geneva: World Health Organization; 2017 // <http://www.who.int/hepatitis/publications/guidelines-hepatitis-c-b-testing/en/>
9. Regulation (EU) 2017/746 of the European Parliament and of the Council of 5 April 2017 on *in vitro* diagnostic medical devices and repealing Directive 98/79/EC and Commission Decision 2010/227/EU
10. Закон України «Про відходи» // *Відомості Верховної Ради України.* - 1998. - №36-37.
11. Наказ МОЗ України №325 від 08.06.2015 «Про затвердження Державних санітарно-протиепідемічних правил і норм щодо поводження з медичними відходами».
12. Постанова КМУ від 02 жовтня 2013р. №754 «Про затвердження технічного регламенту щодо медичних виробів для діагностики *in vitro*».
13. Hanna Tolonen, Kari Kuulasmaa, Tiina Laatikainen, Hermann Wolf and the European Health Risk Monitoring Project. Recommendation for indicators, international collaboration, protocol and manual of operations for chronic disease risk factor surveys Part 4.Storage and transfer of serum/plasma samples// Finnish National Public Health Institute 2002// [https://thl.fi/publications/ehrm/product2/part\\_iii4.htm](https://thl.fi/publications/ehrm/product2/part_iii4.htm)
14. Surveillance Guidelines for Measles, Rubella and Congenital Rubella Syndrome in the WHO European Region. Annex 3.Collection, storage and shipment of specimens for laboratory diagnosis and interpretation of results//Geneva: World Health Organization; 2012 Dec.

	Производитель
	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>
	Номер по каталогу
	Дата изготовления
	Использовать до
	Код партии
	Температурное ограничение
	Содержит достаточно для (n-) испытаний
	Предостережение, ознакомьтесь с сопроводительными документами
	Ознакомление с инструкцией по применению
	Беречь от прямых солнечных лучей
	Знак соответствия техническим регламентам

Редакция 8 от 21.09.2021г.

*С вопросами и пожеланиями по работе набора обращайтесь к производителю:*



ООО «Эквитестлаб»  
ул. Большая Васильковская 114, г. Киев, Украина, 03150

проспект Победы 60/2, г. Киев, Украина, 03057  
(адрес производства)

тел.: 0 (800)31-89-87, +38 (044)334-89-87,  
e-mail: [info@equitest.com.ua](mailto:info@equitest.com.ua), [www.equitest.com.ua](http://www.equitest.com.ua)

## СХЕМА ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА

Выдержать реагенты 30 min при температуре 18-25°C

Внести по 100 µl контролей и исследуемых образцов в лунки:  
A1 – [CONTROL+], B1, C1, D1 – [CONTROL-],  
E1 и в остальные лунки - исследуемые образцы

В лунки стрипов внести по 50 µl приготовленного 1:11 (1+10) раствора конъюгата.  
(фиолетовый цвет)

Заклеить стрипы пленкой, инкубировать **120 мин при температуре 37°C** и постоянном орбитальном перемешивании содержимого лунок со скоростью 300 об/мин

Промыть лунки 6 раз приготовленным 1:20 (1+19) промывным раствором TWEEN (300 µl в лунку)

В лунки стрипов внести по 100 µl [SOLN|TMB]

Инкубировать на протяжении **30 min в темноте при температуре 18-25°C**

В лунки стрипов внести по 100 µl [SOLN|STOP]  
(происходит изменение цвета с голубого на желтый)

## УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

$$\bar{Nc} = (Nc1 + Nc2 + Nc3)/3;$$

$$CO = \bar{Nc} + 0,07;$$

$\bar{Nc}$  - Среднее значение ОП 3-х [CONTROL-]

CO - Уровень граничного значения (Cut off)

## ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

$OD_{\text{sample}} \geq CO$	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ
$OD_{\text{sample}} < CO$	ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ

## Certificate of CE-Notification

This is to certify that, in accordance with the *In Vitro* Diagnostic Medical Device Directive 98/79/EC, **CEpartner4U BV** agrees to perform all duties and responsibilities as the Authorized Representative for

**Monocent Inc.**  
**9237 Eton Ave.,**  
**Chatsworth, CA 91311**  
**United States**

as stipulated and demanded by the aforementioned Directive. The Dutch Competent Authorities have accepted the manufacturer's medical device registrations by CEpartner4U as listed on the product list attached to the manufacturer's Declaration of Conformity:

**IVD devices were registered with the Dutch Competent Authority with registration number:**

IVD Devices groups:	Registration number:
CLIA Test Kits	NL-CA002-2020-50897
ELISA Test Kits	NL-CA002-2020-50898
IFA Test Kits	NL-CA002-2020-50899
Instruments	NL-CA002-2020-50900
PCR Test Kits	NL-CA002-2020-50901
Rapid Tests	NL-CA002-2020-50902
Serology Test Kits	NL-CA002-2020-50903

*see appendix*

The manufacturer has provided CEpartner4U with all necessary documentation, together with an appropriate Declaration of Conformity that the IVD medical devices fulfil the essential requirements of Directive 98/79/EC.

Issue date: 2022-10-31

This Certificate of CE-Notification is valid until May 26, 2025

  
R. Nusselder  
Sr. consultant CEpartner4U BV

**C e p a r t n e r 4 U**

Esdoornlaan13  
3951 DB Maarn NL  
tel: +31 (0)343 442 524  
[www.cepartner4u.nl](http://www.cepartner4u.nl)

Appendix

List of devices.

CLIA Device Group	Ref. No.	IVDD Risk class	IVDR Risk class	GMDN code	First CE-marking
<b>Allergy Assays</b>					
IgE	CL3-5055	Low Risk	C	30275	2020-04-14
<b>Thyroid Assays</b>					
T3	CL3-5028	Low Risk	C	30312	2020-04-14
T4	CL3-5029	Low Risk	C	30314	2020-04-14
TSH	CL2-5030	Low Risk	C	30318	2020-04-14
T3 Uptake	CL3-5072	Low Risk	C	30313	2020-04-14
FT3	CL3-5026	Low Risk	C	30309	2020-04-14
FT4	CL3-5027	Low Risk	C	30308	2020-04-14
Tg (Thyroglobulin)	CL3-5073	Low Risk	C	30490	2020-04-14
TBG	CL3-5074	Low Risk	C	30316	2020-04-14
Anti-Tg	CL3-5075	Low Risk	C	30490	2020-04-14
Anti-TPO	CL3-5076	Low Risk	C	30317	2020-04-14
Ultra-Sensitive TSH	CL2-5077	Low Risk	C	30318	2020-04-14
<b>Fertility Assays</b>					
LH	CL3-5006	Low Risk	C	38965	2020-04-14
FSH	CL3-5004	Low Risk	C	30322	2020-04-14
Prolactin	CL3-5008	Low Risk	C	30325	2020-04-14
hCG	CL2-5005	Low Risk	B	30513	2020-04-14
AMH	CL3-5069	Low Risk	C	43148	2020-04-14
Beta hCG	CL2-5055	Low Risk	B	30332	2020-04-14
HGH	CL3-5007	Low Risk	C	30333	2020-04-14
PAPP-A	CL3-5068	Low Risk	C	31533	2020-04-14
<b>Diabetes Assays</b>					
Insulin	CL2-5003	Low Risk	C	30338	2020-04-14
C-peptide	CL2-5002	Low Risk	C	30336	2020-04-14
<b>Tumor Markers Assays</b>					
AFP	CL3-5031	Low Risk	C	30295	2020-04-14
CEA	CL3-5036	Low Risk	C	30288	2020-04-14
Free Beta hCG	CL2-5037	Low Risk	C	30333	2020-04-14
Beta 2 Microglobulin	CL2-5032	Low Risk	C	30296	2020-04-14
NSE	CL2-5039	Low Risk	C	30301	2020-04-14
CA-12-5	CL3-5034	Low Risk	C	30283	2020-04-14
CA-19-9	CL2-5035	Low Risk	C	30280	2020-04-14
CA-15-3	CL2-5033	Low Risk	C	30279	2020-04-14
Ferritin	CL3-5001	Low Risk	C	30377	2020-04-14
Cyfra21-1	CL2-5079	Low Risk	C	44431	2020-04-14
Pro-GRP	CL2-5080	Low Risk	C	44438	2020-04-14
PAP	CL2-5081	Low Risk	C	34226	2020-04-14
<b>Steroid Assays</b>					
Progesterone	CL3-5021	Low Risk	C	30294	2020-04-14
Estradiol	CL3-5016	Low Risk	C	30321	2020-04-14
Testosterone	CL3-5022	Low Risk	C	30327	2020-04-14

<b>CLIA Device Group</b>	<b>Ref. No.</b>	<b>IVDD Risk class</b>	<b>IVDR Risk class</b>	<b>GMDN code</b>	<b>First CE-marking</b>
Free Testosterone	CL9-5023	Low Risk	C	30327	2020-04-14
Testosterone (Saliva)	CL9-5025	Low Risk	C	30327	2020-04-14
5a-Androstane-3a, 17b-diol Glucuronide (3a- Diol G)	CL9-5009	Low Risk	C	31533	2020-04-14
17 OH Progesterone	CL3-5010	Low Risk	C	30324	2020-04-14
Androstenedione	CL3-5070	Low Risk	C	30319	2020-04-14
Aldosterone	CL3-5011	Low Risk	C	31428	2020-04-14
Cortisol	CL3-5012	Low Risk	C	31394	2020-04-14
DHEA	CL3-5013	Low Risk	C	39894	2020-04-14
DHEA-S	CL3-5014	Low Risk	C	39894	2020-04-14
uE3	CL3-5041	Low Risk	C	30330	2020-04-14
Estriol (Saliva)	CL9-5018	Low Risk	C	30329	2020-04-14
Estrone (Saliva)	CL9-5019	Low Risk	C	33293	2020-04-14
Estrone	CL3-5020	Low Risk	C	33293	2020-04-14
Plasma Renin Activity (PRA)	CL9-5024	Low Risk	C	43444	2020-04-14
SHBG	CL3-5071	Low Risk	C	30326	2020-04-14
Procalcitonin	CL3-5067	Low Risk	C	12069016	2020-04-14
<b>Infectious Disease Assays</b>					
Digoxin	CL3-5059	Low Risk	C	30386	2020-04-14
hs-CRP	CL2-5060	Low Risk	C	30499	2020-04-14
CK-MB	CL3-5061	Low Risk	C	30499	2020-04-14
Myoglobin	CL3-5062	Low Risk	C	30264	2020-04-14
cTn I	CL2-5063	Low Risk	C	30266	2020-04-14
<b>Bone Metabolism</b>					
ACTH	CL3-5017	Low Risk	C	39005	2020-04-14
Calcitonin	CL3-5064	Low Risk	C	30342	2020-04-14
PTH	CL3-5065	Low Risk	C	30353	2020-04-14
Vitamin D	CL3-5066	Low Risk	C	30350	2020-04-14
<b>Autoimmune Disease</b>					
Cardiolipin IgA	CL2-5051	Low Risk	C	30475	2020-04-14
Cardiolipin IgG	CL2-5052	Low Risk	C	30475	2020-04-14
Cardiolipin IgM	CL2-5053	Low Risk	C	30475	2020-04-14
ds-DNA	CL2-5054	Low Risk	C	30458	2020-04-14
RF IgM	CL2-5114	Low Risk	C	30500	2020-04-14
B2GP1 IgA	CL2-5115	Low Risk	C	30478	2020-04-14
B2GP1 IgG	CL2-5116	Low Risk	C	30478	2020-04-14
B2GP1 IgM	CL2-5117	Low Risk	C	30478	2020-04-14
Thyroglobulin IgG	CL2-5118	Low Risk	C	30315	2020-04-14
Anti-CCP	CL2-5119	Low Risk	C	44202	2020-04-14
<b>Anemia Assays</b>					
Folate	CL3-5056	Low Risk	C	30378	2020-04-14
Vitamin B12	CL3-5057	Low Risk	C	30384	2020-04-14
Transferrin Soluble Receptor (sTfR)	CL3-5058	Low Risk	C	30253	2020-04-14
<b>NeoNatal Assays</b>					
Neonatal TSH	CL2-5078	Low Risk	C	30310	2020-04-14

CLIA Device Group	Ref. No.	IVDD Risk class	IVDR Risk class	GMDN code	First CE-marking
<b>Infectious Disease Assays</b>					
H. pylori IgA	CL2-5048	Low Risk	B	30691	2020-04-14
H. pylori IgG	CL2-5049	Low Risk	B	30691	2020-04-14
H. pylori IgM	CL2-5050	Low Risk	B	30691	2020-04-14
H. pylori IgG (Quantitative)	CL2-5082	Low Risk	B	30691	2020-04-14
H. pylori Antigen	CL2-5083	Low Risk	B	30691	2020-04-14
EBV VCA IgA	CL2-5084	Low Risk	D	30809	2020-04-14
EBV VCA IgG	CL2-5085	Low Risk	D	30809	2020-04-14
EBV VCA IgM	CL2-5086	Low Risk	D	30809	2020-04-14
EBV EA-D IgA	CL2-5087	Low Risk	D	30809	2020-04-14
EBV EA-D IgG	CL2-5088	Low Risk	D	30809	2020-04-14
EBV EA-D IgM	CL2-5089	Low Risk	D	30809	2020-04-14
EBNA IgA	CL2-5090	Low Risk	D	30808	2020-04-14
EBNA IgG	CL2-5091	Low Risk	D	30808	2020-04-14
EBNA IgM	CL2-5092	Low Risk	D	30808	2020-04-14
Measles IgG	CL2-5093	Low Risk	C	44019	2020-04-14
Measles IgM	CL2-5094	Low Risk	C	44019	2020-04-14
VZV IgG	CL2-5095	Low Risk	C	44027	2020-04-14
VZV IgM	CL2-5096	Low Risk	C	44027	2020-04-14
Mumps IgG	CL2-5097	Low Risk	C	33908	2020-04-14
Mumps IgM	CL2-5098	Low Risk	C	33908	2020-04-14
Dengue IgG	CL2-5099	Low Risk	C	32481	2020-04-14
Dengue IgM	CL2-5100	Low Risk	C	32481	2020-04-14
HSV 1/2 IgG	CL2-5101	Low Risk	C	40176	2020-04-14
HSV 1/2 IgM	CL2-5102	Low Risk	C	40176	2020-04-14
HSV 1 IgA	CL2-5103	Low Risk	C	38870	2020-04-14
HSV 1 IgG	CL2-5104	Low Risk	C	38870	2020-04-14
HSV 1 IgM	CL2-5105	Low Risk	C	38870	2020-04-14
HSV 2 IgA	CL2-5106	Low Risk	C	38875	2020-04-14
HSV 2 IgG	CL2-5107	Low Risk	C	38875	2020-04-14
HSV 2 IgM	CL2-5108	Low Risk	C	38875	2020-04-14

ELISA Device Group	Ref. No.	IVDD Risk class	IVDR Risk class	GMDN code	First CE-marking
<b>Allergy</b>					
Total Human IgE	EL1-1000, EL2-1000	Low Risk	B	30275	2020-04-14
Human Specific IgG	EL15-1001	Low Risk	C	44211	2020-04-14
Human Specific IgG4	EL15-1002	Low Risk	C	44211	2020-04-14
Histamine	EL30-1003	Low Risk	C	30274	2020-04-14
<b>Anemia</b>					
Vitamin B12	EL1-1007	Low Risk	B	30384	2020-04-14
Folate	EL1-1005	Low Risk	B	30378	2020-04-14
sTfR-Transferrin Soluble Receptor	EL3-1006	Low Risk	B	30253	2020-04-14
Ferritin	EL1-1004	Low Risk	B	30377	2020-04-14

# C e p a r t n e r 4 U

ELISA Device Group	Ref. No.	IVDD Risk class	IVDR Risk class	GMDN code	First CE-marking
Hepcidin	EL1-1008	Low Risk	B	12070190	2020-04-14
<b>Autoimmune Disease</b>					
Anti-CCP	EL2-1011	Low Risk	B	44202	2020-04-14
Anti-CP IgG	EL20-1288	Low Risk	B	44202	2020-04-14
Beta 2 Glycoprotein 1 IgA	EL2-1017	Low Risk	B	30478	2020-04-14
Beta 2 Glycoprotein 1 IgG	EL2-1018	Low Risk	B	30478	2020-04-14
Beta 2 Glycoprotein 1 IgM	EL2-1019	Low Risk	B	30478	2020-04-14
Anti-Tissue Transglutaminase IgG	EL20-1015	Low Risk	C	44385	2020-04-14
Anti-Tissue Transglutaminase IgA	EL20-1014	Low Risk	C	44385	2020-04-14
ANA Screen IgG	EL1-1009	Low Risk	B	30454	2020-04-14
ENA IgG Profile-6	EL10-1024	Low Risk	B	30455	2020-04-14
ENA Screen IgG	EL20-1025	Low Risk	B	30455	2020-04-14
Rheumatoid Factor (RF) IgA	EL15-1034	Low Risk	B	30500	2020-04-14
Rheumatoid Factor (RF) IgG	EL15-1035	Low Risk	B	30500	2020-04-14
Rheumatoid Factor (RF) IgM	EL2-1038	Low Risk	B	30500	2020-04-14
Sm/RNP IgG	EL1-1040	Low Risk	B	30464	2020-04-14
Sm IgG	EL1-1041	Low Risk	B	17276	2020-04-14
Jo-1 IgG	EL21-1029	Low Risk	C	30461	2020-04-14
Scl-70 IgG	EL1-1039	Low Risk	B	30463	2020-04-14
SS-A (Ro)	EL1-1042	Low Risk	B	44202	2020-04-14
SS-B (La)	EL1-1043	Low Risk	B	44202	2020-04-14
dsDNA	EL1-1023	Low Risk	B	30458	2020-04-14
Cardiolipin IgG	EL1-1021	Low Risk	C	30475	2020-04-14
Cardiolipin IgM	EL1-1022	Low Risk	C	30475	2020-04-14
Cardiolipin IgA	EL1-1020	Low Risk	C	30475	2020-04-14
Cardiolipin Total Ab	EL1-1044	Low Risk	C	30475	2020-04-14
Mitochondrial Antibody (MA)	EL1-1031	Low Risk	C	30476	2020-04-14
Thyroglobulin Antigen (Anti-Tg)	EL3-1016	Low Risk	C	30315	2020-04-14
PR3 (c-ANCA)	EL20-1033	Low Risk	B	30484	2020-04-14
ANCA screen IgG	EL10-1010	Low Risk	B	30483	2020-04-14
MPO, Myeloperoxidase (p-ANCA)	EL20-1032	Low Risk	B	30483	2020-04-14
Gliadin IgG	EL36-1026	Low Risk	C	30480	2020-04-14
Gliadin IgA	EL36-1027	Low Risk	C	30480	2020-04-14
TPO	EL1-1012	Low Risk	C	30317	2020-04-14
Anti-Phospholipids Screen	EL20-1013	Low Risk	B	30582	2020-04-14
ASMA	EL29-1302	Low Risk	B	30274	2020-04-14
Beta-2-Glycoprotein IgA	EL2-1017	Low Risk	B	30478	2020-04-14
Beta-2-Glycoprotein IgG	EL2-1018	Low Risk	B	30478	2020-04-14
Beta-2-Glycoprotein IgM	EL2-1019	Low Risk	B	30478	2020-04-14
<b>Tumor markers</b>					
Prostatic Acid Phosphatase (PAP)	EL2-1289	Low Risk	C	34226	2020-04-14
Beta-2-Microglobulin	EL2-1277	Low Risk	C	30296	2020-04-14
AFP (Alpha Fetoprotein)	EL1-1276	Low Risk	C	43480	2020-04-14
CEA	EL1-1283	Low Risk	C	30288	2020-04-14
CA-15-3	EL1-1279	Low Risk	C	30279	2020-04-14
CA-12-5	EL1-1278	Low Risk	C	30283	2020-04-14

ELISA Device Group	Ref. No.	IVDD Risk class	IVDR Risk class	GMDN code	First CE-marking
CA-19-9	EL1-1280	Low Risk	C	30280	2020-04-14
NSE	EL2-1286	Low Risk	C	30301	2020-04-14
Free Beta HCG	EL1-1284	Low Risk	C	30333	2020-04-14
Pro-GRP (Gastrin-Releasing Peptide)	EL2-1290	Low Risk	C	44438	2020-04-14
Chromogranin A	EL1-1281	Low Risk	C	30289	2020-04-14
HE4	EL1-1306	Low Risk	C	30289	2020-04-14
Cyfra21-1	EL2-1034	Low Risk	C	30289	2020-04-14
<b>Bone Metabolism</b>					
Intact PTH	EL3-1048	Low Risk	C	30353	2020-04-14
25-OH Vitamin D	EL1-1045	Low Risk	B	30350	2020-04-14
ACTH	EL3-1046	Low Risk	C	39005	2020-04-14
<b>Cardiac</b>					
Digoxin	EL3-1051	Low Risk	C	30386	2020-04-14
CK-MB	EL3-1050	Low Risk	C	30499	2020-04-14
Troponin I	EL1-1054	Low Risk	C	30266	2020-04-14
Myoglobin	EL6-1053	Low Risk	C	30264	2020-04-14
C-Reactive Protein (CRP)	EL1-1049	Low Risk	C	30499	2020-04-14
<b>Diabetes</b>					
Insulin	EL1-1058	Low Risk	C	30338	2020-04-14
C-peptide	EL1-1055	Low Risk	C	30336	2020-04-14
Leptin	EL9-1059	Low Risk	B	12069017	2020-04-14
Adiponectin	EL9-1056	Low Risk	B	12069017	2020-04-14
(IGFBP-1) Insulin-Like Growth Factor Binding Protein-1	EL9-1057	Low Risk	B	42852	2020-04-14
Anti-GAD	EL8-1060	Low Risk	B	30340	2020-04-14
IAA	EL8-1061	Low Risk	B	30339	2020-04-14
IGF-1	EL8-1062	Low Risk	B	30361	2020-04-14
Pro-Insulin	EL1-1063	Low Risk	C	42852	2020-04-14
<b>Fertility</b>					
Human Growth Hormone (HGH)	EL1-1083	Low Risk	B	30333	2020-04-14
hCG Visual	EL6-1082	Low Risk	B	30513	2020-04-14
Beta hCG (Total)	EL2-1078	Low Risk	B	30332	2020-04-14
FSH	EL1-1080	Low Risk	B	31533	2020-04-14
LH	EL1-1084	Low Risk	B	38246	2020-04-14
Prolactin	EL1-1086	Low Risk	B	30325	2020-04-14
PAPP-A	EL3-1085	Low Risk	B	31533	2020-04-14
SHBG	EL3-1261	Low Risk	B	30326	2020-04-14
AMH	EL3-1079	Low Risk	B	43148	2020-04-14
hCG	EL1-1081	Low Risk	B	30332	2020-04-14
Sperm Ab	EL8-1087	Low Risk	B	30486	2020-04-14
<b>Infectious Diseases</b>					
Adenovirus IgG	EL15-1102	Low Risk	C	39468	2020-04-14
Adenovirus IgA	EL15-1101	Low Risk	C	39468	2020-04-14
Adenovirus IgM	EL15-1103	Low Risk	C	39468	2020-04-14
Influenza A IgA	EL15-1365	Low Risk	B	39463	2020-04-14
Influenza A IgG	EL15-1366	Low Risk	B	39463	2020-04-14

ELISA Device Group	Ref. No.	IVDD Risk class	IVDR Risk class	GMDN code	First CE-marking
Influenza A IgM	EL15-1367	Low Risk	B	39463	2020-04-14
Influenza B IgA	EL15-1368	Low Risk	B	39463	2020-04-14
Influenza B IgG	EL15-1369	Low Risk	B	39463	2020-04-14
Influenza B IgM	EL15-1370	Low Risk	B	39463	2020-04-14
Chikungunya IgG	EL4-1114	Low Risk	D	32481	2020-04-14
Chikungunya IgM	EL4-1113	Low Risk	D	32481	2020-04-14
COVID-19 IgA	EL45-1373	Low Risk	D	42994	2020-04-14
COVID-19 IgG	EL1-1360	Low Risk	D	42994	2020-04-14
COVID-19 IgM	EL1-1361	Low Risk	D	42994	2020-04-14
COVID-19 IgG	EL36-1360R	Low Risk	D	42994	2020-04-14
COVID-19 IgM	EL36-1361R	Low Risk	D	42994	2020-04-14
COVID-19 IgG	EL45-1360	Low Risk	D	42994	2020-04-14
COVID-19 IgM	EL45-1361	Low Risk	D	42994	2020-04-14
COVID-19 Total Ab	EL45-1379	Low Risk	D	42994	2020-12-06
Mycobacterium Tuberculosis (TB) IgA	EL15-1317	Low Risk	C	30635	2020-04-14
Mycobacterium Tuberculosis (TB) IgG	EL15-1201	Low Risk	C	30635	2020-04-14
Mycobacterium Tuberculosis (TB) IgM	EL15-1202	Low Risk	C	30635	2020-04-14
Herpes Simplex 1 IgG (HSV1 IgA)	EL2-1162	Low Risk	C	38870	2020-04-14
Herpes Simplex 1 IgG (HSV1 IgG)	EL1-1163	Low Risk	C	38870	2020-04-14
Herpes Simplex 1 IgM (HSV1 IgM)	EL1-1164	Low Risk	C	38870	2020-04-14
Herpes Simplex 2 IgG (HSV2 IgG)	EL1-1165	Low Risk	C	38875	2020-04-14
Herpes Simplex 2 IgM (HSV2 IgM)	EL1-1166	Low Risk	C	38875	2020-04-14
Herpes Simplex 1,2 IgG (HSV1,2 IgG)	EL1-1167	Low Risk	C	40176	2020-04-14
Herpes Simplex 1,2 IgM (HSV1,2 IgM)	EL1-1168	Low Risk	C	40176	2020-04-14
Epstein Barr Virus VCA IgA (EBV, VCA IgA)	EL2-1135	Low Risk	D	30809	2020-04-14
Epstein Barr Virus VCA IgG (EBV, VCA IgG)	EL1-1136	Low Risk	D	30809	2020-04-14
Epstein Barr Virus VCA IgM (EBV, VCA IgM)	EL1-1137	Low Risk	D	30809	2020-04-14
Epstein Barr Virus Early Antigen (EA) IgM	EL2-1134	Low Risk	D	30809	2020-04-14
Epstein Barr Virus Early Antigen (EA) IgG	EL2-1133	Low Risk	D	30809	2020-04-14
Epstein Barr Virus Early Antigen (EA) IgA	EL2-1132	Low Risk	D	30809	2020-04-14
Epstein Barr Virus Nuclear Antigen (EBNA) IgG	EL2-1130	Low Risk	D	30808	2020-04-14
Epstein Barr Virus Nuclear Antigen (EBNA) IgM	EL2-1131	Low Risk	D	30808	2020-04-14
Epstein Barr Virus Nuclear Antigen (EBNA) IgA	EL2-1129	Low Risk	D	30808	2020-04-14
Measles IgG	EL1-1177	Low Risk	C	44019	2020-04-14
Measles IgM	EL1-1178	Low Risk	C	44019	2020-04-14
Mumps IgG	EL1-1179	Low Risk	C	33908	2020-04-14
Mumps IgM	EL1-1180	Low Risk	C	33908	2020-04-14
Mycoplasma pneumonia IgG	EL1-1181	Low Risk	C	30657	2020-04-14
Mycoplasma pneumonia IgM	EL1-1182	Low Risk	C	30657	2020-04-14
Syphilis (TPA) IgG	EL1-1195	Low Risk	C	30685	2020-04-14
Syphilis (TPA) IgM	EL1-1197	Low Risk	C	30685	2020-04-14
Legionela urine Ag detection	EL16-1175	Low Risk	C	30692	2020-04-14
H. pylori IgG	EL1-1140	Low Risk	B	30691	2020-04-14
H. pylori IgA	EL1-1139	Low Risk	B	30691	2020-04-14
H-Pylori IgM	EL1-1141	Low Risk	B	30691	2020-04-14
H. pylori Antigen	EL2-1138,	Low Risk	B	30691	2020-04-14

ELISA Device Group	Ref. No.	IVDD Risk class	IVDR Risk class	GMDN code	First CE-marking
	EL32-1138				
Varicella-Zoster IgG	EL1-1209	Low Risk	C	44027	2020-04-14
Varicella-Zoster IgM	EL1-1210	Low Risk	C	44027	2020-04-14
HEV IgG	EL13-1156	Low Risk	C	30757	2020-04-14
HEV IgM	EL13-1161	Low Risk	C	30758	2020-04-14
HAV Ab	EL7-1142	Low Risk	C	30721	2020-04-14
HAV IgM	EL7-1143	Low Risk	C	30722	2020-04-14
HDV IgG	EL7-1153	Low Risk	D	30750	2020-04-14
HDV IgM	EL7-1155	Low Risk	D	30752	2020-04-14
HDV Ab	EL13-1315	Low Risk	D	30750	2020-04-14
HDV Ag	EL13-1316, EL7-1154	Low Risk	D	30747	2020-04-14
HTLV 1 + 2 Ab	EL7-1160	Low Risk	C	30789	2020-04-14
Lyme Disease IgG	EL10-1171	Low Risk	C	30697	2020-04-14
Lyme Disease IgM	EL10-1172	Low Risk	C	30697	2020-04-14
Lyme Disease IgG, M	EL10-1173	Low Risk	C	30697	2020-04-14
Bordetella Pertussis IgA	EL15-1110	Low Risk	C	37723	2020-04-14
Bordetella Pertussis IgG	EL15-1111	Low Risk	C	37723	2020-04-14
Bordetella Pertussis IgM	EL15-1112	Low Risk	C	37723	2020-04-14
RSV IgA	EL15-1186	Low Risk	B	30814	2020-04-14
RSV IgG	EL15-1187	Low Risk	B	30814	2020-04-14
RSV IgM	EL15-1188	Low Risk	B	30814	2020-04-14
Tetanus	EL5-1205	Low Risk	C	38876	2020-04-14
Diphtheria IgG	EL5-1124	Low Risk	D	33499	2020-04-14
Salmonella typhi IgG	EL1-1193	Low Risk	C	30709	2020-04-14
Salmonella typhi IgM	EL1-1194	Low Risk	C	30709	2020-04-14
Salmonella Antigen detection	EL4-1192	Low Risk	C	30709	2020-04-14
Anthrax IgG	EL1-1105	Low Risk	C	32481	2020-04-14
Babesia IgG	EL4-1109	Low Risk	C	32481	2020-04-14
Dengue IgM	EL5-1127	Low Risk	C	32481	2020-04-14
Dengue IgG/IgM	EL5-1125	Low Risk	C	32481	2020-04-14
Dengue IgG	EL5-1126	Low Risk	C	32481	2020-04-14
Dengue NS1 Antigen	EL4-1128	Low Risk	C	32481	2020-04-14
Japanese Encephalitis IgG	EL4-1169	Low Risk	C	44321	2020-04-14
Japanese Encephalitis IgM	EL4-1170	Low Risk	C	44321	2020-04-14
Leprosy IgG/IgM	EL4-1176	Low Risk	C	32481	2020-04-14
Parvovirus B19 IgG	EL30-1183	Low Risk	C	40443	2020-04-14
Parvovirus B19 IgM	EL30-1184	Low Risk	C	40444	2020-04-14
Rotavirus (fecal)	EL16-1185	Low Risk	C	30815	2020-04-14
Scrub Typhus IgG	EL4-1199	Low Risk	C	44028	2020-04-14
Scrub Typhus IgM	EL4-1200	Low Risk	C	44028	2020-04-14
TB IgA	EL15-1317	Low Risk	C	30635	2020-04-14
TB IgG	EL15-1201	Low Risk	C	30635	2020-04-14
TB IgM	EL15-1202	Low Risk	C	30635	2020-04-14
Zika Virus IgG	EL1-1203	Low Risk	C	32481	2020-04-14
Zika Virus IgM	EL1-1204	Low Risk	C	32481	2020-04-14

ELISA Device Group	Ref. No.	IVDD Risk class	IVDR Risk class	GMDN code	First CE-marking
West Nile IgG	EL4-1211	Low Risk	C	42926	2020-04-14
West Nile IgM	EL4-1212	Low Risk	C	42926	2020-04-14
<b>Parasitology</b>					
Schistosoma IgG	EL5-1227	Low Risk	C	30824	2020-04-14
Chagas	EL5-1213	Low Risk	D	30820	2020-04-14
Cysticercosis IgG (T. solium)	EL5-1220	Low Risk	B	39979	2020-04-14
Campylobacter	EL16-1229	Low Risk	B	33948	2020-04-14
E. coli 0157 Ag detection	EL16-1232	Low Risk	B	37727	2020-04-14
E. histolytica IgG (Amebiasis)	EL5-1221	Low Risk	B	39979	2020-04-14
E. histolytica Dispar	EL16-1233	Low Risk	B	39979	2020-04-14
Echinococcus IgG	EL5-1222	Low Risk	B	30822	2020-04-14
Fasciola IgG	EL5-1216	Low Risk	B	34068	2020-04-14
Fasciola gigantica	EL5-1217	Low Risk	B	34068	2020-04-14
Filaria IgG4	EL4-1218	Low Risk	B	34068	2020-04-14
Leishmania	EL5-1223	Low Risk	C	30823	2020-04-14
Leptospira IgG	EL5-1224	Low Risk	C	30716	2020-04-14
Leptospira IgM	EL5-1226	Low Risk	C	30716	2020-04-14
Leptospira IgG/IgM	EL5-1225	Low Risk	C	30716	2020-04-14
Toxocara IgG	EL5-1228	Low Risk	C	34068	2020-04-14
Trichinella IgG	EL5-1215	Low Risk	C	33379	2020-04-14
Ascaris IgG	EL5-1219	Low Risk	B	39979	2020-04-14
Strongyloides IgG	EL5-1214	Low Risk	C	34068	2020-04-14
Crypto/Giardia Ag detection	EL16-1230	Low Risk	B	30675	2020-04-14
Cryptosporidium Ag detection	EL16-1231	Low Risk	B	30675	2020-04-14
Giardia antigen	EL16-1235	Low Risk	B	36173	2020-04-14
Giardia coprpantigen in stool	EL5-1361	Low Risk	B	36173	2020-04-14
Anti-Giardia IgA ELISA in saliva	EL5-1362	Low Risk	B	36173	2020-04-14
Entamoeba histolytica coproantigen in stool	EL5-1363	Low Risk	B	39979	2020-04-14
Adenovirus Antigen	EL16-1104	Low Risk	C	41274	2020-04-14
<b>Steroid</b>					
Aldosterone	EL3-1247	Low Risk	C	31428	2020-04-14
Cortisol	EL1-1249	Low Risk	C	31394	2020-04-14
Aldosterone	EL3-1247	Low Risk	B	31428	2020-04-14
Cortisol	EL1-1249	Low Risk	C	31394	2020-04-14
Cortisol Saliva	EL9-1250	Low Risk	C	31394	2020-04-14
Estradiol	EL1-1254	Low Risk	B	30321	2020-04-14
DHEA-S	EL1-1251	Low Risk	C	30320	2020-04-14
DHEA	EL3-1252	Low Risk	C	39894	2020-04-14
Progesterone	EL1-1259	Low Risk	C	30323	2020-04-14
Progesterone Saliva	EL9-1260	Low Risk	C	30294	2020-04-14
Testosterone	EL1-1263	Low Risk	B	30327	2020-04-14
Testosterone Saliva	EL9-1265	Low Risk	B	30327	2020-04-14
Free Testosterone	EL1-1264	Low Risk	B	30327	2020-04-14
Androstenedione	EL1-1248	Low Risk	C	30321	2020-04-14
Free Estriol	EL1-1257	Low Risk	B	30330	2020-04-14
Dihydrotestosterones (DHT)	EL9-1253	Low Risk	C	30327	2020-04-14

# C e p a r t n e r 4 U

ELISA Device Group	Ref. No.	IVDD Risk class	IVDR Risk class	GMDN code	First CE-marking
17-OH Progesterone	EL1-1245	Low Risk	C	30324	2020-04-14
5a-Androstane-3a, 17b-diol Glucuronide (3a- Diol G)	EL9-1246	Low Risk	C	31533	2020-04-14
Total Estrogen	EL9-1255	Low Risk	B	38858	2020-04-14
Estrone	EL3-1256	Low Risk	B	33293	2020-04-14
Pregnenolone	EL9-1258	Low Risk	B	33301	2020-04-14
Total Estriol	EL8-1266	Low Risk	B	30330	2020-04-14
<b>Thyroid</b>					
T3	EL1-1270	Low Risk	C	30314	2020-04-14
T4	EL1-1271	Low Risk	C	30312	2020-04-14
TSH	EL1-1273	Low Risk	C	30489	2020-04-14
U-TSH	EL6-1275	Low Risk	C	30489	2020-04-14
Free T4	EL1-1268	Low Risk	C	30308	2020-04-14
Free T3	EL1-1267	Low Risk	C	30309	2020-04-14
Reverse T3	EL9-1274	Low Risk	C	30311	2020-04-14
T Uptake	EL3-1269	Low Risk	C	30313	2020-04-14
Tg (Thyroglobulin)	EL1-1272	Low Risk	C	30490	2020-04-14
TBG (Thyroxine-Binding Globulin)	EL3-1262	Low Risk	C	30316	2020-04-14
<b>Neo-Natal Panel</b>					
Neo-Natal T4	EL1-1240	Low Risk	C	30273	2020-04-14
Neo-Natal TSH	EL1-1239	Low Risk	C	30310	2020-04-14
Neo-Natal TBG	EL3-1242	Low Risk	C	30316	2020-04-14
Neo-Natal 17-OH Progesterone	EL1-1236	Low Risk	C	30324	2020-04-14
Neo-Natal MSUD	EL1-1237	Low Risk	C	30273	2020-04-14
Neo-Natal PKU	EL1-1238	Low Risk	C	30273	2020-04-14
Neo-Natal IRT	EL1-1241	Low Risk	C	30273	2020-04-14
Neo-Natal Total Galactose	EL1-1243	Low Risk	C	30273	2020-04-14
G6PD	EL1-1303	Low Risk	C	30273	2020-04-14
Neo-Natal Biotinidase	EL1-1244	Low Risk	C	30273	2020-04-14
<b>Others</b>					
Procalcitonin	EL3-1309	Low Risk	C	12069016	2020-04-14
Calcitonin	EL3-1292	Low Risk	C	30342	2020-04-14
Renin	EL9-1300	Low Risk	B	43444	2020-04-14

IFA Device Group	Ref. No.	IVDD Risk class	IVDR Risk class	GMDN code	First CE-marking
<b>Autoimmune Diseases and others</b>					
ANA Rat Liver IFA Kit	IF17-4002, IF17-4019	Low Risk	C	41420	2020-04-14
ANA Mouse Kidney IFA Kit	IF17-4003	Low Risk	C	41420	2020-04-14
ANA Hep-2 IFA Kit	IF17-4004, IF17-4005, IF17-4018	Low Risk	C	17269	2020-04-14
AMA IFA Kit	IF17-4022, IF17-4023	Low Risk	C	17267	2020-04-14
AAS Rat Kidney Stomach Liver Tissue	IF17-4000	Low Risk	C	30274	2020-04-14

IFA Device Group	Ref. No.	IVDD Risk class	IVDR Risk class	GMDN code	First CE-marking
ASMA IFA Kit	IF17-4006, IF17-4015	Low Risk	C	30274	2020-04-14
ATA IFA Kit	IF17-4030, IF174031	Low Risk	C	30274	2020-04-14
ASA IFA Kit	IF17-4008, IF17-4034	Low Risk	C	30274	2020-04-14
nDNA IFA Kit	IF17-4007, IF17-4051, IF17-4052	Low Risk	C	30274	2020-04-14
Endomysial (Primate Endomysial)	IF17-4032, IF17-4033	Low Risk	C	12109016	2020-04-14
Anti-Reticulin IgA	IF17-4041, IF17-4042	Low Risk	C	30526	2020-04-14
Anti-Reticulin IgG	IF17-4043, IF17-4044	Low Risk	C	30526	2020-04-14
C-ANCA	IF17-4059	Low Risk	C	30484	2020-04-14
P-ANCA	IF17-4060	Low Risk	C	30483	2020-04-14
<b>Bacterial Diseases</b>					
Legionella pneumophila 1-6 IFA Poly (HT)	IF17-4063, IF17-4064	Low Risk	C	30694	2020-04-14
Legionella pneumophila 1-6/bdglmj/C Specimen	IF17-4061	Low Risk	C	30694	2020-04-14
Legionella pneumophila 1-6/bdglmj DFA Screen	IF17-4062	Low Risk	C	30694	2020-04-14
FTA-ABS Double Stain (Syphilis) IFA Kit	IF17-4013, IF17-4066	Low Risk	C	32455	2020-04-14
FTA-ABS (T. pallidum)	IF17-4012, IF17-4067	Low Risk	C	32455	2020-04-14
FTA-ABS (Syphilis) Titrable IFA Kit	IF17-4014	Low Risk	C	32455	2020-04-14
<b>Viral diseases</b>					
HSV-1 IgG IFA Kit	IF17-4016	Low Risk	C	39502	2020-04-14
HSV-2 IgG IFA Kit	IF17-4080	Low Risk	C	39502	2020-04-14
HSV-1 IgM IFA Kit	IF17-4017	Low Risk	C	39502	2020-04-14
HSV-2 IgM IFA Kit	IF17-4081	Low Risk	C	39502	2020-04-14
HSV 1&2 IgG	IF17-4078	Low Risk	C	39502	2020-04-14
HSV 1&2 IgM	IF17-4079	Low Risk	C	39502	2020-04-14
EBV-VCA IgG IFA Kit	IF17-4074	Low Risk	C	33971	2020-04-14
EBV-VCA IgM IFA Kit	IF17-4075	Low Risk	C	33971	2020-04-14
EBV-EA IFA Kit	IF17-4077	Low Risk	C	33971	2020-04-14
EBNA IFA Kit	IF17-4076	Low Risk	C	33971	2020-04-14
RMSF Rocky Mountain Spotted Fever (R. rickettsii)	IF17-4065	Low Risk	C	32473	2020-04-14
Measles IgG IFA Kit	IF17-4092	Low Risk	C	44019	2020-04-14
Measles IgM IFA Kit	IF17-4093	Low Risk	C	44019	2020-04-14
Mumps IgG IFA Kit	IF17-4094	Low Risk	C	33908	2020-04-14
Mumps IgM IFA Kit	IF17-4095	Low Risk	C	33908	2020-04-14
RSV IgG (Respiratory Syncytial Virus)	IF17-4096	Low Risk	C	30814	2020-04-14

IFA Device Group	Ref. No.	IVDD Risk class	IVDR Risk class	GMDN code	First CE-marking
RSV IgM (Respiratory Syncytial Virus)	IF17-4097	Low Risk	C	30814	2020-04-14
Varicella-Zoster Virus IgG IFA Kit	IF17-4098	Low Risk	C	44027	2020-04-14
Varicella-Zoster Virus IgM IFA Kit	IF17-4099	Low Risk	C	44027	2020-04-14
West Nile Virus IgG	IF17-4100	Low Risk	C	42926	2020-04-14
West Nile Virus IgG	IF17-4101	Low Risk	C	42926	2020-04-14

RT-PCR	Ref. No.	IVDD Risk class	IVDR Risk class	GMDN code	First CE-marking
SARS-CoV-2	PR31-8000	Low Risk	D	42994	2020-04-14
SARS-CoV-2	PR4-8000	Low Risk	D	42994	2020-04-14
SARS-CoV-2 pap-PCR	PR45-8000	Low Risk	D	42994	2020-12-06
SARS-CoV-2/Flu/RSV RT-PCR	PR31-8001	Low Risk	D	42994	2020-12-06

Rapid Tests Device Group	Ref. No.	IVDD Risk class	IVDR Risk class	GMDN code	First CE-marking
<b>Tumor Markers Tests</b>					
FOB Cassette	RT27-2182	Low Risk	C	38217	2020-04-14
FOB Strip	RT27-2181	Low Risk	C	38217	2020-04-14
CEA	RT27-2180	Low Risk	C	30288	2020-04-14
AFP	RT27-2179	Low Risk	C	30295	2020-04-14
<b>Cardiac markers</b>					
CK-MB Cassette (Serum/Plasma/Whole Blood)	RT27-2001	Low Risk	C	30499	2020-04-14
C-Reactive Protein (CRP) Cassette (Serum/Plasma/Whole Blood)	RT27-2003	Low Risk	C	30507	2020-04-14
C-Reactive Protein (CRP) Strip (Serum/Plasma/Whole Blood)	RT27-2002	Low Risk	C	30507	2020-04-14
D-Dimer Cassette (Plasma/Whole Blood)	RT27-2004	Low Risk	C	30576	2020-04-14
Myoglobin Cassette (Serum/Plasma/Whole Blood)	RT27-2005	Low Risk	C	30264	2020-04-14
Troponin I Cassette (Serum/Plasma/Whole Blood)	RT27-2007	Low Risk	C	30509	2020-04-14
3 in 1 Troponin I/Myoglobin/CKMB Cassette (Serum/Plasma/Whole Blood)	RT27-2006	Low Risk	C	42649	2020-04-14
<b>Drug Test</b>					
Alcohol Urine Strip	RT27-2010	Low Risk	B	30443	2020-04-14
Alcohol Saliva Strip	RT27-2009	Low Risk	B	30443	2020-04-14
Amphetamine Urine Cassette	RT27-2012	Low Risk	C	30516	2020-04-14
Amphetamine Urine Strip	RT27-2011	Low Risk	C	30516	2020-04-14
Barbiturates Urine Cassette	RT27-2014	Low Risk	C	30517	2020-04-14
Barbiturates Urine Strip	RT27-2013	Low Risk	C	30517	2020-04-14
Buprenorphine Urine Cassette	RT27-2016	Low Risk	C	31584	2020-04-14
Buprenorphine Urine Strip	RT27-2015	Low Risk	C	31584	2020-04-14
Benzodiazepine Urine Cassette	RT27-2018	Low Risk	C	30518	2020-04-14
Benzodiazepine Urine Strip	RT27-2017	Low Risk	C	30518	2020-04-14
Cocaine Urine Cassette	RT27-2022	Low Risk	C	30520	2020-04-14
Cocaine Urine Strip	RT27-2021	Low Risk	C	30520	2020-04-14

Rapid Tests Device Group	Ref. No.	IVDD Risk class	IVDR Risk class	GMDN code	First CE-marking
Cotinine Cassette	RT27-2024	Low Risk	C	37270	2020-04-14
Cotinine Strip	RT27-2023	Low Risk	C	37270	2020-04-14
EDDP Urine Cassette	RT27-2028	Low Risk	C	30521	2020-04-14
EDDP Urine Strip	RT27-2027	Low Risk	C	30521	2020-04-14
Fentanyl Urine Cassette	RT27-2030	Low Risk	C	31582	2020-04-14
Fentanyl Urine Strip	RT27-2029	Low Risk	C	31582	2020-04-14
Ketamine Urine Cassette	RT27-2032	Low Risk	C	31582	2020-04-14
Ketamine Urine Strip	RT27-2031	Low Risk	C	31582	2020-04-14
MDMA(Ecstasy) Cassette	RT27-2038	Low Risk	C	30423	2020-04-14
MDMA(Ecstasy) Strip	RT27-2037	Low Risk	C	30423	2020-04-14
Methadone (MTD) Urine Urine Cassette	RT27-2040	Low Risk	C	30521	2020-04-14
Methadone (MTD) Urine Urine Strip	RT27-2039	Low Risk	C	30521	2020-04-14
Methamphetamine Urine Cassette	RT27-2042	Low Risk	C	30423	2020-04-14
Methamphetamine Urine Strip	RT27-2041	Low Risk	C	30423	2020-04-14
Marijuana (THC) Urine Cassette	RT27-2057	Low Risk	C	30519	2020-04-14
Marijuana (THC) Urine Strip	RT27-2056	Low Risk	C	30519	2020-04-14
Opiates Urine Cassette	RT27-2044	Low Risk	C	30522	2020-04-14
Opiates Urine Strip	RT27-2043	Low Risk	C	30522	2020-04-14
Oxycodone Urine Cassette	RT27-2047	Low Risk	C	31584	2020-04-14
Oxycodone Urine Strip	RT27-2046	Low Risk	C	31584	2020-04-14
Phencyclidine (PCP) Urine Cassette	RT27-2049	Low Risk	C	30523	2020-04-14
Phencyclidine (PCP) Urine Strip	RT27-2048	Low Risk	C	30435	2020-04-14
Tricyclic Antidepressants (TCA) Cassette	RT27-2055	Low Risk	C	30524	2020-04-14
Tricyclic Antidepressants (TCA) Strip	RT27-2054	Low Risk	C	30523	2020-04-14
Tramadol Urine Cassette	RT27-2059	Low Risk	C	31582	2020-04-14
Tramadol Urine Strip	RT27-2058	Low Risk	C	31582	2020-04-14
2-Drug Cassette (Any Combination)	RT27-2060	Low Risk	C	30261	2020-04-14
3-Drug Cassette (Any Combination)	RT27-2061	Low Risk	C	30261	2020-04-14
4-Drug Cassette (Any Combination)	RT27-2062	Low Risk	C	30261	2020-04-14
5-Drug Cassette (Any Combination)	RT27-2063	Low Risk	C	30261	2020-04-14
6-Drug Cassette (Any Combination)	RT27-2064	Low Risk	C	30261	2020-04-14
7-Drug Cassette (Any Combination)	RT27-2065	Low Risk	C	30261	2020-04-14
8-Drug Cassette (Any Combination)	RT27-2066	Low Risk	C	30261	2020-04-14
9-Drug Cassette (Any Combination)	RT27-2067	Low Risk	C	30261	2020-04-14
10-Drug Cassette (Any Combination)	RT27-2068	Low Risk	C	30261	2020-04-14
11-Drug Cassette (Any Combination)	RT27-2069	Low Risk	C	30261	2020-04-14
12-Drug Cassette (Any Combination)	RT27-2070	Low Risk	C	30261	2020-04-14
2-Drug Strip (Any Combination)	RT27-2071	Low Risk	C	30261	2020-04-14
3-Drug Strip (Any Combination)	RT27-2072	Low Risk	C	30261	2020-04-14
4-Drug Strip (Any Combination)	RT27-2073	Low Risk	C	30261	2020-04-14
5-Drug Strip (Any Combination)	RT27-2074	Low Risk	C	30261	2020-04-14
6-Drug Strip (Any Combination)	RT27-2075	Low Risk	C	30261	2020-04-14
7-Drug Strip (Any Combination)	RT27-2076	Low Risk	C	30261	2020-04-14
8-Drug Strip (Any Combination)	RT27-2077	Low Risk	C	30261	2020-04-14
9-Drug Strip (Any Combination)	RT27-2078	Low Risk	C	30261	2020-04-14
10-Drug Strip (Any Combination)	RT27-2079	Low Risk	C	30261	2020-04-14

# C e p a r t n e r 4 U

Rapid Tests Device Group	Ref. No.	IVDD Risk class	IVDR Risk class	GMDN code	First CE-marking
11-Drug Strip (Any Combination)	RT27-2080	Low Risk	C	30261	2020-04-14
12-Drug Strip (Any Combination)	RT27-2081	Low Risk	C	30261	2020-04-14
<b>Drug Test/Cup</b>					
2-Drug Cup (Any Combination)	RT27-2082	Low Risk	C	30261	2020-04-14
3-Drug Cup (Any Combination)	RT27-2083	Low Risk	C	30261	2020-04-14
4-Drug Cup (Any Combination)	RT27-2084	Low Risk	C	30261	2020-04-14
5-Drug Cup (Any Combination)	RT27-2085	Low Risk	C	30261	2020-04-14
6-Drug Cup (Any Combination)	RT27-2086	Low Risk	C	30261	2020-04-14
7-Drug Cup (Any Combination)	RT27-2087	Low Risk	C	30261	2020-04-14
8-Drug Cup (Any Combination)	RT27-2088	Low Risk	C	30261	2020-04-14
9-Drug Cup (Any Combination)	RT27-2089	Low Risk	C	30261	2020-04-14
10-Drug Cup (Any Combination)	RT27-2090	Low Risk	C	30261	2020-04-14
11-Drug Cup (Any Combination)	RT27-2091	Low Risk	C	30261	2020-04-14
12-Drug Cup (Any Combination)	RT27-2092	Low Risk	C	30261	2020-04-14
<b>Infectious Diseases and others</b>					
Legionella Urinary Antigen Cassette	RT27-2147	Low Risk	C	30692	2020-04-14
Legionella Urinary Antigen Strip	RT27-2146	Low Risk	C	30692	2020-04-14
Adeno/Rotavirus Antigen Cassette	RT27-2131	Low Risk	C	42994	2020-04-14
Adeno Antigen Cassette	RT27-2132	Low Risk	C	42994	2020-04-14
Rotavirus Antigen Cassette	RT27-2161	Low Risk	C	30815	2020-04-14
Chagas Cassette	RT27-2133	Low Risk	C	30820	2020-04-14
Chikungunya IgG/IgM Cassette	RT27-2135	Low Risk	C	42994	2020-04-14
Gonorrhoea Cassette	RT27-2140	Low Risk	C	38851	2020-04-14
Influenza A&B Cassette	RT27-2145	Low Risk	C	39466	2020-04-14
Leishmania IgG/IgM Cassette	RT27-2149	Low Risk	C	30823	2020-04-14
Leishmania Cutaneous Strip	RT27-2148	Low Risk	C	30823	2020-04-14
Leptospira IgG/IgM	RT27-2150	Low Risk	C	30716	2020-04-14
Syphilis Cassette	RT27-2172	Low Risk	C	30687	2020-04-14
Syphilis Strip	RT27-2173, RT24-2173	Low Risk	C	30687	2020-04-14
Mononucleosis Cassette (Mono) (S/P)	RT27-2177	Low Risk	C	30826	2020-04-14
Strep A Cassette	RT27-2169	Low Risk	C	30826	2020-04-14
Strep A Strip	RT27-2168	Low Risk	C	30826	2020-04-14
Strep B Cassette	RT27-2171	Low Risk	C	30827	2020-04-14
Strep B Strip	RT27-2170	Low Risk	C	30827	2020-04-14
H1N1 Strip	RT40-2209	Low Risk	C	39461	2020-04-14
H. Pylori Ab Cassette (Serum/Plasma)	RT27-2141	Low Risk	B	30825	2020-04-14
H. Pylori Ab Cassette (Serum/Plasma/Whole Blood)	RT27-2142, RT24-2142	Low Risk	B	30825	2020-04-14
H. Pylori Antigen Cassette	RT27-2143, RT24-2203	Low Risk	B	30689	2020-04-14
HAV IgM	RT27-2108	Low Risk	C	30720	2020-04-14
Dengue IgG&IgM	RT27-2138, RT24-2197	Low Risk	C	42994	2020-04-14
Dengue NS1	RT24-2139	Low Risk	C	42994	2020-04-14
Dengue IgG/IgM/NS1	RT24-2208	Low Risk	C	42994	2020-04-14

Rapid Tests Device Group	Ref. No.	IVDD Risk class	IVDR Risk class	GMDN code	First CE-marking
Malaria P.f./Pv	RT24-2204	Low Risk	C	30674	2020-04-14
Malaria Pan	RT24-2206	Low Risk	C	30674	2020-04-14
Malaria P.f./Pan	RT24-2205, RT27-2154	Low Risk	C	30674	2020-04-14
Malaria P.f. Cassette	RT24-2207, RT27-2151	Low Risk	C	30674	2020-04-14
Malaria P.f. Strip	RT27-2152	Low Risk	C	30674	2020-04-14
Malaria P.f./vivax	RT27-2153	Low Risk	C	30674	2020-04-14
Norovirus	RT27-2156	Low Risk	C	32459	2020-04-14
Salmonella typhi Antigen Cassette	RT27-2163	Low Risk	C	30709	2020-04-14
Salmonella typhi IgG/IgM Cassette	RT27-2164	Low Risk	C	30709	2020-04-14
Salmonella typhi/paratyphi antigen	RT27-2165	Low Risk	C	30709	2020-04-14
Scrub typhus IgG Strip	RT4-2166	Low Risk	C	30717	2020-04-14
Scrub typhus IgM Strip	RT4-2167	Low Risk	C	30717	2020-04-14
Zika Virus IgG/IgM Cassette	RT27-2178	Low Risk	C	42994	2020-04-14
COVID-19 IgG/IgM	RT24-2198, RT28-2198, RT45-2198	Low Risk	D	44022	2020-04-14
SARS-CoV2 Antigen Rapid Test	RT45-2214	Low Risk	D	44022	2020-08-24
Tuberculosis (TB) Cassette	RT27-2175	Low Risk	C	44020	2020-04-14
Tuberculosis (TB) Strip	RT27-2174	Low Risk	C	44020	2020-04-14
HEV IgG/IgM	RT27-2119	Low Risk	D	30756	2020-04-14
Cryptococcus Ag	RT27-2137	Low Risk	C	37746	2020-04-14
Hantavirus IgG/IgM	RT27-2144	Low Risk	C	15048014	2020-04-14
Mycoplasma pneumoniae Ag	RT27-2155	Low Risk	C	17311	2020-04-14
Rickettsia IgG/IgM	RT24-2160	Low Risk	C	30717	2020-04-14
RSV	RT27-2162	Low Risk	C	30814	2020-04-14
Tetanus	RT27-2176	Low Risk	C	38876	2020-04-14
<b>Fertility</b>					
FSH Urine Cassette	RT27-2094	Low Risk	B	30512	2020-04-14
FSH Urine Strip	RT27-2093	Low Risk	B	30512	2020-04-14
<b>Ovulation</b>					
LH Urine Cassette	RT27-2106	Low Risk	B	30515	2020-04-14
LH Urine Strip	RT27-2105	Low Risk	B	30515	2020-04-14
<b>Pregnancy</b>					
hCG 10 mIU/ml Midstream	RT27-2099	Low Risk	B	30513	2020-04-14
hCG 20 mIU/ml Midstream	RT27-2102	Low Risk	B	30513	2020-04-14
hCG 10mIU/ml urine Cassette	RT27-2095	Low Risk	B	30513	2020-04-14
hCG 10mIU/ml urine Strip	RT27-2097	Low Risk	B	30513	2020-04-14
hCG 10mIU/ml urine/serum	RT27-2098	Low Risk	B	30513	2020-04-14
hCG 20 mIU/ml urine Cassette	RT27-2101	Low Risk	B	30513	2020-04-14
hCG 20 mIU/ml urine Strip	RT27-2100	Low Risk	B	30513	2020-04-14
hCG 10mIU/ml urine/serum/p	RT27-2096	Low Risk	B	30513	2020-04-14
hCG 20 mIU/ml urine/serum/p Cassette	RT27-2104	Low Risk	B	30513	2020-04-14
hCG 20 mIU/ml urine/serum/p Strip	RT27-2103	Low Risk	B	30513	2020-04-14
<b>Others</b>					

Rapid Tests Device Group	Ref. No.	IVDD Risk class	IVDR Risk class	GMDN code	First CE-marking
Micro-Albumin (HAS) Strip	RT27-2197	Low Risk	C	30246	2020-04-14
Ferritin	RT27-2196	Low Risk	C	30377	2020-04-14
H-FABP	RT27-2107	Low Risk	C	1230190	2020-04-14
Nt-proBNP	RT27-1157	Low Risk	C	12130190	2020-04-14
Procalcitonin (S/P/WB)	RT27-2158	Low Risk	C	12069016	2020-04-14
Procalcitonin (S/P)	RT27-2159	Low Risk	C	12069016	2020-04-14
<b>Urine Reagent Strips</b>					
URS-1G	RT27-2185	Low Risk	B	17419	2020-04-14
URS-2PK	RT27-2186	Low Risk	B	30226	2020-04-14
URS-3 GKpH	RT27-2187	Low Risk	B	30226	2020-04-14
URS-4 GKpHB	RT27-2188	Low Risk	B	30226	2020-04-14
URS-5GKpHBP	RT27-2189	Low Risk	B	30226	2020-04-14
URS-6GKpHBPBili	RT27-2190	Low Risk	B	30226	2020-04-14
URS-7GKpHBPBiliU	RT27-2191	Low Risk	B	30226	2020-04-14
URS-8GKpHBPBiliUN	RT27-2192	Low Risk	B	30226	2020-04-14
URS-9GKpHBPBiliUNS	RT27-2193	Low Risk	B	30226	2020-04-14
URS-10GKpHBPBiliUNSL	RT27-2194	Low Risk	B	30226	2020-04-14
URS-11	RT27-2195	Low Risk	B	30226	2020-04-14

Serology Device Group	Ref. No.	IVDD Risk class	IVDR Risk class	GMDN code	First CE-marking
C- Reactive Protein (CRP)	SL25-3002, SL25-3003	Low Risk	C	30499	2020-04-14
RF	SL25-3008, SL25-3009	Low Risk	C	30500	2020-04-14
Anti- Streptolysin O(ASO)	SL25-3000, SL25-3001	Low Risk	C	30495	2020-04-14
Infectious Mononucleosis Screening (Mono)	SL25-3004, SL25-3005	Low Risk	C	30810	2020-04-14
RPR	SL25-3011, SL25-3012	Low Risk	C	17393	2020-04-14
Lupus Erythematosus (SLE)	SL25-3007	Low Risk	C	30487	2020-04-14
TPHA	SL25-3016	Low Risk	C	32453	2020-04-14
Rotavirus	SL25-3010	Low Risk	C	17381	2020-04-14
S. Aureus	SL25-3013	Low Risk	C	33887	2020-04-14
Streptococci Lancefield grouping	SL25-3015	Low Risk	C	17389	2020-04-14
VDRL Antigen	SL25-3017	Low Risk	C	17395	2020-04-14
PARATYPHOID A (Salmonella, flagellar a antigen)	SL25-3022	Low Risk	C	39453	2020-04-14
PARATYPHOID B (Salmonella, flagellar b antigen)	SL25-3023	Low Risk	C	39453	2020-04-14
PARATYPHOID C (Salmonella typhi, flagellar c antigen)	SL25-3024	Low Risk	C	39453	2020-04-14
SALMONELLA Group A Antigen (somatic antigen)	SL25-3028	Low Risk	C	39453	2020-04-14
SALMONELLA Group B Antigen (somatic antigen)	SL25-3029	Low Risk	C	39453	2020-04-14

Serology Device Group	Ref. No.	IVDD Risk class	IVDR Risk class	GMDN code	First CE-marking
SALMONELLA Group C Antigen (somatic antigen)	SL25-3030	Low Risk	C	39453	2020-04-14
TYPHOID H (Salmonella typhi, flagellar d antigen)	SL25-3031	Low Risk	C	39453	2020-04-14
TYPHOID O (Salmonella typhi, somatic Group D antigen)	SL25-3032	Low Risk	C	39453	2020-04-14
Brucella Melitensis	SL25-3018	Low Risk	C	39536	2020-04-14
Brucella Abortus	SL25-3019	Low Risk	C	39536	2020-04-14
PROTEUS OX2 (somatic antigen)	SL25-3026	Low Risk	C	39543	2020-04-14
PROTEUS OX19 (somatic antigen)	SL25-3025	Low Risk	C	39543	2020-04-14
PROTEUS OXK (somatic antigen)	SL25-3027	Low Risk	C	39543	2020-04-14



# Certificate of Registration

This is to certify the Quality Management System of:

**MONOCENT, INC.**  
9237 Eton Avenue  
Chatsworth, CA 91311

has been assessed and found to be in compliance with the requirements of

**ISO 9001:2015**

for the following scope:

**Manufacturing and Distribution of IVD Products  
(Serology, Rapid, ELISA, CLIA, IFA Test Systems and Instrumentation)**

IAF Code: 31 & 35

Certificate Number: **SARA-2019-CA-0253-01-A**

Originally Registered:  
January 10, 2020

Latest Issue:  
December 20, 2022

Certification Cycle:  
January 10, 2023 – January 9, 2026

Expiration Date:  
January 9, 2026

A handwritten signature in black ink, appearing to read "N. A.", is written over a horizontal line.

*President, SARA Registrar*



MSCB-194



# Certificate of Registration

This is to certify the Quality Management System of:

**MONOCENT, INC.**  
9237 Eton Avenue  
Chatsworth, CA 91311

has been assessed and found to be in compliance with the requirements of

**ISO 13485:2016**

for the following scope:

**Manufacturing and Distribution of IVD Products  
(Serology, Rapid, ELISA, CLIA, IFA Test Systems and Instrumentation)**

**ISO 13485:2016**

Medical Device Code: In Vitro Diagnostics (IVD) & Non-active Medical Device

Certificate Number: **SARA-2019-CA-0253-02-A**

Originally Registered:  
January 10, 2020

Latest Issue:  
December 20, 2022

Certification Cycle:  
January 10, 2023 – January 9, 2026

Expiration Date:  
January 9, 2026

*President, SARA Registrar*



MSCB-194

This registration is subject to the company maintaining its system to the required standard which will be monitored annually by SARA Registrar. This certificate remains the property of Standards American Registrations Authority (SARA Registrar) and shall be returned immediately upon request. SARA Registrar Headquarter Mailing: 1807H Santa Rita Road, #175, Pleasanton, CA 94566



## HSV 1 IgG ELISA TEST SYSTEM



**REF** EL1-1163  $\Sigma$  96 TESTS



### INTENDED USE

The Monocent, Inc.'s HSV-1 IgG ELISA Test System is intended for the detection of IgG antibody to HSV-1 in human serum or plasma.

### SUMMARY AND EXPLANATION

HSV-1 and 2 are virtually identical, sharing approximately 50% of their DNA and have over 80% of common antigens. Both types infect the body's mucosal surfaces, usually the mouth or genitals, and then establish latency in the nervous system. For both types, at least two-thirds of infected people have no symptoms, or symptoms too mild to notice. However, both types can recur and spread even when no symptoms are present. By the time they're teenagers or young adults, about 50% of Americans have HSV-1 antibodies in their blood. By the time they are over age 50, some 80-90% of Americans has HSV-1 antibodies. By comparison, almost all HSV-2 is encountered after childhood, when people become sexually active. HSV type 1 is the cause of most orofacial herpes and HSV encephalitis; type 2 is the primary cause of initial and recurrent genital herpes and neonatal HSV. Reactivation of latent HSV infection is a frequent complication of immunosuppression due to cancer, transplantation and AIDS. Asymptomatic genital shedding of HSV-2 is more common than HSV-1 and occurs more frequently during the first 3 months after acquisition of primary type 2 disease than during later periods. The presence of HSV IgG antibody is indicative of previous exposure. A significant increase in HSV IgG is an indicative of reactivation, current or recent infection. IgM antibody is present after primary HSV infection.

### PRINCIPLE OF THE TEST

Diluted patient serum is added to wells coated with purified antigen. IgG specific antibody, if present, binds to the antigen. All unbound materials are washed away and the enzyme conjugate is added to bind to the antibody-antigen complex, if present. Excess enzyme conjugate is washed off and substrate is added. The plate is incubated to allow the hydrolysis of the substrate by the enzyme. The intensity of the color generated is proportional to the amount of IgG specific antibody in the sample.

### MATERIALS AND COMPONENTS

• Microwells coated with HSV-1 antigen	12x8x1
• Sample Diluent: 1 bottle (ready to use)	22 ml
• Calibrator: 1 Vial (ready to use)	1ml
• Positive Control: 1 vial (ready to use)	1ml
• Negative Control: 1 vial (ready to use)	1ml
• Enzyme conjugate: 1 bottle (ready to use)	12ml
• TMB Substrate: 1 bottle (ready to use)	12ml
• Stop Solution: 1 bottle (ready to use)	12ml
• Wash concentrate 20X: 1 bottle	25ml

### MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Distilled or deionized water
- Precision pipettes
- Disposable pipette tips
- ELISA reader capable of reading absorbance at 450nm
- Absorbance paper or paper towel
- Graph paper

### STORAGE CONDITIONS

- Store the kit at 2-8° C.
- Keep microwells sealed in a dry bag with desiccants.
- The reagents are stable until expiration of the kit.
- Do not expose test reagents to heat, sun or strong light.

### PRECAUTIONS

1. Potential biohazardous materials: The calibrator and controls contain human source components, which have been tested and found non-reactive for hepatitis B surface antigen as well as HIV antibody with FDA licensed reagents. However, there is no test method that can offer complete assurance that HIV, Hepatitis B virus or other infectious agents are absent. These reagents should be handled at the Biosafety Level 2, as recommended in the Centers for Disease Control/National Institutes of Health manual, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories." 1984.
2. This kit is designed for In Vitro Diagnostic Use.
3. Optimal results will be obtained by strict adherence to the test protocol. Precise pipetting as well as following the exact time and temperature requirements is essential.
4. Do not pipette by mouth. Do not smoke, eat, or drink in the areas in which specimens or kit reagents are handled.
5. The components in this kit are intended for use as an integral unit. The components of different lots should not be mixed.
6. This product contains components preserved with sodium azide. Sodium azide may react with lead and copper plumbing to form explosive metal azide. On disposal, flush with a large volume of water.

### SPECIMEN COLLECTION

1. Collect blood specimens and separate the serum.
2. Specimens may be refrigerated at 2-8° C for up to seven days or frozen for up to six months. Avoid repetitive freezing and thawing.

### REAGENT PREPARATION

Prepare 1X Wash buffer by adding the contents of the bottle (25 ml, 20X) to 475 ml of distilled or deionized water. Store at room temperature (20-25°C).

### TEST PROCEDURE

Bring all specimens and kit reagents to room temperature (20-25°C) and gently mix.

1. Place the desired number of coated strips into the holder.
2. Negative control, positive control, and calibrator are ready to use. Prepare 1:21 dilution of test samples, by adding 10 µl of the sample to 200 µl of sample diluent. Mix well.
3. Dispense 100 µl of diluted sera, calibrator and controls into the appropriate wells. For the reagent blank, dispense 100µl sample diluent in 1A well position. Tap the holder to remove air bubbles from the liquid and mix well. Incubate for 20 minutes at room temperature.
4. Remove liquid from all wells. Wash wells three times with 300 µl of 1X wash buffer. Blot on absorbance paper or paper towel.
5. Dispense 100 µl of enzyme conjugate to each well and incubate for 20 minutes at room temperature.
6. Remove enzyme conjugate from all wells. Wash wells three times with 300 µl of 1X wash buffer. Blot on absorbance paper or paper towel.
7. Dispense 100 µl of TMB substrate and incubate for 10 minutes at room temperature.
8. Add 100 µL of stop solution.
9. Read O.D. at 450 nm using ELISA reader within 15 min. A dual wavelength is recommended with reference filter to 600-650 nm

### CALCULATION OF RESULTS

1. Check Calibrator Factor (CF) value on the calibrator bottle. This value might vary from lot to lot. Make sure you check the value on every kit.
2. Calculate the cut-off value: Calibrator OD x Calibrator Factor (CF).
3. Calculate the Ab (Antibody) Index of each determination by dividing the O.D. value of each sample by cut-off value.

#### Example of typical results:

Calibrator mean OD = 0.8  
 Calibrator Factor (CF) = 0.5  
 Cut-off Value = 0.8 x 0.5 = 0.400  
 Positive control O.D. = 1.2  
 Ab Index = 1.2 / 0.4 = 3  
 Patient sample O.D. = 1.6  
 Ab Index = 1.6 / 0.4 = 4.0

### INTERPRETATION

The following is intended as a guide to interpretation of HSV 1 IgG test results; each laboratory is encouraged to establish its own criteria for test interpretation based on sample populations encountered.

#### Antibody Index Interpretation

<0.9	No detectable antibody to HSV 1 IgG by ELISA
0.9-1.1	Borderline positive. Follow-up testing is recommended if clinically indicated.
>1.1	Detectable antibody to HSV 1 IgG by ELISA

#### Converting of Ab Index to IU/mL

As an option, Ab index may be converted to IU/ml by multiplying Ab index by 100. IU/ml values may then be interpreted as follows:

<90 IU/ml	No detectable IgG antibody to HSV-1 by ELISA
90-110 IU/ml	Borderline positive. Follow-up testing is recommended if clinically indicated.
> 110 IU/ml	Detectable IgG antibody to HSV-1 by ELISA

## LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

1. The test results obtained using this kit cannot discriminate between HSV-1 and HSV-2 infection due to high cross reactivity between the two viruses. The results serve only as an aid to diagnosis and should be interpreted in relation to the patient's history, physical findings and other diagnostic procedures.
2. Lipemic or hemolyzed samples may cause erroneous results.

## PERFORMANCE CHARACTERISTICS

### 1. SENSITIVITY AND SPECIFICITY

336 patient sera were tested by this HSV-1 IgG ELISA Test System and a reference ELISA method. 270 sera were positive and 56 were negative by both methods (97% agreement). The results are summarized below:

		HSV 1 IgG ELISA		
		+	-	Total
Reference ELISA kit +	+	270	4	274
	-	6	56	62
Total		276	60	336

### 2. PRECISION

#### Intra-Assay Study

Serum	No. of Replicates	Mean	Standard Deviation	Coefficient of Variation %
1	16	1.23	0.06	4.87
2	16	0.66	0.04	6.10
3	16	0.33	0.02	6.06

#### Inter-Assay Study

Serum	No. of Replicates	Mean	Standard Deviation	Coefficient of Variation %
1	10	1.77	0.15	8.47
2	10	0.93	0.09	9.47
3	10	0.21	0.02	14.2

## REFERENCES

1. Langeland N; Haarr L; Mhalu F. Prevalence of HSV-2 antibodies among STD clinic patients in Tanzania. Int J STD AIDS 1998;9(2):104-7.
2. Markoulatos P; Labropoulou V; Kordossi A; Krikelis V; Spyrou N; Moncany ML. A combined indirect ELISA and immunoblotting for the detection of intrathecal herpes simplex virus IgG antibody synthesis in patients with herpes simplex virus encephalitis. J Clin Lab Anal 1995;9(5):325-33.
3. Markoulatos P; Fountoucidou P; Marinakis G; Krikelis V; Spyrou N; Vamvakopoulos N; Moncany ML. Clear detection and typing of herpes simplex virus types 1 and 2 by an indirect ELISA assay: comparison with three different combined methods--capture ELISA, restriction enzymes, and polymerase chain reaction. J Clin Lab Anal 1997; 11(3):146-53.
4. Herbert AM; Bagg J; Walker DM; Davies KJ; Westmoreland D. Seroepidemiology of herpes virus infections among dental personnel. J Dent 1995;23(6):339-42.
5. Goodyear HM; McLeish P; Randall S; Buchan A; Skinner GR; Winther M; Rolland J; Morgan G; Harper JI. Immunological studies of herpes simplex virus infection in children with atopic eczema. Br J Dermatol 1996;134(1):85-93.

 **Manufactured by  
Monocent, Inc.**

9237 Eton Ave. Chatsworth, CA 91311, USA  
Info@monocent.com | Tel: 424-310-0777  
www.monocent.com

**EC REP** **CEpartner4U**

ESDOORNLAAN 13, 3951DB MAARN, THE NETHERLANDS.  
www.cepartner4u.com

## HSV 1 IgM ELISA TEST SYSTEM



**REF** EL1-1164

 **96 TESTS**

**IVD**

### INTENDED USE

The Monocent Inc.'s HSV-1 IgM ELISA Test System is intended for the detection of IgM antibody to HSV-1 in human serum or plasma.

### SUMMARY AND EXPLANATION

HSV-1 and 2 are virtually identical, sharing approximately 50% of their DNA and have over 80% of common antigens. Both types infect the body's mucosal surfaces, usually the mouth or genitals, and then establish latency in the nervous system. For both types, at least two-thirds of infected people have no symptoms, or symptoms too mild to notice. However, both types can recur and spread even when no symptoms are present. By the time they're teenagers or young adults, about 50% of Americans have HSV-1 antibodies in their blood. By the time they are over age 50, some 80-90% of Americans has HSV-1 antibodies. By comparison, almost all HSV-2 is encountered after childhood, when people become sexually active. HSV type 1 is the cause of most orofacial herpes and HSV encephalitis; type 2 is the primary cause of initial and recurrent genital herpes and neonatal HSV. Reactivation of latent HSV infection is a frequent complication of immunosuppression due to cancer, transplantation and AIDS. Asymptomatic genital shedding of HSV-2 is more common than HSV-1 and occurs more frequently during the first 3 months after acquisition of primary type 2 disease than during later periods. The presence of HSV IgG antibody is indicative of previous exposure. A significant increase in HSV IgG is an indicative of reactivation, current or recent infection. IgM antibody is present after primary HSV infection.

### PRINCIPLE OF THE TEST

Diluted patient serum (serum diluent contains sorbent to remove Rheumatoid Factor and human IgG interference) is added to wells coated with purified antigen. IgM specific antibody, if present, binds to the antigen. All unbound materials are washed away and the enzyme conjugate is added to bind to the antibody-antigen complex, if present. Excess enzyme conjugate is washed off and substrate is added. The plate is incubated to allow the hydrolysis of the substrate by the enzyme. The intensity of the color generated is proportional to the amount of IgM specific antibody in the sample.

### MATERIALS AND COMPONENTS

1. Microwells coated with HSV-1 antigen	12x8x1
2. Sample Diluent: 1 bottle (ready to use)	22 ml
3. Calibrator: Yellow Cap. 1 Vial (ready to use)	1ml
4. Positive Control: Red Cap. 1 vial (ready to use)	1ml
5. Negative Control: Blue Cap. 1 vial (ready to use)	1ml
6. Enzyme conjugate: 1 bottle (ready to use)	12ml
7. TMB Substrate: 1 bottle (ready to use)	12ml
8. Stop Solution: 1 bottle (ready to use)	12ml
9. Wash concentrate 20X: 1 bottle	25ml

### MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

1. Distilled or deionized water
2. Precision pipettes
3. Disposable pipette tips
4. ELISA reader capable of reading absorbance at 450nm
5. Absorbance paper or paper towel
6. Graph paper

### STORAGE CONDITIONS

1. Store the kit at 2-8° C.
2. Keep microwells sealed in a dry bag with desiccants.
3. The reagents are stable until expiration of the kit.
4. Do not expose test reagents to heat, sun or strong light.

### PRECAUTIONS

1. Potential biohazardous materials: The calibrator and controls contain human source components which have been tested and found non-reactive for hepatitis B surface antigen as well as HIV antibody with FDA licensed reagents. However, as there is no test method that can offer complete assurance that HIV, Hepatitis B virus or other infectious agents are absent, these reagents should be handled at the Biosafety Level 2, as recommended in the Centers for Disease Control/National Institutes of Health manual, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories." 1984.
2. Optimal results will be obtained by strict adherence to the test protocol. Precise pipetting as well as following the exact time and

temperature requirements is essential.

3. Do not pipette by mouth. Do not smoke, eat, or drink in the areas in which specimens or kit reagents are handled.
4. The components in this kit are intended for use as an integral unit. The components of different lots should not be mixed.
5. Control sera and sample diluent contain preserved with sodium azide. Sodium azide may react with lead and copper plumbing to form explosive metal azide. On disposal, flush with a large volume of water.

### SPECIMEN COLLECTION

1. Collect blood specimens and separate the serum.
2. Specimens may be refrigerated at 2-8° C for up to seven days or frozen for up to six months. Avoid repetitive freezing and thawing.

### REAGENT PREPARATION

Prepare 1X Wash buffer by adding the contents of the bottle (25 ml, 20X) to 475 ml of distilled or deionized water. Store at room temperature (20-25°C).

### TEST PROCEDURE

Bring all specimens and kit reagents to room temperature (20-25°C) and gently mix.

1. Place the desired number of coated strips into the holder.
2. Negative control, positive control, and calibrator are ready to use. Prepare 1:21 dilution of test samples, by adding 10 µl of the sample to 200 µl of sample diluent. Mix well.
3. Dispense 100 µl of diluted sera, calibrator and controls into the appropriate wells. For the reagent blank, dispense 100µl sample diluent in 1A well position. Tap the holder to remove air bubbles from the liquid and mix well. Incubate for 20 minutes at room temperature.
4. Remove liquid from all wells. Wash wells three times with 300 µl of 1X wash buffer. Blot on absorbance paper or paper towel.
5. Dispense 100 µl of enzyme conjugate to each well and incubate for 20 minutes at room temperature.
6. Remove enzyme conjugate from all wells. Wash wells three times with 300 µl of 1X wash buffer. Blot on absorbance paper or paper towel.
7. Dispense 100 µl of TMB substrate and incubate for 10 minutes at room temperature.
8. Add 100 µl of stop solution.
9. Read O.D. at 450 nm using ELISA reader within 15 min. A dual wavelength is recommended with reference filter to 600-650 nm.

### CALCULATION OF RESULTS

1. Check Calibrator Factor (CF) value on the calibrator bottle. This value might vary from lot to lot. Make sure you check the value on every kit.
2. Calculate the cut-off value: Calibrator OD x Calibrator Factor (CF).

3. Calculate the Ab (Antibody) Index of each determination by dividing the O.D. value of each sample by cut-off value.

**Example of typical results:**

Calibrator mean OD = 0.8  
 Calibrator Factor (CF) = 0.5  
 Cut-off Value = 0.8 x 0.5 = 0.400  
 Positive control O.D. = 1.2  
 Ab Index = 1.2 / 0.4 = 3  
 Patient sample O.D. = 1.6  
 Ab Index = 1.6 / 0.4 = 4.0

**INTERPRETATION**

The following is intended as a guide to interpretation of HSV 1 IgM test results; each laboratory is encouraged to establish its own criteria for test interpretation based on sample populations encountered.

**Antibody Index Interpretation**

<0.9 No detectable antibody to HSV 1 IgM by ELISA  
 0.9-1.1 Borderline positive. Follow-up testing is recommended if clinically indicated.  
 >1.1 Detectable antibody to HSV 1 IgM by ELISA

**QUALITY CONTROL**

The test run may be considered valid provided the following criteria are met:

1. The O.D. of the Calibrator should be greater than 0.250.
2. The Ab index for Negative control should be less than 0.9.
3. The Ab Index for Positive control should fall within the range specified on the COA/label.

**LIMITATIONS OF THE PROCEDURE**

1. To enhance sensitivity and specificity of this IgM test, provided sample diluent has been formulated to block IgG and Rheumatoid Factor (RF) interferences. Turbidity could be seen after diluting serum with sample diluent. This turbidity is due to the blocking of serum IgG and has shown no interference with test results. It can be removed by centrifugation.
2. In specimens with high RF and high autoimmune antibodies, the possibility of eliminating the interferences cannot be ruled out entirely.
3. The test results obtained using this kit serve only as an aid to diagnosis and should be interpreted in relation to the patient's history, physical findings and other diagnostic procedures.
4. Lipemic or hemolyzed samples may cause erroneous results.

**PERFORMANCE CHARACTERISTICS**

**SENSITIVITY AND SPECIFICITY**

142 patient sera were tested by this HSV-1 IgM ELISA Test System and a reference ELISA method. 15 sera were positive and 126 were negative by both methods (99% agreement). The results are summarized below:

	HSV 1 IgM ELISA		
	+	-	Total
Reference ELISA kit +	15	1	16
-	0	126	126
Total	15	127	142

**PRECISION**

**Intra-Assay Study**

Serum	No. of Replicates	Mean	Standard Deviation	Coefficient of Variation %
1	16	1.41	0.052	3.69
2	16	0.95	0.060	6.32
3	16	0.32	0.028	8.75

**Inter-Assay Study**

Serum	No. of Replicates	Mean	Standard Deviation	Coefficient of Variation %
1	10	1.36	0.093	6.84
2	10	0.97	0.094	9.69
3	10	0.38	0.040	10.52

**REFERENCES**

1. Langeland N; Haarr L; Mhalu F. Prevalence of HSV-2 antibodies among STD clinic patients in Tanzania. Int J STD AIDS 1998;9(2):104-7.
2. Markoulatos P; Labropoulou V; Kordossi A; Krikelis V; Spyrou N; Moncany ML. A combined indirect ELISA and immunoblotting for the detection of intrathecal herpes simplex virus IgG antibody synthesis in patients with herpes simplex virus encephalitis. J Clin Lab Anal 1995;9(5):325-33.
3. Markoulatos P; Fountoucidou P; Marinakis G; Krikelis V; Spyrou N; Vamvakopoulos N; Moncany ML. Clear detection and typing of herpes simplex virus types 1 and 2 by an indirect ELISA assay: comparison with three different combined methods--capture ELISA, restriction enzymes, and polymerase chain reaction. J Clin Lab Anal 1997; 11(3):146-53.
4. Herbert AM; Bagg J; Walker DM; Davies KJ; Westmoreland D. Seroepidemiology of herpes virus infections among dental personnel. J Dent 1995;23(6):339-42.
5. Goodyear HM; McLeish P; Randall S; Buchan A; Skinner GR; Winther M; Rolland J; Morgan G; Harper JI. Immunological studies of herpes simplex virus infection in children with atopic eczema. Br J Dermatol 1996;134(1):85-93.



9237 Eton Ave. Chatsworth, CA 91311, USA  
 Info@monocent.com | Tel: 424-310-0777  
 www.monocent.com



ESDOORNLAAN 13, 3951DB MAARN, THE NETHERLANDS.  
 www.cepartner4u.com



## HSV 2 IgG ELISA TEST SYSTEM



**REF** EL1-1165  $\Sigma$  96 TESTS



### INTENDED USE

The Monocent, Inc.'s HSV-2 IgG ELISA Test System is intended for the detection of IgG antibody to HSV-2 in human serum or plasma.

### SUMMARY AND EXPLANATION

HSV-1 and 2 are virtually identical, sharing approximately 50% of their DNA and have over 80% of common antigens. Both types infect the body's mucosal surfaces, usually the mouth or genitals, and then establish latency in the nervous system. For both types, at least two-thirds of infected people have no symptoms, or symptoms too mild to notice. However, both types can recur and spread even when no symptoms are present. By the time they're teenagers or young adults, about 50% of Americans have HSV-1 antibodies in their blood. By the time they are over age 50, some 80-90% of Americans has HSV-1 antibodies. By comparison, almost all HSV-2 is encountered after childhood, when people become sexually active. HSV type 1 is the cause of most orofacial herpes and HSV encephalitis; type 2 is the primary cause of initial and recurrent genital herpes and neonatal HSV. Reactivation of latent HSV infection is a frequent complication of immunosuppression due to cancer, transplantation and AIDS. Asymptomatic genital shedding of HSV-2 is more common than HSV-1 and occurs more frequently during the first 3 months after acquisition of primary type 2 disease than during later periods. The presence of HSV IgG antibody is indicative of previous exposure. A significant increase in HSV IgG is an indicative of reactivation, current or recent infection. IgM antibody is present after primary HSV infection.

### PRINCIPLE OF THE TEST

Diluted patient serum is added to wells coated with purified antigen. IgG specific antibody, if present, binds to the antigen. All unbound materials are washed away and the enzyme conjugate is added to bind to the antibody-antigen complex, if present. Excess enzyme conjugate is washed off and substrate is added. The plate is incubated to allow the hydrolysis of the substrate by the enzyme. The intensity of the color generated is proportional to the amount of IgG specific antibody in the sample.

### MATERIALS AND COMPONENTS

• Microwells coated with HSV-2 antigen	12x8x1
• Sample Diluent: 1 bottle (ready to use)	22 ml
• Calibrator: yellow Cap. 1 Vial (ready to use)	1 ml
• 4. Positive Control: Red Cap. 1 vial (ready to use)	1 ml
• Negative Control: Blue Cap. 1 vial (ready to use)	1 ml
• Enzyme conjugate: 1 bottle (ready to use)	12 ml
• TMB Substrate: 1 bottle (ready to use)	12 ml
• Stop Solution: 1 bottle (ready to use)	12 ml
• Wash concentrate 20X: 1 bottle	25 ml

### MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Distilled or deionized water
- Precision pipettes
- Disposable pipette tips
- ELISA reader capable of reading absorbance at 450nm
- Absorbance paper or paper towel
- Graph paper

### STORAGE CONDITIONS

- Store the kit at 2-8° C.
- Keep microwells sealed in a dry bag with desiccants.
- The reagents are stable until expiration of the kit.
- Do not expose test reagents to heat, sun or strong light.

### PRECAUTIONS

1. Potential biohazardous materials: The calibrator and controls contain human source components, which have been tested and found non-reactive for hepatitis B surface antigen as well as HIV antibody with FDA licensed reagents. However, there is no test method that can offer complete assurance that HIV, Hepatitis B virus or other infectious agents are absent. These reagents should be handled at the Biosafety Level 2, as recommended in the Centers for Disease Control/National Institutes of Health manual, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories." 1984.
2. This kit is designed for In Vitro Diagnostic Use.
3. Optimal results will be obtained by strict adherence to the test protocol. Precise pipetting as well as following the exact time and temperature requirements is essential.
4. Do not pipette by mouth. Do not smoke, eat, or drink in the areas in which specimens or kit reagents are handled.
5. The components in this kit are intended for use as an integral unit. The components of different lots should not be mixed.
6. This product contains components preserved with sodium azide. Sodium azide may react with lead and copper plumbing to form explosive metal azide. On disposal, flush with a large volume of water.

### SPECIMEN COLLECTION

1. Collect blood specimens and separate the serum.
2. Specimens may be refrigerated at 2-8° C for up to seven days or frozen for up to six months. Avoid repetitive freezing and thawing.

### REAGENT PREPARATION

Prepare 1X Wash buffer by adding the contents of the bottle (25 ml, 20X) to 475 ml of distilled or deionized water. Store at room temperature (20-25°C).

### TEST PROCEDURE

- Bring all specimens and kit reagents to room temperature (20-25°C) and gently mix.
1. Place the desired number of coated strips into the holder.
  2. Negative control, positive control, and calibrator are ready to use. Prepare 1:21 dilution of test samples, by adding 10 µl of the sample to 200 µl of sample diluent. Mix well.
  3. Dispense 100 µl of diluted sera, calibrator and controls into the appropriate wells. For the reagent blank, dispense 100µl sample diluent in 1A well position. Tap the holder to remove air bubbles from the liquid and mix well. Incubate for 20 minutes at room temperature.
  4. Remove liquid from all wells. Wash wells three times with 300 µl of 1X wash buffer. Blot on absorbance paper or paper towel.
  5. Dispense 100 µl of enzyme conjugate to each well and incubate for 20 minutes at room temperature.
  6. Remove enzyme conjugate from all wells. Wash wells three times with 300 µl of 1X wash buffer. Blot on absorbance paper or paper towel.
  7. Dispense 100 µl of TMB substrate and incubate for 10 minutes at room temperature.
  8. Add 100 µl of stop solution.
  9. Read O.D. at 450 nm using ELISA reader within 15 min. A dual wavelength is recommended with reference filter of 600-650 nm.

### CALCULATION OF RESULTS

1. Check Calibrator Factor (CF) value on the calibrator bottle. This value might vary from lot to lot. Make sure you check the value on every kit.
2. Calculate the cut-off value: Calibrator OD x Calibrator Factor (CF).
3. Calculate the Ab (Antibody) Index of each determination by dividing the O.D. value of each sample by cut-off value.

#### Example of typical results:

Calibrator mean OD = 0.8  
 Calibrator Factor (CF) = 0.5  
 Cut-off Value = 0.8 x 0.5 = 0.400  
 Positive control O.D. = 1.2  
 Ab Index = 1.2 / 0.4 = 3  
 Patient sample O.D. = 1.6  
 Ab Index = 1.6 / 0.4 = 4.0

### INTERPRETATION

The following is intended as a guide to interpretation of HSV 2 IgG test results; each laboratory is encouraged to establish its own criteria for test interpretation based on sample populations encountered.

#### Antibody Index Interpretation

<0.9 No detectable antibody to HSV 2 IgG by ELISA  
 0.9-1.1 Borderline positive. Follow-up testing is recommended if clinically indicated.  
 >1.1 Detectable antibody to HSV 2 IgG by ELISA

### QUALITY CONTROL

The test run may be considered valid provided the following criteria are met:

1. The O.D. of the Calibrator should be greater than 0.250.
2. The Ab index for Negative control should be less than 0.9.
3. The Ab Index for Positive control should fall within the range specified on the COA/label.

## LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

1. The test results obtained using this kit cannot discriminate between HSV-1 and HSV-2 infection due to high cross reactivity between the two viruses. The results serve only as an aid to diagnosis and should be interpreted in relation to the patient's history, physical findings and other diagnostic procedures.
2. Lipemic or hemolyzed samples may cause erroneous results.

## PERFORMANCE CHARACTERISTICS

### 1. SENSITIVITY AND SPECIFICITY

327 patient sera were tested by this HSV-2 IgG ELISA Test System and a reference ELISA method. 194 sera were positive and 121 were negative by both methods (99% agreement). The results are summarized below:

	HSV 2 IgG		Total
	+	-	
Reference ELISA kit +	194	5	199
-	7	121	128
Total	201	126	327

### 2. PRECISION

#### Intra-Assay Study

Serum	No. of Replicates	Mean	Standard Deviation	Coefficient of Variation %
1	16	1.06	0.04	3.7
2	16	0.75	0.03	4.0
3	16	0.57	0.04	7.0

#### Inter-Assay Study

Serum	No. of Replicates	Mean	Standard Deviation	Coefficient of Variation %
1	10	1.08	0.09	8.3
2	10	0.63	0.06	9.5
3	10	0.24	0.03	12.5

## REFERENCES

1. Langeland N; Haarr L; Mhalu F. Prevalence of HSV-2 antibodies among STD clinic patients in Tanzania. Int J STD AIDS 1998;9(2):104-7.
2. Markoulatos P; Labropoulou V; Kordossi A; Krikelis V; Spyrou N; Moncany ML. A combined indirect ELISA and immunoblotting for the detection of intrathecal herpes simplex virus IgG antibody synthesis in patients with herpes simplex virus encephalitis. J Clin Lab Anal 1995;9(5):325-33.
3. Markoulatos P; Fountoucidou P; Marinakis G; Krikelis V; Spyrou N; Vamvakopoulos N; Moncany ML. Clear detection and typing of herpes simplex virus types 1 and 2 by an indirect ELISA assay: comparison with three different combined methods--capture ELISA, restriction enzymes, and polymerase chain reaction. J Clin Lab Anal 1997; 11(3):146-53.
4. Herbert AM; Bagg J; Walker DM; Davies KJ; Westmoreland D. Seroepidemiology of herpes virus infections among dental personnel. J Dent 1995;23(6):339-42.
5. Goodyear HM; McLeish P; Randall S; Buchan A; Skinner GR; Winther M; Rolland J; Morgan G; Harper JI. Immunological studies of herpes simplex virus infection in children with atopic eczema. Br J Dermatol 1996;134(1):85-93.

 **Manufactured by  
Monocent, Inc.**

9237 Eton Ave. Chatsworth, CA 91311, USA  
Info@monocent.com | Tel: 424-310-0777  
www.monocent.com

**EC REP CEpartner4U**

ESDOORNLAAN 13, 3951DB MAARN, THE NETHERLANDS.  
www.cepartner4u.com



## HSV 2 IgM ELISA TEST SYSTEM



**REF** EL1-1166

**Σ** 96 TESTS



### INTENDED USE

The Monocent Inc.'s HSV-2 IgM ELISA Kit is intended for the detection of IgM antibody to HSV-2 in human serum or plasma.

### SUMMARY AND EXPLANATION

HSV-1 and 2 are virtually identical, sharing approximately 50% of their DNA and have over 80% of common antigens. Both types infect the body's mucosal surfaces, usually the mouth or genitals, and then establish latency in the nervous system. For both types, at least two-thirds of infected people have no symptoms, or symptoms too mild to notice. However, both types can recur and spread even when no symptoms are present. By the time they're teenagers or young adults, about 50% of Americans have HSV-1 antibodies in their blood. By the time they are over age 50, some 80-90% of Americans has HSV-1 antibodies. By comparison, almost all HSV-2 is encountered after childhood, when people become sexually active. HSV type 1 is the cause of most orofacial herpes and HSV encephalitis; type 2 is the primary cause of initial and recurrent genital herpes and neonatal HSV. Reactivation of latent HSV infection is a frequent complication of immunosuppression due to cancer, transplantation and AIDS. Asymptomatic genital shedding of HSV-2 is more common than HSV-1 and occurs more frequently during the first 3 months after acquisition of primary type 2 disease than during later periods. The presence of HSV IgG antibody is indicative of previous exposure. A significant increase in HSV IgG is an indicative of reactivation, current or recent infection. IgM antibody is present after primary HSV infection.

### PRINCIPLE OF THE TEST

Diluted patient serum (serum diluent contains sorbent to remove Rheumatoid Factor and human IgG interference) is added to wells coated with purified antigen. IgM specific antibody, if present, binds to the antigen. All unbound materials are washed away and the enzyme conjugate is added to bind to the antibody-antigen complex, if present. Excess enzyme conjugate is washed off and substrate is added. The plate is incubated to allow the hydrolysis of the substrate by the enzyme. The intensity of the color generated is proportional to the amount of IgM specific antibody in the sample.

### MATERIALS AND COMPONENTS

1. Microwells coated with HSV-2 antigen	12x8x1
2. Sample Diluent: 1 bottle (ready to use)	22 ml
3. Calibrator: yellow Cap. 1 Vial (ready to use)	1ml
4. Positive Control: Red Cap. 1 vial (ready to use)	1ml
5. Negative Control: Blue Cap. 1 vial (ready to use)	1ml
6. Enzyme conjugate: 1 bottle (ready to use)	12ml
7. TMB Substrate: 1 bottle (ready to use)	12ml
8. Stop Solution: 1 bottle (ready to use)	12ml
9. Wash concentrate 20X: 1 bottle	25ml

### MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

1. Distilled or deionized water
2. Precision pipettes
3. Disposable pipette tips
4. ELISA reader capable of reading absorbance at 450nm
5. Absorbance paper or paper towel
6. Graph paper

### STORAGE CONDITIONS

1. Store the kit at 2-8° C.
2. Keep microwells sealed in a dry bag with desiccants.
3. The reagents are stable until expiration of the kit.
4. Do not expose test reagents to heat, sun or strong light.

### PRECAUTIONS

1. Potential biohazardous materials: The calibrator and controls contain human source components which have been tested and found non-reactive for hepatitis B surface antigen as well as HIV antibody with FDA licensed reagents. However, as there is no test method that can offer complete assurance that HIV, Hepatitis B virus or other infectious agents are absent, these reagents should be handled at the Biosafety Level 2, as recommended in the Centers for Disease Control/National Institutes of Health manual, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories." 1984.
2. Optimal results will be obtained by strict adherence to the test protocol. Precise pipetting as well as following the exact time and

temperature requirements is essential.

3. Do not pipette by mouth. Do not smoke, eat, or drink in the areas in which specimens or kit reagents are handled.
4. The components in this kit are intended for use as an integral unit. The components of different lots should not be mixed.
5. Control sera and sample diluent contain preserved with sodium azide. Sodium azide may react with lead and copper plumbing to form explosive metal azide. On disposal, flush with a large volume of water.

### SPECIMEN COLLECTION

1. Collect blood specimens and separate the serum.
2. Specimens may be refrigerated at 2-8° C for up to seven days or frozen for up to six months. Avoid repetitive freezing and thawing.

### REAGENT PREPARATION

Prepare 1X Wash buffer by adding the contents of the bottle (25 ml, 20X) to 475 ml of distilled or deionized water. Store at room temperature (20-25°C).

### TEST PROCEDURE

- Bring all specimens and kit reagents to room temperature (20-25°C) and gently mix.
1. Place the desired number of coated strips into the holder.
  2. Negative control, positive control, and calibrator are ready to use. Prepare 1:21 dilution of test samples, by adding 10 µl of the sample to 200 µl of sample diluent. Mix well.
  3. Dispense 100 µl of diluted sera, calibrator and controls into the appropriate wells. For the reagent blank, dispense 100µl sample diluent in 1A well position. Tap the holder to remove air bubbles from the liquid and mix well. Incubate for 20 minutes at room temperature.
  4. Remove liquid from all wells. Wash wells three times with 300 µl of 1X wash buffer. Blot on absorbance paper or paper towel.
  5. Dispense 100 µl of enzyme conjugate to each well and incubate for 20 minutes at room temperature.
  6. Remove enzyme conjugate from all wells. Wash wells three times with 300 µl of 1X wash buffer. Blot on absorbance paper or paper towel.
  7. Dispense 100 µl of TMB substrate and incubate for 10 minutes at room temperature.
  8. Add 100 µl of stop solution.
  9. Read O.D. at 450 nm using ELISA reader within 15 min. A dual wavelength is recommended with reference filter of 600-650 nm.

### CALCULATION OF RESULTS

1. Check Calibrator Factor (CF) value on the calibrator bottle. This value might vary from lot to lot. Make sure you check the value on every kit.
2. Calculate the cut-off value: Calibrator OD x Calibrator Factor (CF).

3. Calculate the Ab (Antibody) Index of each determination by dividing the O.D. value of each sample by cut-off value.

**Example of typical results:**

Calibrator mean OD = 0.8  
 Calibrator Factor (CF) = 0.5  
 Cut-off Value = 0.8 x 0.5 = 0.400  
 Positive control O.D. = 1.2  
 Ab Index = 1.2 / 0.4 = 3  
 Patient sample O.D. = 1.6  
 Ab Index = 1.6 / 0.4 = 4.0

**INTERPRETATION**

The following is intended as a guide to interpretation of HSV-2 IgM test results; each laboratory is encouraged to establish its own criteria for test interpretation based on sample populations encountered.

**Antibody Index Interpretation**

<0.9 No detectable antibody to HSV 2 IgM by ELISA  
 0.9-1.1 Borderline positive. Follow-up testing is recommended if clinically indicated.  
 >1.1 Detectable antibody to HSV 2 IgM by ELISA

**QUALITY CONTROL**

The test run may be considered valid provided the following criteria are met:

1. The O.D. of the Calibrator should be greater than 0.250.
2. The Ab index for Negative control should be less than 0.9.
3. The Ab Index for Positive control should fall within the range specified on the COA/label.

**LIMITATIONS OF THE PROCEDURE**

1. To enhance sensitivity and specificity of this IgM test provided sample diluent has been formulated to block IgG and Rheumatoid Factor (RF) interferences. Turbidity could be seen after diluting serum with sample diluent. This turbidity is due to the blocking of serum IgG and shows no interference with test results. It can be removed by centrifugation.
2. In specimens with high RF and high autoimmune antibodies, the possibility of eliminating the interferences cannot be ruled out entirely.
3. The test results obtained using this kit serve only as an aid to diagnosis and should be interpreted in relation to the patient's history, physical findings and other diagnostic procedures.
4. Lipemic or hemolyzed samples may cause erroneous results.

**PERFORMANCE CHARACTERISTICS**

**SENSITIVITY AND SPECIFICITY**

137 patient sera were tested by HSV-2 IgM ELISA Test System and a reference ELISA method. 12 sera were positive and 124 were negative by both methods (99% agreement). The results are summarized below:

	HSV 2 IgM ELISA		
	+	-	Total
Reference ELISA kit +	12	1	13
-	0	124	124
Total	12	125	137

**PRECISION**

**Intra-Assay Study**

Serum	No. of Replicates	Mean	Standard Deviation	Coefficient of Variation %
1	16	1.26	0.047	5.92
2	16	1.03	0.038	3.69
3	16	0.19	0.011	5.79

**Inter-Assay Study**

Serum	No. of Replicates	Mean	Standard Deviation	Coefficient of Variation %
1	10	1.47	0.120	8.16
2	10	0.93	0.098	10.54
3	10	0.15	0.020	13.33

**REFERENCES**

1. Langeland N; Haarr L; Mhalu F. Prevalence of HSV-2 antibodies among STD clinic patients in Tanzania. Int J STD AIDS 1998;9(2):104-7.
2. Markoulatos P; Labropoulou V; Kordossi A; Krikelis V; Spyrou N; Moncany ML. A combined indirect ELISA and immunoblotting for the detection of intrathecal herpes simplex virus IgG antibody synthesis in patients with herpes simplex virus encephalitis. J Clin Lab Anal 1995;9(5):325-33.
3. Markoulatos P; Fountoucidou P; Marinakis G; Krikelis V; Spyrou N; Vamvakopoulos N; Moncany ML. Clear detection and typing of herpes simplex virus types 1 and 2 by an indirect ELISA assay: comparison with three different combined methods--capture ELISA, restriction enzymes, and polymerase chain reaction. J Clin Lab Anal 1997; 11(3):146-53.
4. Herbert AM; Bagg J; Walker DM; Davies KJ; Westmoreland D. Seroepidemiology of herpes virus infections among dental personnel. J Dent 1995;23(6):339-42.
5. Goodyear HM; McLeish P; Randall S; Buchan A; Skinner GR; Winther M; Rolland J; Morgan G; Harper JI. Immunological studies of herpes simplex virus infection in children with atopic eczema. Br J Dermatol 1996;134(1):85-93.



9237 Eton Ave. Chatsworth, CA 91311, USA  
 Info@monocent.com | Tel: 424-310-0777  
 www.monocent.com



ESDOORNLAAN 13, 3951DB MAARN, THE NETHERLANDS.  
 www.cepartner4u.com



## GIARDIA ANTIGEN ELISA TEST SYSTEM



REF EL5-1235  $\Sigma$  96 TESTS



### INTENDED USE

The Monocent, Inc.'s Giardia Antigen ELISA Test System is an *in vitro* immunoassay for the qualitative determination of *Giardia* antigen in fecal specimens.

### SUMMARY AND EXPLANATION

*Giardia lamblia* is the protozoan parasite responsible for the disease giardiasis. Symptoms of acute giardiasis include diarrhea, nausea, weight loss, malabsorption, abdominal cramps, flatulence and anemia.<sup>1</sup> The disease may manifest itself as an acute, chronic or as an asymptomatic infection. Giardiasis is the most prevalent parasitic disease in the United States and is responsible for an estimated 100 million mild infections and 1 million severe infections each year.<sup>9</sup>

The mode of transmission of *Giardia* is through fecal-oral ingestion of cysts. Epidemics of giardiasis have been documented in day care centers and by drinking contaminated water.<sup>1,2</sup> Day care centers may be directly or indirectly responsible for 45% of diagnosed *Giardia* infections in the United States.<sup>4</sup> One study found 54% of the children at a day care center were infected.<sup>1</sup>

Diagnosis of giardiasis has been done through a number of invasive and non-invasive techniques. Of the non-invasive techniques, microscopic examination of stools has been the most common. However, this method relies on an experienced technician and subsequent observation of intact organisms. Because of the historically low proficiency of correct microscopic examinations and intermittent excretion of organisms, alternative diagnostic methods have been investigated.<sup>3,5,6,10,11</sup> One important alternative has been the development of an antigen capture enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for use with stools. These tests have shown comparable sensitivity to experienced microscopic examinations, are fairly simple to perform and do not require the observation of intact organisms.<sup>5,6,7,12</sup>

### PRINCIPLE OF THE TEST

During the first incubation, *Giardia* specific antigen present in the stool specimens are captured by monoclonal antibodies attached to the microwells. The wells are incubated and washed before anti-*Giardia* polyclonal antibodies conjugated to horseradish peroxidase are added. The enzyme conjugate will "sandwich" any antigen bound to the wells. After washings to remove unbound enzyme, a chromogen is added which develops a blue color in the presence of the enzyme complex. The stop solution ends the reaction and turns the blue color to yellow. If no antigen is captured, or if there is an insufficient level of antigen, no colored reaction will take place.

### MATERIALS AND COMPONENTS

- Test Strips: Microwells containing anti-*Giardia* monoclonal antibodies: 96 test wells in a test strip holder.
- Enzyme Conjugate: One (1) bottle containing 11 ml of anti-*Giardia* polyclonal antibodies conjugated to horseradish peroxidase with preservative.
- Positive Control: One (1) vial containing 2 ml of a diluted *Giardia* positive antigen formalinized stool supernatant.
- Negative Control: One (1) vial containing 2 ml of dilution buffer.
- Chromogen: One (1) bottle containing 11 ml of tetramethylbenzidine (TMB) and peroxide.
- Wash Concentrate (20X): Two (2) bottles containing 30 ml of concentrated buffer with detergent and thimerosal.
- Dilution Buffer: Four (4) bottles containing 30 ml of a buffered protein solution with thimerosal.
- Stop Solution: One (1) bottle containing 11 ml of 5% phosphoric acid solution.

### MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Transfer Pipettes
- Squeeze bottle for washing strips (narrow tip is recommended)
- Graduated Cylinder
- Micropipette
- Applicator sticks (recommended) or swabs for sample preparation
- Sample dilution tubes

### Suggested Materials

- ELISA plate reader capable of reading bichromatically at 450/620-650 nm.

### STORAGE CONDITIONS

- Reagents, strips and bottled components should be stored at 2-8°C.
- Squeeze bottle containing diluted wash buffer may be stored at room temperature (15-25°C).

### PRECAUTIONS

- **Do not deviate from the specified procedures when performing this assay.** All specimen dilutions, incubation times/temperatures and washings have been optimized for the best performance characteristics. Deviations from the specified procedures may affect the sensitivity and specificity of the assay.
- For In Vitro Diagnostic Use Only.
- Do not interchange reagents between kits with different lot numbers.
- Do not use reagents that are beyond their expiration dates. Expiration dates are on each reagent label. Use of reagents beyond their expiration

dates may affect results.

- Unused microwells should be stored in the desiccated pouch to protect them from moisture.
- Do not use solutions if they precipitate or become cloudy.

**Exception:** Wash concentrate may precipitate during refrigerated storage but will dissolve upon warming.

- Do not add azides to the samples or any of the reagents.
- Controls and some reagents contain thimerosal as a preservative, which may be irritating to skin, eyes and mucous membranes. In case of contact, flush eyes or rinse skin with copious amounts of water.
- Treat all reagents and samples as potentially infectious materials. Use care to prevent aerosols and decontaminate any spills of samples.
- Stop solution is a 5% solution of phosphoric acid in water. If spilled on the skin, wash with copious amounts of water. If acid gets into the eyes, wash with copious amounts of water and seek medical attention.
- Persons who are color blind or visually impaired may not be able to read the test visually and should use spectrophotometric readings to interpret results.

### COLLECTION OF STOOL (FECES)

- No modification of collection techniques used for standard microscopic O&P examinations is needed.
- Stool samples may be used as unpreserved or frozen, in Cary-Blair Transport Medium or in preservation media of 10% formalin or SAF.
- Unpreserved samples should be kept at 2-8 °C and tested within 24 hours of collection. Samples that cannot be tested within this time should be frozen at -20 °C or lower until used. Avoid multiple freeze/thaw cycles.
- Formalinized and SAF preserved samples may be kept at room temperature (15-25 °C) or at 2-8 °C and tested within 18 months of collection. DO NOT freeze preserved samples.
- Samples in Cary-Blair should be kept at 2-8 °C or -20 °C and tested within 1 week of collection. Avoid multiple freeze/thaw cycles.

### REAGENT PREPARATION

- Before use, bring all reagents and samples to room temperature (15-25 °C) and mix.
- (20X) Wash Concentrate may precipitate during refrigerated storage but will go back into solution when brought to room temperature (15-25°C) and mixed. **Ensure that (20X) wash concentrate is completely in solution before diluting to working concentration.** To dilute (20X) wash concentrate to working dilution, remove cap and add contents of one bottle of Wash Concentrate to a squeeze bottle containing 570 ml of DI water. Swirl to mix. Squeeze bottle should have a narrow tip to optimize washings.

### PROCEDURAL NOTES

- All incubations are to be done at room temperature (15 to 25 °C)
- Ensure all samples and reagents are at room temperature (15-25°C) before use. Frozen samples must be thawed completely before use.
- All dilutions of stools must be made with the Dilution Buffer provided. Do not use dilution buffer from a kit with a different lot number.
- If needed, prepared samples can be centrifuged at 2000-3000 g for 5-10 minutes. Ensure supernatant is clear before use.
- When running the assay, try to avoid the formation of bubbles in the wells. Bubbles may affect overall performance and reading of end results. Slapping the wells out on a clean absorbent towel after each wash step should help to minimize bubbles in the wells.

- Controls must be included each time the kit is run. Controls are provided ready to use. DO NOT dilute further.
- **Unpreserved and Preserved specimens have different testing procedures.** See below for specific instructions on how to run the assay using each procedure.

## PRESERVED SPECIMEN PROCEDURE

1. For samples in SAF, 10% Formalin or Cary-Blair, mix contents thoroughly inside container. No further processing is required.
2. Break off the required number of wells needed (number of samples plus 2 for controls) and place in holder.
3. Using a micropipette, add 100 µl of negative control to well # 1 and 100 µl of positive control to well # 2.
4. Using a micropipette, add 50 µl of Dilution Buffer to each sample well. **DO NOT add Dilution Buffer to control wells.**
5. Add 50 µl of sample to each sample well with Dilution Buffer.
6. Incubate for 60 minutes at room temperature (15-25°C), then wash.\* After last wash, slap the wells out on a clean absorbent towel to remove excess wash buffer.
7. Add 2 drops of Enzyme Conjugate to each well.
8. Incubate for 30 minutes at room temperature (15-25°C), then wash.\* After last wash, slap the wells out on a clean absorbent towel to remove excess wash buffer.
9. Add 2 drops of Chromogen to each well.
10. Incubate for 10 minutes at room temperature (15-25°C).
11. Add 2 drops of Stop Solution to each well. Mix wells by gently tapping the side of the strip holder with index finger for approximately 15 seconds. Read reaction within 5 minutes after adding stop solution.
12. Read results visually or using an ELISA plate reader (see instructions below).

## UNPRESERVED SPECIMEN PROCEDURE

1. Prepare sample dilutions in tubes using 0.7 ml of Dilution Buffer and 0.1 g, about the size of a small pea, of fecal sample using an applicator stick. Mix thoroughly before using.

**-IF USING SWABS,** add 1 ml of dilution buffer to dilution tube. Coat the swab with a thin layer of specimen and mix into dilution buffer, expressing as much fluid as possible. Mix thoroughly before using.

2. For watery unpreserved specimens, mix contents then add 0.1 ml of sample to 0.7 ml of Dilution Buffer in dilution tubes. Mix thoroughly before using.
3. Break off the required number of wells needed (number of samples plus 2 for controls) and place in holder.
4. Using a micropipette, add 100 µl of negative control to well # 1.
5. Using a micropipette, add 100 µl of positive control to well # 2.
6. Add 100 µl of diluted sample to each well.
7. Incubate for 60 minutes at room temperature (15-25°C), then wash.\* After last wash, slap the wells out on a clean absorbent towel to remove excess wash buffer.
8. Add 2 drops of Enzyme Conjugate to each well.
9. Incubate for 30 minutes at room temperature (15-25°C), then wash.\* After last wash, slap the wells out on a clean absorbent towel to remove excess wash buffer.
10. Add 2 drops of Chromogen to each well.
11. Incubate for 10 minutes at room temperature (15-25°C).
12. Add 2 drops of Stop Solution to each well. Mix wells by gently tapping the side of the strip holder with index finger for approximately 15 seconds. Read reaction within 5 minutes after adding stop solution.

13. Read results visually or using an ELISA plate reader (see instructions below).

\* Washings consist of vigorously filling each well to overflowing and decanting contents five (5) separate times. When possible, avoid formation of bubbles in the wells as this may affect the end results.

## TEST LIMITATIONS

- Test results should be used as an aid in diagnosis and should not be interpreted as diagnostic by themselves.
- DO NOT concentrate stool samples. Assay will not give accurate results on a concentrated sample.
- A negative result can occur from an antigen level lower than the detection limits of this assay. Multiple samples over time may be indicated for those patients that are suspected of being positive for *Giardia*.

## READING OF RESULTS

Visually:

- **Positive:** Any sample well that is obviously more yellow than the negative control well.
- **Negative:** Any sample well that is not obviously more yellow than the negative control well.

**NOTE:** The negative control, as well as some samples, may show some slight color. A sample well must be obviously darker than the negative control well to be called a positive result.

ELISA Reader:

- Zero reader on air. **Read all wells using a bichromatic reading with filters at 450 nm and 620-650 nm.**
- **Positive:** Absorbance reading of 0.08 OD and above indicates the sample contains *Giardia* antigen.
- **Negative:** Absorbance reading less than 0.08 OD indicates the sample does not contain detectable levels of *Giardia* antigen.

## EXPECTED RESULTS

- Normal healthy individuals should be free of *Giardia* and should test negative.
- A positive reaction indicates that the patient is shedding detectable amounts of *Giardia* antigen.
- Certain populations, such as children in day care settings, have shown higher rates of infection with *Giardia* than the normal population. Please refer to the Summary section for references.

## QUALITY CONTROL

The positive and negative control must be included each time the assay is run. The use of a positive and negative control allows easy validation of kit stability.

- Negative control should appear colorless when read visually and should read less than 0.08 OD when read at a dual wavelength of 450/620-650 nm.
- Positive control should be a clearly visible yellow color and read at greater than 0.5 OD when read at a dual wavelength of 450/620-650 nm.

## PERFORMANCE CHARACTERISTICS

### Study 1:

A study was performed with the Monocent, Inc.'s *Giardia* ELISA Test System using fresh/frozen specimens, specimens preserved in 10% Formalin and SAF and specimens in Carey-Blair Transport Media. There was a total of 90 specimens used in the study that were identified positive or negative for *Giardia* by microscopy. Of the 90 specimens, 26 were determined to be positive for *Giardia* and 64 were negative for *Giardia*. The results from the study are shown in the following table.

		Microscopy	
		+	-
Monocent	+	26	0
	-	0	64

Sensitivity: 100% (26/26)

Specificity: 100% (64/64)

### Study 2:

A study was performed comparing the Monocent, Inc.'s *Giardia* ELISA Test System with another commercially available ELISA. The study was performed using fresh/frozen specimens and specimens preserved in 10% Formalin and SAF. There was a total of 86 specimens used in the study that were identified either positive or negative for *Giardia* by microscopy. Of the 86 specimens, 22 were identified positive for *Giardia* and 64 were negative for *Giardia*. The results from the study are shown in the following table.

		Monocent	
		+	-
Other Commercial ELISA	+	22	0
	-	0	64

Positive Agreement: 100% (22/22)

Negative Agreement: 100% (64/64)

### Reproducibility

- The intra-assay (well to well) CV was calculated using 4 positive and 4 negative samples assayed 24 times in a single run. The mean CV was 3.67% with the highest being 6.18%.
- The inter-assay (run to run) CV was calculated using 4 positive and 4 negative samples assayed on three separate days. The mean CV was 4.08% with the highest being 11.61%.

### Cross Reactivity

**No cross-reactions were seen with the following organisms:**

*Entamoeba hartmanni*, *Endolimax nana*, *Entamoeba histolytica/dispar*, *Entamoeba coli*, *Blastocystis hominis*, *Dientamoeba fragilis*, *Chilomastix mesnili*, *Strongyloides stercoralis*, *Cryptosporidium*, *Ascaris lumbricoides*, *Enterobius vermicularis*, *Diphyllobothrium* species, *Hymenolepis nana*, *Clonorchis sinensis*, *Enteromonas hominis*, *Trichuris trichiura*, *Iodamoeba buetschlii*, Hookworm, *Schistosoma mansoni*, Rotavirus, *Taenia* eggs, *Fasciola* eggs, *Isospora belli*, *Entamoeba polecki*, Adenovirus, & 33 bacterial species (list available on request).

## TROUBLESHOOTING

- **Problem:** Negative control has excessive color after development.
- **Reason:** Inadequate washings
- **Correction:** Wash more vigorously. Remove excessive liquid from the wells by tapping against an Absorbent towel. Do not allow test wells to dry out

## REFERENCES

1. Black, R. et. al.: Giardiasis in Day-Care Center: Evidence of Person to Person Transmission. *Pediatric*, #60 (4), October 1977, pp. 486-491.
2. Craun, G.: Waterborne Giardiasis in the United States. *Lancet*, August 30, 1986, pp. 513-514.
3. Smith, J.: Identification of Fecal Parasites in the Special Parasitology Survey of the College of American Pathologist. ALCP, Vol. 72 (2) August 1979, pp. 371-373.
4. Kappus, K. and Juranek, D.: *Giardia* in the Well. *JAMA*, March 25, 1988, Vol. 259 (12), pp. 1810.
5. Allison, M.C. et. al.: A Microscopic and Immunodiagnostic Search for Giardiasis in Patients with Gastrointestinal Disorders. *Scan J Gastroenterol*, 1988 #23, pp. 209-212.
6. Nash, T., Herrington, D. and Levine, M.: Usefulness of an Enzyme Linked Immunosorbent Assay for Detection of *Giardia* Antigen in Feces. *J Clin Micro*, July 1987, Vol. 25 (7), pp. 1169-1171.
7. Green, E. Miles, M., and Warhurst, D.: Immunodiagnostic Detection of *Giardia* Antigen in Faeces by a Rapid Visual Enzyme Linked Immunosorbent Assay. *Lancet*, Sept. 28, 1985, pp. 691-693.
8. Peters, C. et al.: Prevalence of Enteric Parasites in Homosexual Patients Attending an Outpatient Clinic. *J Clin Micro*, Oct. 1986, Vol. 24 (4), pp. 684-685.
9. Intestinal Protozoa: Cinderellas of Parasitology. *ASM News*, Vol. 52 (10), 1986. pp. 521-522.
10. Burke, J.: Giardiasis in Childhood. *Am J Dis Child*, Nov. 1975, Vol. 129, pp. 1304-1310.
11. Danciger, M. and Lopez, M.: Numbers of *Giardia* in the Feces of Infected Children. *Am J Trop Med Hyg.*, Vol. 24 (2), 1975, pp. 237-242.
12. Ungar, B. et. al: Enzyme Linked Immunosorbent Assay for the Detection of *Giardia Lamblia* in Fecal Specimens. *J Infect Dis.*, January 1984, Vol. 149 (1), pp. 90-97.

 **Manufactured by  
Monocent, Inc.**

9237 Eton Ave. Chatsworth, CA 91311, USA  
Info@monocent.com | Tel: 424-310-0777  
www.monocent.com

**EC REP** **CEpartner4U**

ESDOORNLAAN 13, 3951DB MAARN, THE NETHERLANDS.  
www.cepartner4u.com



# СЕРТИФІКАТ

CERTIFICATE \* CERTIFICAT \* ZERTIFIKAT \* СЕРТИФИКАТ \* CERTIFICADO

ОРГАН СЕРТИФІКАЦІЇ СИСТЕМ УПРАВЛІННЯ  
ДП «УКРМЕТРТЕСТСТАНДАРТ»  
ЗАСВІДЧУЄ, ЩО

## СИСТЕМА УПРАВЛІННЯ ЯКІСТЮ

### ТОВАРИСТВА З ОБМЕЖЕНОЮ ВІДПОВІДАЛЬНІСТЮ «ВІТРОТЕСТ БІОРЕАГЕНТ»

Юридична адреса: вул. Бойчука, 18-Б, кв. 56, м. Київ,  
01103, Україна  
Адреса виробництва: вул. Курортна, 11, м. Київ, 04075, Україна

код ЄДРПОУ 42149820

СТОСОВНО  
розроблення та виробництва тест-систем імуноферментних

**ВІДПОВІДАЄ ВИМОГАМ  
ДСТУ EN ISO 13485:2018  
(EN ISO 13485:2016, IDT; ISO 13485:2016, IDT)**

Сертифікат № UA.C.378–19 в Реєстрі Органу сертифікації  
zareєстрований " 25 " листопада 2019 року  
чинний до " 24 " листопада 2022 року

Заступник керівника  
Органу сертифікації



В.Д. Ример



ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО «ВСЬУКРАЇНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ НАУКОВО-ВИРОБНИЧИЙ ЦЕНТР  
СТАНДАРТИЗАЦІЇ, МЕТРОЛОГІЇ, СЕРТИФІКАЦІЇ ТА ЗАХИСТУ ПРАВ СПОЖИВАЧІВ»  
(ДП «УКРМЕТРТЕСТСТАНДАРТ»)  
вул. Метрологічна, 4, м. Київ, 03143, Україна, тел./факс +38 044 452-67-38  
Атестат акредитації НААУ № 80020

№ 80020  
ДСТУ EN ISO/IEC 17021-1

Чинність сертифікату можна перевірити на сайті [www.certsystems.kiev.ua](http://www.certsystems.kiev.ua) в розділі  
«Послуги / Сертифікація систем управління»

## DECLARATION OF CONFORMITY №UA-TK051

**Manufacturer:** Vitrotest Bioreagent LLC  
State registration № 42149820

**Legal address:** M.Boychuka 18b, of.56, Kyiv 01103 Ukraine  
**Manufacturer's address:** Kurortnaya 11, Kyiv, 04075, Ukraine

**Description of the product:**

Name	Catalog Number
ELISA test-kit for the determination of antibodies to <i>Ascaris lumbricoides</i> «Vitrotest Anti-Ascaris»	TK051

**Classification:**  
According to medical devices technical regulation for *in vitro* diagnostics, approved by Cabinet of Ministers decree from 02.10.2013 №754

Is not a part of A and B lists, is not a device for self-testing, not for performance assessment.

**Conformity assessment procedure:** Annex 3 of medical devices technical regulation for *in vitro* diagnostics, approved by Cabinet of Ministers decree from 02.10.2013 №754

Vitrotest Bioreagent declares the execution of all demands regarding the device, that was mentioned above, according to medical devices technical regulation for *in vitro* diagnostics, approved by Cabinet of Ministers decree from 02.10.2013 №754, and the requirements of further regulations:

ДСТУ EN ISO 13485:2018  
ДСТУ EN ISO 14971:2015  
ДСТУ EN 13641:2015  
ДСТУ EN ISO 15223-1:2018 (EN ISO 15223-1:2016, IDT; ISO 15223-1:2016, Corrected version 2017-03, IDT)  
ДСТУ EN ISO 23640:2015 (EN ISO 23640:2015, IDT; ISO 23640:2011, IDT)

The declaration is made under sole responsibility of the manufacturer.

**Date of issue:** 31.10.2019  
**Validity of declaration till:** 31.10.2024

Director



Ihor Nikolaienko, Ph.D.

## DECLARATION OF CONFORMITY №UA-TK030

**Manufacturer:** Vitrotest Bioreagent LLC  
State registration № 42149820

**Legal address:** M.Boychuka 18b, of.56, Kyiv 01103 Ukraine

**Manufacturer's address:** Kurortnaya 11, Kyiv, 04075, Ukraine

**Description of the product:**

Name	Catalog Number
ELISA test-kit for the determination of antibodies to <i>Giardia lamblia</i> ( <i>intestinalis</i> ) «Vitrotest Anti-Lamblia»	TK030

**Classification:**

According to medical devices technical regulation for *in vitro* diagnostics, approved by Cabinet of Ministers decree from 02.10.2013 №754

Is not a part of A and B lists, is not a device for self-testing, not for performance assessment.

**Conformity assessment procedure:**

Annex 3 of medical devices technical regulation for *in vitro* diagnostics, approved by Cabinet of Ministers decree from 02.10.2013 №754

Vitrotest Bioreagent declares the execution of all demands regarding the device, that was mentioned above, according to medical devices technical regulation for *in vitro* diagnostics, approved by Cabinet of Ministers decree from 02.10.2013 №754, and the requirements of further regulations:

ДСТУ EN ISO 13485:2018

ДСТУ EN ISO 14971:2015

ДСТУ EN 13641:2015

ДСТУ EN ISO 15223-1:2018 (EN ISO 15223-1:2016, IDT; ISO 15223-1:2016, Corrected version 2017-03, IDT)

ДСТУ EN ISO 23640:2015 (EN ISO 23640:2015, IDT; ISO 23640:2011, IDT)

The declaration is made under sole responsibility of the manufacturer.

**Date of issue: 31.10.2019**

**Validity of declaration till: 31.10.2024**

Director



Ihor Nikolaienko, Ph.D.

## СЕРТИФІКАТ ЯКОСТІ

на імуноферментну тест-систему для виявлення антитіл до *Giardia lamblia (intestinalis)* «Vitrotest Anti-Lamblia»

Серія:	0319	Дата виготовлення:	2019-12-06
Номер за каталогом та варіант комплектації:	TK030 96-1T	Строк придатності:	2020-12-06

### Комплектність тест-системи та строк придатності компонентів

Компонент	Колір, кількість та об'єм (або інші характеристики)	Серія	Строк придатності
ІФА-планшет	1 шт.(12 стрипів по 8 лунок), цілісність вакуумної упаковки збережено	0319	2021/02/26
Позитивний контроль	Рожева рідина, мікропробірка з червоно-помаранчевою кришкою, 1×0,3 мл	0319	2021/02/26
Негативний контроль	Жовта рідина, мікропробірка з зеленою кришкою, 1×0,5 мл	0319	2021/02/27
Розчин для промивання Tween20 (20x) (концентрат)	Безбарвна рідина, білий флакон з білою кришкою, 1×50,0 мл	0419 0519	2021/03/09 2021/05/21
Розчин для розведення сироваток	Фіолетова рідина, білий флакон з синьою кришкою, 1×12,0 мл	0319	2021/02/22
Розчин кон'югату	Зелена рідина, білий флакон з зеленою кришкою, 1×12,0 мл	0319	2021/02/22
Розчин ТМБ	Безбарвна рідина, чорний флакон з чорною кришкою, 1×12,0 мл	0319	2021/04/18
Стоп-реагент	Безбарвна рідина, білий флакон з червоною кришкою, 1×12,0 мл	0419 0519	2021/03/16 2021/05/21
Клейка плівка	У наявності 2 шт.	x	Необмежений
Бланк внесення проб	У наявності 1 екземпляр	x	Необмежений
Інструкція	1 екземпляр (редакція 1)	x	Необмежений

### Діагностичні характеристики тест-системи

Показник	Результат контролю	Вимоги нормативної документації
ОГ позитивного контролю (450/620 нм)	2,739 ОО	≥ 1,2 ОО
ОГ негативного контролю (450/620 нм)	0,030 ОО	≤ 0,15 ОО
Чутливість на внутрішньовиробничій панелі сироваток	100 %	100 %
Специфічність на внутрішньовиробничій панелі сироваток	100 %	100 %

**Висновок:** імуноферментна тест-система для виявлення антитіл до *Giardia lamblia (intestinalis)* «Vitrotest Anti-Lamblia» серії 0319 відповідає вимогам ТУ.У 24.4–36555928–001:2011.

Директор ТОВ „ВІТРОТЕСТ БІОРЕАГЕНТ“

М.І. Коляченко І.В.

## СЕРТИФІКАТ ЯКОСТІ

на імуноферментну тест-систему для виявлення антитіл  
 до *Trichinella spiralis* «Vitrotest Anti-Trichinella»

Серія:	0319	Дата виготовлення:	2019-12-19
Номер за каталогом та варіант комплектації:	TK067 96-1T	Строк придатності:	2020-12-19

### Комплектність тест-системи та строк придатності компонентів

Компонент	Колір, кількість та об'єм (або інші характеристики)	Серія	Строк придатності
ІФА-планшет	1 шт.(12 стрипів по 8 лунок), цілісність вакуумної упаковки збережено	0319	2021/03/01
Позитивний контроль	Рожева рідина, мікропробірка з червоно-помаранчевою кришкою, 1×0,3 мл	0319	2021/03/04
Негативний контроль	Жовта рідина, мікропробірка з зеленою кришкою, 1×0,5 мл	0319	2021/03/04
Розчин для промивання Tween20 (20x) (концентрат)	Безбарвна рідина, білий флакон з білою кришкою, 1×50,0 мл	0519	2021/05/21
Розчин для розведення сироваток	Коричнево-зелена рідина, білий флакон з синьою кришкою, 1×12,0 мл	0319	2021/02/25
Розчин кон'югату	Зелена рідина, білий флакон з зеленою кришкою, 1×12,0 мл	0319	2021/02/25
Розчин ТМБ	Безбарвна рідина, чорний флакон з чорною кришкою, 1×12,0 мл	0319 0419	2021/04/18 2021/06/05
Стоп-реагент	Безбарвна рідина, білий флакон з червоною кришкою, 1×12,0 мл	0519	2021/05/21
Клейка плівка	У наявності 2 шт.	x	Необмежений
Бланк внесення проб	У наявності 1 екземпляр	x	Необмежений
Інструкція	1 екземпляр (редакція 1)	x	Необмежений

### Діагностичні характеристики тест-системи

Показник	Результат контролю	Вимоги нормативної документації
ОГ позитивного контролю (450/620 нм)	2,590 00	≥ 1,2 00
ОГ негативного контролю (450/620 нм)	0,012 00	≤ 0,15 00
Чутливість на внутрішньовиробничій панелі сироваток	100 %	100 %
Специфічність на внутрішньовиробничій панелі сироваток	100 %	100 %

**Висновок:** імуноферментна тест-система для виявлення антитіл до *Trichinella spiralis* «Vitrotest Anti-Trichinella» серії 0319 відповідає вимогам ТУ.У 24.4–36555928–001:2011.

Директор ТОВ „ВІТРОТЕСТ БІОРЕАГЕНТ”


 к.м.н. Ніколасенко І.В.

## СЕРТИФІКАТ ЯКОСТІ

### на імуноферментну тест-систему для виявлення антитіл до *Ascaris lumbricoides* «Vitrotest Anti-Ascaris»

Серія:	0419	Дата виготовлення:	2019-12-06
Номер за каталогом та варіант комплектації:	TK051 96-1T	Строк придатності:	2020-12-06

### Комплектність тест-системи та строк придатності компонентів

Компонент	Колір, кількість та об'єм (або інші характеристики)	Серія	Строк придатності
ІФА-планшет	1 шт.(12 стрипів по 8 лунок), цілісність вакуумної упаковки збережено	0419	2021/02/28
Позитивний контроль	Рожева рідина, мікропробірка з червоно-помаранчевою кришкою, 1×0,3 мл	0419	2021/02/28
Негативний контроль	Жовта рідина, мікропробірка з зеленою кришкою, 1×0,5 мл	0319	2021/03/02
Розчин для промивання Tween20 (20x) (концентрат)	Безбарвна рідина, білий флакон з білою кришкою, 1×50,0 мл	0519	2021/05/21
Розчин для розведення сироваток	Коричнево-зелена рідина, білий флакон з синьою кришкою, 1×12,0 мл	0419	2021/02/22
Розчин кон'югату	Зелена рідина, білий флакон з зеленою кришкою, 1×12,0 мл	0419	2021/02/22
Розчин ТМБ	Безбарвна рідина, чорний флакон з чорною кришкою, 1×12,0 мл	0319	2021/04/18
Стоп-реагент	Безбарвна рідина, білий флакон з червоною кришкою, 1×12,0 мл	0519	2021/05/21
Клейка плівка	У наявності 2 шт.	x	Необмежений
Бланк внесення проб	У наявності 1 екземпляр	x	Необмежений
Інструкція	1 екземпляр (редакція 1)	x	Необмежений

### Діагностичні характеристики тест-системи

Показник	Результат контролю	Вимоги нормативної документації
ОГ позитивного контролю (450/620 нм)	2,763 00	≥ 1,2 00
ОГ негативного контролю (450/620 нм)	0,017 00	≤ 0,15 00
Чутливість на внутрішньовиробничій панелі сироваток	100 %	100 %
Специфічність на внутрішньовиробничій панелі сироваток	100 %	100 %

**Висновок:** імуноферментна тест-система для виявлення антитіл до *Ascaris lumbricoides* «Vitrotest Anti-Ascaris» серії 0419 відповідає вимогам ТУ.У 24.4–36555928–001:2011.

Директор ТОВ «ВІТРОТЕСТ БІОРЕАГЕНТ»

М.М. Ніколаєнко І.В.

## СЕРТИФІКАТ ЯКОСТІ

на імуноферментну тест-систему для виявлення антитіл  
 до *Toxocara canis* «Vitrotest Anti-Toxocara»

Серія:	0319	Дата виготовлення:	2019-12-04
Номер за каталогом та варіант комплектації:	TK058 96-1T	Строк придатності:	2020-12-04

### Комплектність тест-системи та строк придатності компонентів

Компонент	Колір, кількість та об'єм (або інші характеристики)	Серія	Строк придатності
ІФА-планшет	1 шт.(12 стрипів по 8 лунок), цілісність вакуумної упаковки збережено	0319	2021/03/02
Позитивний контроль	Рожева рідина, мікропробірка з червоно-помаранчевою кришкою, 1×0,3 мл	0319	2021/03/05
Негативний контроль	Жовта рідина, мікропробірка з зеленою кришкою, 1×0,5 мл	0319	2021/03/05
Розчин для промивання Tween20 (20x) (концентрат)	Безбарвна рідина, білий флакон з білою кришкою, 1×50,0 мл	0519	2021/05/21
Розчин для розведення сироваток	Коричнево-зелена рідина, білий флакон з синьою кришкою, 1×12,0 мл	0319	2021/02/25
Розчин кон'югату	Зелена рідина, білий флакон з зеленою кришкою, 1×12,0 мл	0319	2021/02/25
Розчин ТМБ	Безбарвна рідина, чорний флакон з чорною кришкою, 1×12,0 мл	0419	2021/06/05
Стоп-реагент	Безбарвна рідина, білий флакон з червоною кришкою, 1×12,0 мл	0519	2021/05/21
Клейка плівка	У наявності 2 шт.	x	Необмежений
Бланк внесення проб	У наявності 1 екземпляр	x	Необмежений
Інструкція	1 екземпляр (редакція 1)	x	Необмежений

### Діагностичні характеристики тест-системи

Показник	Результат контролю	Вимоги нормативної документації
ОГ позитивного контролю (450/620 нм)	2,714 ОО	≥ 1,2 ОО
ОГ негативного контролю (450/620 нм)	0,019 ОО	≤ 0,15 ОО
Чутливість на внутрішньовиробничій панелі сироваток	100 %	100 %
Специфічність на внутрішньовиробничій панелі сироваток	100 %	100 %

**Висновок:** імуноферментна тест-система для виявлення антитіл до *Toxocara canis* «Vitrotest Anti-Toxocara» серії 0319 відповідає вимогам ТУ.У 24.4–36555928–001:2011.

Директор ТОВ „ВІТРОТЕСТ БІОРЕАГЕНТ”

К.М.Н. Николаєнко І.В.

№ 06/22

Date: 19.01.2022 p.

## STATEMENT

We, Vitrotest Bioreagent LLC, having a registered office at M. Boychuka street 18b/56, Kyiv 01103 Ukraine, assign SRL SANMEDICO having a registered office at A. Corobceanu street 7A, apt. 9, Chişinău MD-2012, Moldova, as authorized representative.

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

Signature: \_\_\_\_\_



Director Ihor Nikolaienko Ph.D



# ВНИМАНИЕ! ВРЕМЯ ИНКУБАЦИИ С РАСТВОРОМ ТМБ СОКРАТИЛОСЬ ДО 15 МИН!

## ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

### Vitrotest® Anti-Ascaris

Иммуноферментная тест-система для выявления антител к  
*Ascaris lumbricoides*

TK051  
96 анализов

IVD

#### 1. НАЗНАЧЕНИЕ

Иммуноферментная тест-система Vitrotest® Anti-Ascaris предназначена для выявления антител класса IgG к *Ascaris lumbricoides* в сыворотке или плазме крови человека. Тест-набор может быть применен как для проведения иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием автоматических пипеток и стандартного оборудования, так и для постановки на автоматическом иммуноферментном анализаторе открытого типа.

#### 2. КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Аскаридоз распространен во всем мире, особенно в тропических и субтропических странах. Возбудитель аскаридоза у человека - *Ascaris lumbricoides*, - круглый гельминт из группы нематод. Взрослые аскариды паразитируют в тонком кишечнике, имеют длину 15-40 см и диаметр до 5 мм, производят до 200000 яиц в день.

Человек заражается яйцами аскарид через загрязненную воду или пищевые продукты. Зрелые яйца аскарид попадают в двенадцатиперстную кишку, где из них выходят личинки, которые проникают в кровоток. С током крови личинки достигают печени, сердца и легких. В альвеолах легких личинки развиваются и через 3 недели при откашливании с током слюны по дыхательным путям попадают в глотку, вторично заглатываются, и далее попадая в тонкий кишечник, достигают половой зрелости.

Часто, инфекция *A. lumbricoides* проходит бессимптомно. Однако, в случае тяжелой инфекции, симптомы могут включать кровавую мокроту, кашель, лихорадку, дискомфорт в животе, кишечные язвы и выход паразитов. Аскаридоз также является наиболее частой причиной синдрома Леффлера во всем мире. Сопутствующие симптомы включают легочную инфильтрацию и эозинофилию.

Основными методами диагностики аскаридоза является микроскопия (обнаружение яиц в фекалиях) и серологические (обнаружение антител с помощью ИФА).

Наиболее распространенным методом лабораторной диагностики аскаридоза в настоящее время является обнаружение яиц и гельминтов в фекалиях. Этот метод эффективен при паразитировании взрослых аскарид в кишечнике. На стадии миграции личинок эффективность диагностики аскаридоза может быть значительно повышена при применении ИФА для выявления антител к антигенам гельминта. Результаты такого серологического анализа в комплексе с данными анамнеза и учетом клинической симптоматики пациента позволяют диагностировать аскаридозную инвазию на ранних стадиях и начать проведение терапии еще до появления осложнений заболевания.

#### 3. ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Выявление антител класса IgG, специфичных к *A. lumbricoides*, в тест-системе Vitrotest® Anti-Ascaris базируется на принципе «непрямого» твердофазного ИФА в двухэтапной инкубации. В лунках планшета засорбированы антигены *A. lumbricoides*. Во время первого этапа инкубации исследуемых образцов в лунках ИФА-планшета специфичные к *A. lumbricoides* антитела, при условии их присутствия, связываются с антигенами на твердой фазе. После отмывания несвязанных компонентов в лунки добавляется конъюгат антивидовых анти-IgG моноклональных антител с пероксидазой хрена, которые связываются с иммунными комплексами на твердой фазе. Несвязанные компоненты удаляются во время отмывания. Комплексы антиген-антитело выявляются путем добавления раствора хромогена 3,3',5,5'-тетраметилбензидина (ТМБ) с перекисью водорода. После 15 мин инкубации реакция останавливается при добавлении стоп-реагента. Оптическая плотность (ОП) в лунках определяется на спектрофотометре при длине волны 450/620-695 нм. Значение ОП, полученное для образца, позволяет установить наличие или отсутствие антител к *A. lumbricoides*. Интенсивность желтой окраски прямо пропорциональна количеству антител в образце.

#### 4. МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

##### 4.1. Состав набора

ELISA STRIPS	1x96 лунок	ИФА-планшет В каждой лунке планшета засорбированы антигены <i>A.lumbricoides</i> . Лунки можно отделять. 12 стрипов по 8 лунок.
CONTROL +	1x0,5 ml	Положительный контроль Раствор иммуноглобулинов, специфических к <i>A. Lumbricoides</i> , с консервантом (розовый).

<b>CONTROL</b> –	1x0,5 ml	Отрицательный контроль Раствор альбумина с консервантом (желтый).
<b>SAMPLE DILUENT</b>	1x12 ml	Раствор для разведения сывороток Буферный раствор с детергентом и консервантом (коричнево-зеленый).
<b>CONJUGATE SOLUTION</b>	1x12 ml	Раствор конъюгата Буферный раствор моноклональных антител к IgG человека, конъюгированных с пероксидазой хрена, со стабилизаторами и консервантом (зелёный), готовый к использованию.
<b>TMB SOLUTION</b>	1x12 ml	Раствор ТМБ Раствор ТМБ, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , стабилизатор, консервант (бесцветный), готовый к использованию.
<b>WASH TWEEN 20X</b>	1x50 ml	Раствор для промывания Tw20 (20x) 20-ти кратный концентрат фосфатного буфера с Твином-20 и NaCl (бесцветный).
<b>STOP SOLUTION</b>	1x12 ml	Стоп-реагент Раствор 0,5 mol/l H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (бесцветный), готовый к использованию.

Клейкая пленка (2), бланк внесения проб (1) и инструкция по применению.

## 4.2. Дополнительные реактивы, материалы и оборудование

- Автоматические пипетки переменного объема на 10-1000  $\mu$ л и наконечники к ним;
- спектрофотометр (ридер) для микропланшетов на 450/620-695 nm,
- мерная лабораторная посуда (10-1000 ml);
- деионизированная или дистиллированная вода;
- термостат на 37 °C;
- автоматический или полуавтоматический промыватель планшетов (вошер);
- контейнеры для отходов потенциально зараженного материала;
- таймер;
- фильтровальная бумага;
- одноразовые перчатки;
- дезинфицирующие средства;
- защитная одежда.

## 5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

### 5.1. Предостережения

*Соблюдение времени инкубации и температуры является чрезвычайно важным для корректного результата ИФА.*

- не использовать компоненты тест-системы по окончании срока годности;
- не использовать при анализе и не смешивайте компоненты разных серий, компоненты из тест-систем различных нозологий или реагенты других производителей в сочетании с наборами Vitrotest®;

*Примечание: допускается использование **WASH TWEEN 20X**, **TMB SOLUTION** и **STOP SOLUTION** других серий.*

- после использования реагента закрывать каждый флакон своей крышкой;
- во время промывания контролировать наполнение и полную аспирацию раствора из лунок;
- каждый раз использовать новый наконечник пипетки для внесения образцов или реагентов;
- избегать попадания прямых солнечных лучей на реагенты тест-системы;
- **TMB SOLUTION** должен быть бесцветным перед использованием. Если раствор окрашен в синий или желтый цвет его нельзя использовать. Избегать контакта **TMB SOLUTION** с металлами или ионами металлов. Для работы используйте только чистую, тщательно вымытую дистиллированной водой посуду;
- ни в коем случае не использовать одну и ту же посуду для **CONJUGATE SOLUTION** и **TMB SOLUTION**.

*Производитель не несет ответственности за любые некорректные результаты и неблагоприятные случаи, возникшие вследствие нарушений вышеуказанных предостережений. Производитель не несет ответственности за визуальный учет результатов анализа (без использования спектрофотометра).*

## 5.2. Меры безопасности

- все реагенты набора предназначены только для *in vitro* диагностики и могут использоваться только квалифицированным персоналом;
- постановку анализа проводить только в одноразовых перчатках и защитных очках;
- не допускается принимать пищу, пить, курить или пользоваться косметикой в комнате выполнения теста;
- не пипетировать растворы ртом;
- положительный и отрицательный контроли тест-системы Vitrotest® Anti-Ascaris не содержат компонентов человеческого происхождения;
- некоторые компоненты тест-системы содержат низкие концентрации вредных веществ и могут вызвать раздражение кожи и слизистых оболочек. При попадании [TMB SOLUTION], [STOP SOLUTION] и [CONJUGATE SOLUTION] на слизистые оболочки и кожу необходимо немедленно промыть пораженное место большим количеством воды;
- в случае разбрызгивания растворов, не содержащих кислоту, например, сывороток, обработать поверхность дезинфицирующим средством, а затем вытереть насухо фильтровальной бумагой. В другом случае кислоту сначала необходимо нейтрализовать раствором бикарбоната натрия, а затем вытереть поверхность, как описано выше.

## 5.3. Утилизация отходов

- жидкие отходы следует инактивировать, например, раствором перекиси водорода в конечной концентрации 6 % в течение 3 h при комнатной температуре, или гипохлоритом натрия в конечной концентрации 5 % в течение 30 min, или другими разрешенными дезинфицирующими средствами;
- твердые отходы следует инактивировать путем автоклавирования при температуре 121 °C в течение 1 h;
- не автоклавировать растворы, содержащие азид натрия или гипохлорит натрия;
- удаление инактивированных отходов проводить в соответствии с действующим национальным законодательством;
- удаление остальных компонентов тест-систем после использования проводить согласно GLP (good laboratory practice) и действующего национального законодательства в сфере обращения с отходами.

## 6. ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Реагенты тест-системы стабильны в течение срока годности, указанного на этикетке, если их хранить при 2-8 °C. Не допускается замораживание тест-системы. Транспортировать набор при температуре 2-8 °C. Допускается однократная транспортировка при температуре не выше 23 °C в течение двух суток.

*После вскрытия первичной упаковки компоненты тест-системы являются стабильными в течение 3 месяцев, кроме тех, которые указаны в п. 8 настоящей Инструкции.*

## 7. ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Образцы сыворотки или плазмы крови хранить при температуре 2-8 °C не более 3 суток после забора. Для более длительного хранения образцы хранить в морозильной камере при температуре от -20 до -70 °C. Замороженные образцы перед использованием необходимо разморозить и выдержать при комнатной температуре в течение 30 min. Не использовать прогретые образцы. После размораживания образцы следует перемешать для достижения однородности. Избегать повторного замораживания-оттаивания исследуемых образцов. В случае помутнения сыворотки (или плазмы) освободить образец от нерастворимых включений центрифугированием при 3000 оборотов/min в течение 10-15 min. Не использовать образцы сывороток (или плазмы) с выраженной липидемией, гемолизом, а также бактериальным прорастанием. На результаты анализа не влияет присутствие в образце билирубина в концентрации до 0,21 mg/ml (361,8 µmol/l), гемоглобина в концентрации до 10 mg/ml и триглицеридов в концентрации до 10 mg/ml (11,3 mmol/l).

## 8. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

*Очень важно выдержать все реагенты тест-системы при комнатной температуре (18-25 °C) в течение 30 min перед использованием!*

### 8.1. Подготовка ИФА-планшета

Для предупреждения конденсации воды в лунках необходимо открывать только после выдерживания 30 min при комнатной температуре. Потом раскрыть вакуумную упаковку, отделить необходимое количество лунок, а остальные сразу же тщательно упаковать с влагопоглотителем и хранить плотно закрытыми на замок (zip-lock) при температуре 2-8 °C. Хранение таким образом упакованного планшета обеспечивает его стабильность в течение 3 месяцев.

### 8.2. Приготовление раствора для промывания

Для приготовления раствора для промывания развести концентрат [WASH TWEEN 20X] 1:20 (1+19) дистиллированной или деионизированной водой, затем перемешать. Например, 4 ml концентрата + 76 ml воды, что достаточно для 8 лунок. В случае наличия кристаллов в

концентрате раствора для промывания, прогреть флакон при 37 °С до полного растворения кристаллов (15-20 min). Разведенный раствор можно хранить при температуре 2-8 °С не более 7 суток.

## 9. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

- 9.1. Подготовить необходимое количество лунок для анализа (количество исследуемых образцов и четыре лунки для контролей), вставить их в рамку ИФА-планшета. Лунки с контролями обязательно включать в каждую постановку анализа.
- 9.2. Заполнить бланк внесения проб.
- 9.3. Приготовить раствор для промывания согласно пункту 8.2.
- 9.4. Внести во все лунки планшета по 90 µl [SAMPLE DILUENT].
- 9.5. Внести в лунки по 10 µl контролей и исследуемых образцов: в лунку A1 – [CONTROL +], в лунки B1, C1 та D1 – [CONTROL -], в остальные лунки - исследуемые образцы. Осторожно пипетировать смесь в лунках, не допуская пенообразования. При внесении образцов происходит изменение цвета раствора в лунках с коричнево-зеленого на синий.
- 9.6. Заклеить стрипы клейкой пленкой и инкубировать в течение 30 min при температуре 37 °С.
- 9.7. По окончании инкубации осторожно снять клейкую пленку и промыть лунки пять раз с использованием автоматического промывателя или 8-канальной пипетки следующим образом:
  - удалить содержимое лунок в контейнер для жидких отходов;
  - наполнить лунки не менее чем по 300 µl раствора для промывания, оставить не менее чем на 30 s;
  - аспирировать раствор из лунок, остаточный объем раствора после аспирации на всех этапах промывания должен составлять не более 5 µl;
  - повторить процедуру промывания еще четыре раза;
  - после последней аспирации избавиться от лишней влаги, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге.
- 9.8. В лунки внести по 100 µl [CONJUGATE SOLUTION]. Стрипы накрыть новой клейкой пленкой и инкубировать в течение 30 min при 37 °С.
- 9.9. По окончании инкубации осторожно снять клейкую пленку и промыть лунки пять раз, как описано в пункте 9.7.
- 9.10. Не касаясь дна и стенок лунок планшета, внести по 100 µl [TMB SOLUTION] в лунки.
- 9.11. Инкубировать стрипы в течение **15 min** в темном месте при комнатной температуре 18-25 °С. Не использовать клейкую пленку на данном этапе.
- 9.12. Для остановки ферментативной реакции внести в лунки по 100 µl [STOP SOLUTION] придерживаясь той же последовательности, что и при внесении [TMB SOLUTION].
- 9.13. Измерить на ридере ОП в каждой лунке при длине волны 450/620-695 nm в течение 5 min после остановки реакции. До проведения измерения необходимо убедиться в чистоте наружной поверхности дна лунок и отсутствии пузырьков.

*Учет результатов анализа можно проводить в одноволновом режиме при длине волны 450 nm, в этом случае следует оставить лунку для установления бланка (в такую лунку вносить только [TMB SOLUTION] и [STOP SOLUTION]).*

## 10. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ И ИХ ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

### 10.1. Учет результатов анализа

Рассчитать среднее значение ОП отрицательного контроля ( $N_c$ ), уровень граничного значения (Cut off - CO) и индекс позитивности образца ( $IP_{sample}$ ),

$$N_c = (Nc1 + Nc2 + Nc3) / 3;$$

$$CO = N_c + 0,3;$$

$$IP_{sample} = OD_{sample} / CO; \quad \text{где } OD_{sample} - \text{ОП}_{образца}$$

### 10.2. Достоверность результатов анализа

Данные теста считаются достоверными, если они отвечают следующим требованиям:

[CONTROL +]	ОП $\geq 1,200$
[CONTROL -]	ОП $\leq 0,150$
[CONTROL -]	$N_c \times 0,5 \leq N_{cn} \leq N_c \times 2,0$

Если одно из значений ОП отрицательного контроля выходит за пределы указанного выше интервала, его отбрасывают и рассчитывают среднее  $N_c$  по остальным значениям ОП отрицательного контроля. Если более одного из значений ОП отрицательного контроля не отвечают указанным требованиям, то тест считается некорректным и требует повторного анализа.

### 10.3. Интерпретация результатов

$IP_{\text{sample}} > 1,1$	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ
$0,9 \leq IP_{\text{sample}} \leq 1,1$	НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ*
$IP_{\text{sample}} < 0,9$	ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ

\* Неопределенные образцы рекомендуется исследовать повторно. Если результаты снова будут в пределах неопределенных, следует произвести забор нового образца.

## 11. ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

### 11.1. Специфичность и чувствительность

Для оценки чувствительности было проанализировано 64 образца сывороток крови, положительных в другой коммерческой тест-системе, относительная чувствительность Vitrotest® Anti-Ascaris при этом составляла 92 %. В сравнительных исследованиях тест-системы Vitrotest® Anti-Ascaris с другой коммерческой тест-системой было проанализировано 224 отрицательных образца сывороток крови доноров. При этом относительная специфичность набора составила 93,3 %.

### 11.2. Точность

*Повторяемость результатов в пределах одной постановки анализа (Intra assay repeatability)*

Коэффициент вариации (CV) для трех сывороток с разным уровнем специфических антител оценивали в 24 повторях на одной серии тест-системы.

№ сыворотки	ОП <sub>ср</sub>	IP <sub>ср</sub>	CV, %
102L	0,636	1,83	5,3
133L	1,349	3,88	1,0
948	2,593	7,45	1,0

*Воспроизводимость результатов между различными постановками анализа (Inter assay reproducibility)*

Коэффициент вариации (CV) для трех сывороток с разным уровнем специфических антител оценивали в течение четырех дней в четырех постановках анализа, по 8 повторов в каждом анализе.

№ сыворотки	ОП <sub>ср</sub>	IP <sub>ср</sub>	CV, %
102L	0,637	1,76	3,7
133L	1,329	3,67	2,5
948	2,539	7,01	2,5

## 12. ОГРАНИЧЕНИЯ АНАЛИЗА

Положительный результат в тест-системе Vitrotest® Anti-Ascaris является свидетельством наличия у пациента антител класса IgG, специфичных к *Ascaris lumbricoides*. Наличие антител этого класса у новорожденных не является доказательством инвазии *Ascaris lumbricoides*.

Неопределенные результаты могут свидетельствовать об инвазии *Ascaris lumbricoides* в анамнезе.

Отрицательный результат в тест-системе Vitrotest® Anti-Ascaris свидетельствует об отсутствии в исследуемом образце антител, специфичных к *Ascaris lumbricoides*, или концентрация специфических антител ниже предела чувствительности анализа.

Окончательный диагноз не может быть установлен только на основании результатов серологического теста. При установлении диагноза следует учитывать результаты комплекса лабораторных и инструментальных исследований, а также клинические проявления заболевания. Нельзя полностью исключить перекрестные реакции с антителами к антигенам других гельминтов.

### 13. ПРОБЛЕМЫ, КОТОРЫЕ МОГУТ ВОЗНИКНУТЬ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ИФА И СПОСОБЫ ИХ УСТРАНЕНИЯ

<i>Возможные причины</i>	<i>Способы устранения проблем</i>
<i>Высокий фон в лунках всего планшета</i>	
Загрязненный промыватель	Прочистить головку промывателя и промыть 30 % раствором этилового спирта, затем дистиллированной водой
Низкое качество или загрязненность воды	Использовать очищенную воду с удельным сопротивлением $\geq 10$ М $\Omega$ -см.
Использование плохо вымытой посуды	Использовать химически чистую посуду
Использование дезинфицирующих средств, содержащих хлор	Не использовать хлорсодержащие дезинфицирующие средства
Использование загрязненных наконечников	Использовать новые наконечники
Увеличено время инкубации или изменен температурный режим	Придерживаться режима инкубации согласно инструкции по применению
<i>Высокий фон в отдельных рядах</i>	
Повторное внесение раствора ТМБ	Раствор ТМБ вносить один раз
Загрязнение конуса автоматической пипетки раствором конъюгата	Прочистить пипетку и осторожно набирать раствор
Загрязнен один из каналов промывателя	Прочистить канал промывателя, промыть вошер
<i>Значение ОП положительного контроля ниже установленной границы</i>	
Неправильно приготовлен или не внесен один из реагентов (конъюгат или раствор ТМБ)	Повторно провести ИФА, обратить внимание на приготовление этих реагентов
Сокращено время инкубации на одном из этапов	Проводить инкубацию согласно инструкции по применению
<i>Интенсивность окрашивания лунок не отвечает полученной ОП</i>	
Смещен оптический луч	Проверить корректность работы ридера

### ЛИТЕРАТУРА

1. Gildner TE, Cepon-Robins TJ, et. al. Regional variation in *Ascaris lumbricoides* and *Trichuris trichiura* infections by age cohort and sex: effects of market integration among the indigenous Shuar of Amazonian Ecuador. // *J Physiol Anthropol.* – 2016. – V.35, N. 1. – P. 28.
2. Guadalupe I., Mitre E., Benitez S. et.al. Evidence for in utero sensitization to *Ascaris lumbricoides* in newborns of mothers with ascariasis. // *J Infect Dis.* - 2009. – V. 199 N.12 – p.1846–1850.
3. Khuroo M.S., Rather A.A., Khuroo N.S., Khuroo M.S. Hepatobiliary and pancreatic ascariasis // *World J. Gastroenterol.* -2016.- V 22, N 33.- P. 7507-7517.

## ГРАФИЧЕСКИЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

REF

Номер по каталогу



Используйте инструкцию по применению

IVD

Медицинское изделие для диагностики in vitro



Производитель



Предупреждение



Достаточно для проведения <n> количества исследований



Ограничение температуры

LOT

Код партии



Использовать до



Дата производства



Беречь от прямых солнечных лучей



Знак соответствия техническим регламентам

ТУ У 24.4-36555928-001:2011  
Inst\_Anti-Ascaris\_TK051\_V07\_RU

Редакция Инструкции № 7 от 12.01.2022

По вопросам и пожеланиями относительно работы изделия обращайтесь к производителю:



ООО «Витротест Биореагент»,  
ул. М. Бойчука 18 б, оф. 56, г. Киев, 01103, Украина (юридический адрес)  
ул. Курортная, дом. 11, г. Київ, 04075, Украина (местонахождение производства)

тел.: +38 (044) 222-76-72, +38 (097) 222-76-72  
e-mail: info@vitrotest.ua, www.vitrotest.ua



# ВНИМАНИЕ! ВРЕМЯ ИНКУБАЦИИ С РАСТВОРОМ ТМБ СОКРАТИЛОСЬ ДО 15 МИН!

## Vitrotest® Anti-Ascaris

### СХЕМА АНАЛИЗА



Выдержать все реагенты не менее 30 мин при 18-25 °С перед использованием



Внести 90µl **[SAMPLE DILUENT]** в лунки  
(коричнево-зеленый цвет)



Внести 10µl контролей и образцов в лунки:

A1 – **[CONTROL +]**,

B1, C1, D1 – **[CONTROL -]**,

E1 и другие лунки – исследуемые образцы

(цвет изменится с коричнево-зеленого на синий)



Заклеить стрипы пленкой, инкубировать 30 мин при 37 °С



Промыть лунки 5 раз разведённым 1:20 (1+19) раствором для промывания Tw20 (300 µl в лунку)



Добавить 100µl **[CONJUGATE SOLUTION]** в лунки  
(зеленый цвет)



Заклеить стрипы пленкой, инкубировать 30 мин при 37 °С



Промыть лунки 5 раз разведённым 1:20 (1+19) раствором для промывания Tw20 (300 µl в лунку)



Добавить 100µl **[TMB SOLUTION]** в каждую лунку



Инкубировать **15 min** в темноте при 18-25 °С



Остановить реакцию внесением 100 µl **[STOP SOLUTION]**  
(цвет меняется с синего на жёлтый)



Определить оптическую плотность (OD) при 450/620-695 nm

### УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

$$Nc = (Nc1 + Nc2 + Nc3) / 3;$$

$$CO = Nc + 0,3;$$

$$IP_{sample} = OD_{sample} / CO;$$

Nc - OD<sub>mean</sub> для 3 **[CONTROL -]**

CO - Cut off, IP- индекс позитивности

### ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

$IP_{sample} > 1,1$	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ
$0,9 \leq IP_{sample} \leq 1,1$	НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ
$IP_{sample} < 0,9$	ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ

## **Vitrotest® Anti-HCV**

Імуноферментна тест-система для виявлення сумарних антитіл до вірусу гепатиту С

TK060  
192 аналізи



### **1. ПРИЗНАЧЕННЯ**

Імуноферментна тест-система Vitrotest® Anti-HCV призначена для виявлення сумарних антитіл до вірусу гепатиту С (ВГС) у сироватці чи плазмі крові людини. Тест-набір може бути застосований як для проведення імуноферментного аналізу (ІФА) з використанням автоматичних піпеток та стандартного обладнання, так і для постановки на автоматичному імуноферментному аналізаторі відкритого типу.

### **2. КЛІНІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ**

За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, близько 150 мільйонів людей хронічно інфіковані вірусом гепатиту С і щорічно більше 350 тисяч осіб вмирають від пов'язаних з гепатитом С хвороб печінки. Захворювання може мати гострий або хронічний перебіг, при цьому найчастіше протікає без виражених симптомів. Однак, хронізація інфекції призводить до цирозу печінки та розвитку гепатоцелюлярної карциноми.

Збудником гепатиту С є маленький вкритий оболонкою вірус (50 nm в діаметрі), що містить одноланцюгову РНК, належить до родини флавівірусів. В складі геному ВГС виділяють зони, що кодують структурні та неструктурні білки. До структурних антигенів вірусу належать нуклеокапсидний білок – core та два білки зовнішньої оболонки – E1 і E2. Неструктурні білки представлені комплексом білків з ферментативною активністю – NS2, NS3, NS4a, NS4b, NS5a та NS5b. У відповідь на інфікування вірусом в організмі людини продукуються специфічні антитіла до всіх білків вірусу.

Сучасна лабораторна діагностика гепатиту С базується на виявленні специфічних маркерів інфікування ВГС: антигенів вірусу, антитіл до вірусних білків та РНК вірусу в біологічних рідинах організму. Найбільш раннім маркером ВГС-інфекції є вірусна РНК, яка виявляється в крові інфікованого через 2-6 тижнів від моменту інфікування. Через один-два тижні у крові виявляється core антиген вірусу гепатиту С. На 6-8 тижні організмом продукуються специфічні антитіла класу IgM. Як при гострому, так і при хронічному гепатиті С ці антитіла можуть виявлятися тривалий час і являються маркером активної вірусної реплікації. Низькі титри анти-ВГС IgM антитіл виявляються у 50-80 % випадків хронічного гепатиту С. У більшості інфікованих антитіла класу IgG спочатку з'являються до епітопів білків core та NS3, і лише пізніше (через 20-22 тижні після інфікування) до NS4. Окрім того, інтенсивність продукції антитіл до білку NS4 у деяких генотипів ВГС нижче, в той же час кількість антитіл до білків core та NS3 висока для всіх генотипів.

На сьогоднішній день з метою первинної діагностики вірусного гепатиту С та тестування донорської крові для виявлення специфічних до ВГС антитіл переважно застосовують ІФА, в якому використовуються рекомбінантні білки core, NS3, NS4 та NS5.

### **3. ПРИНЦИП АНАЛІЗУ**

Виявлення антитіл, специфічних до ВГС, в тест-системі Vitrotest® Anti-HCV базується на принципі «непрямого» твердофазного ІФА у двоетапній інкубації. В лунках планшету засорбовані рекомбінантні антигени вірусу гепатиту С core, NS3, NS4 та NS5. Під час першого етапу інкубації досліджуваних зразків в лунках ІФА-планшета, специфічні до ВГС антитіла, якщо вони присутні, зв'язуються з антигенами на твердій фазі. Лунки відмиваються для видалення нез'язаних антитіл, залишаються лише специфічні комплекси антиген-антитіло. Після цього додається суміш кон'югатів антивидових (анти-IgG та анти-IgM) моноклональних антитіл з пероксидазою хрому, які зв'язуються з імунами комплексами на твердій фазі. Незв'язані компоненти видаляються під час відмивання. Комплекси антиген-антитіло виявляються шляхом додавання розчину хромогену 3,3',5,5'-тетраметилбензидину (ТМБ) з перекисом водню. Після 30 min інкубації реакція зупиняється додаванням стоп-реагенту. Оптична густина (ОГ) в лунках визначається на спектрофотометрі при довжині хвилі 450/620-695 nm. Значення ОГ, отримане для зразка, дозволяє виявити наявність або відсутність антитіл до ВГС. Інтенсивність жовтого забарвлення пропорційна кількості антитіл, зв'язаних з антигенами на твердій фазі.

## 4. МАТЕРІАЛИ ТА ОБЛАДНАННЯ

### 4.1. Склад набору

ELISA STRIPS	2x96 лунок	ІФА-планшет В кожній лунці планшету засорбовані рекомбінантні антигени ВГС core, NS3, NS4 та NS5. Лунки можна відокремлювати. 12 стрипів по 8 лунок.
CONTROL +	1x0,7 ml	Позитивний контроль Розчин специфічних імуноглобулінів з консервантом (рожевий).
CONTROL -	1x1,8 ml	Негативний контроль Розчин альбуміну з консервантом (жовтий).
SAMPLE DILUENT	1x20 ml	Розчин для розведення сироваток Буферний розчин з детергентом та консервантом (коричнево-зелений).
CONJUGATE SOLUTION	1x22 ml	Розчин кон'югату Буферний розчин моноклональних антитіл до IgG та IgM людини, кон'югованих з пероксидазою хрому, зі стабілізаторами та консервантом (зелений), готовий до використання.
TMB SOLUTION	1x22 ml	Розчин ТМБ Розчин ТМБ, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , стабілізатор, консервант (безбарвний), готовий до використання.
WASH TWEEN 20X	1x80 ml	Розчин для промивання Tw (20x) 20-ти кратний концентрат фосфатного буферу з Твіном-20 та NaCl (безбарвний).
STOP SOLUTION	1x22 ml	Стоп-реагент Розчин 0,5 mol/l H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (безбарвний), готовий до використання.

Клейка плівка (4), бланк внесення проб (2) та інструкція з використання.

### 4.2. Додаткові реактиви, матеріали та обладнання

- Автоматичні піпетки змінного об'єму на 10–1000  $\mu$ l та наконечники до них;
- спектрофотометр (рідер) для мікропланшетів на 450/620–695 nm;
- мірний лабораторний посуд (10–1000 ml);
- деіонізована або дистильована вода;
- термостат на 37 °C;
- автоматичний або напівавтоматичний промивач планшетів (вошер);
- контейнери для відходів потенційно зараженого матеріалу;
- таймер;
- фільтрувальний папір;
- одноразові рукавички;
- дезінфікуючі засоби;
- захисний одяг.

## 5. ЗАСТЕРЕЖЕННЯ ТА ЗАХОДИ БЕЗПЕКИ

### 5.1. Застереження

*Дотримання часу інкубації та температури є надзвичайно важливим для коректного результату ІФА.*

- не використовувати компоненти тест-системи після закінчення строку придатності;
- не використовувати під час аналізу та не змішувати компоненти різних серій, компоненти з тест-систем різних нозологій або реагенти інших виробників у поєднанні з наборами Vitrotest®;

*Примітка: допускається використання WASH TWEEN 20X, TMB SOLUTION та STOP SOLUTION інших серій.*

- після використання реагенту закривати кожен флакон своєю кришкою;
- під час промивання контролювати наповнення та повну аспірацію розчину з лунок;
- кожного разу використовувати новий наконечник піпетки для внесення зразків або реагентів;
- уникати потрапляння прямих сонячних променів на реагенти тест-системи;
- TMB SOLUTION має бути безбарвним перед використанням. Якщо розчин забарвлений в синій або жовтий колір, його не можна використовувати. Уникати контакту TMB SOLUTION з металами або іонами металів. Для роботи використовувати лише чи-

стий, ретельно виполосканий дистильованою водою посуд;

- ні в якому разі не використовувати один і той же посуд для **CONJUGATE SOLUTION** та **TMB SOLUTION**.

*Виробник не несе відповідальність за будь-які некоректні результати та несприятливі випадки, що виникли внаслідок порушень вищенаведених застережень. Виробник не несе відповідальність за візуальний облік результатів аналізу (без використання спектрофотометру).*

## 5.2. Заходи безпеки

- постановку аналізу проводити лише в захисному одязі, одноразових рукавичках та захисних окулярах;
- не допускається приймати їжу, пити, палити або користуватися косметикою у кімнаті виконання тесту;
- не піпетувати розчини ротом;
- позитивний та негативний контролі тест-системи Vitrotest® Anti-HCV не містять компонентів людського походження;
- деякі компоненти тест-системи містять низькі концентрації шкідливих речовин та можуть спричинити подразнення шкіри та слизових оболонок. При потраплянні **TMB SOLUTION** **STOP SOLUTION** та **CONJUGATE SOLUTION** на слизові оболонки та шкіру необхідно негайно промити уражене місце великою кількістю води;
- у разі розбризкування розчинів, що не містять кислоти, наприклад, сироваток, обробити поверхню дезінфікуючим засобом, а потім витерти насухо фільтрувальним папером. В іншому випадку кислоти спочатку потрібно нейтралізувати розчином бікарбонату натрію, а потім витерти поверхню як описано вище.

## 5.3. Утилізація відходів

- рідкі відходи слід інактивувати, наприклад, розчином перекису водню у кінцевій концентрації 6 % упродовж 3 h за кімнатної температури, або гіпохлоритом натрію у кінцевій концентрації 5 % протягом 30 min, або іншими дозволеними дезінфікуючими засобами;
- тверді відходи слід інактивувати шляхом автоклавування за температури 121 °C упродовж 1 h;
- не автоклакувати розчини, що містять азид натрію або гіпохлорит натрію;
- видалення інактивованих відходів проводити згідно з чинним законодавством України;
- видалення решти компонентів тест-систем після використання проводити згідно GLP (good laboratory practice) та чинного законодавства України в сфері поводження з відходами.

## 6. ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ

Реагенти тест-системи стабільні протягом строку придатності, вказаного на етикетці, якщо їх зберігати за температури 2-8 °C. Не допускається заморожування тест-системи. Транспортувати набір за температури 2-8 °C. Допускається одноразове транспортування за температури не вище 23 °C протягом двох днів.

*Після першого відкриття первинного пакування компоненти тест-системи є стабільними протягом 3 місяців, окрім тих, що зазначені в п. 8 даної Інструкції.*

## 7. ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

Зразки сироватки чи плазми (EDTA, літій-гепарин, цитрат натрію, фторид калію) крові зберігати за температури 2-8 °C не більше 3 днів після забору. Для більш тривалого зберігання зразки тримати у морозильній камері за температури від -20 до -70 °C. Заморожені зразки перед використанням слід розморозити та витримати за кімнатної температури упродовж 30 min. Не використовувати прогріті зразки. Після розморозування зразки слід перемішати задля досягнення однорідності. Уникати повторного заморожування-відтаування досліджуваних зразків. У разі помутніння сироватки (чи плазми) звільнити зразок від нерозчинних включень центрифугуванням при 3000 об./min протягом 10-15 хmin. Не використовувати зразки сироваток (чи плазми) з вираженою ліпідемією, гемолізом, а також бактеріальним проростом. На результати аналізу не впливає присутність у зразку білірубину в концентрації до 0,1 mg/ml (17,3 µmol/l), гемоглобіну в концентрації до 5 mg/ml і тригліцеридів в концентрації до 10 mg/ml (11,3 mmol/l).

## 8. ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ

*Дуже важливо витримати всі реагенти тест-системи за кімнатної температури 18-25 °C протягом 30 min перед використанням!*

### 8.1. Підготовка ІФА-планшета

Для попередження конденсації води в лунках слід відкрити **ELISA STRIPS** лише після витримання 30 min за кімнатної температури. Потім розкрити вакуумну упаковку, відокремити необхідну кількість лунок, а решту відразу ж ретельно упакувати з вологопоглиначем та **зберігати щільно закритими на замок (zip-lock)** за температури 2-8 °C. Зберігання в такий спосіб упакованого планшета забезпечує його стабільність протягом 3 місяців.

## 8.2. Приготування розчину для промивання

Для приготування розчину для промивання розвести концентрат [WASH TWEEN|20X] 1:20 (1+19) дистильованою або деіонізованою водою, потім перемішати. Наприклад, 4 ml концентрату + 76 ml води, що достатньо для 8 лунок. У випадку наявності кристалів у концентраті розчину для промивання прогріти флакон за температури 37 °C до повного розчинення кристалів (15 - 20 min). Розведений розчин можна зберігати за температури 2-8 °C не більше 7 днів.

## 9. ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

- 9.1. Підготувати необхідну кількість лунок для аналізу (кількість досліджуваних зразків та чотири лунки для контролів), вставити їх в рамку ІФА-планшета. Лунки з контролями обов'язково включати до кожної постановки аналізу.
- 9.2. Заповнити бланк внесення проб.
- 9.3. Приготувати розчин для промивання згідно з пунктом 8.2.
- 9.4. Внести в усі лунки планшета по 80  $\mu$ l [SAMPLE DILUENT].
- 9.5. Внести в лунки по 40  $\mu$ l контролів та досліджуваних зразків: в лунку A1 – [CONTROL +], в лунки B1, C1 та D1 – [CONTROL -], в решту лунок – досліджувані зразки. Обережно піпетувати суміш в лунках, не допускаючи піноутворення. Під час внесення зразків відбувається зміна кольору розчину для розведення сироваток з коричнево-зеленого на синій.
- 9.6. Заклеїти стрипи клейкою плівкою та інкубувати протягом 60 min при температурі 37 °C.
- 9.7. По закінченні інкубації обережно зняти клейку плівку та промити лунки п'ять разів з використанням автоматичного промивача або 8-канальної піпетки наступним чином:
  - видалити вміст лунок в контейнер для рідких відходів;
  - наповнити лунки не менш ніж по 300  $\mu$ l розчином для промивання, залишити не менш як на 30 s;
  - аспірувати розчин з лунок, залишковий об'єм розчину після аспірації на всіх етапах промивання має складати не більше 5  $\mu$ l;
  - повторити процедуру промивання ще чотири рази;
  - після останньої аспірації позбавитись зайвої вологоти, постукуючи планшетом по фільтрувальному паперу.
- 9.8. В лунки внести по 100  $\mu$ l [CONJUGATE SOLUTION]. Стрипи накрити новою клейкою плівкою та інкубувати протягом 30 хвилин за температури 37 °C.
- 9.9. По закінченні інкубації обережно зняти клейку плівку та промити лунки п'ять разів, як описано в п. 9.7.
- 9.10. Не торкаючись дна та стінок лунок планшета, внести по 100  $\mu$ l [TMB SOLUTION] в лунки.
- 9.11. Інкубувати стрипи протягом 30 min в темному місці за кімнатної температури 18-25 °C. Не використовувати клейку плівку на даному етапі.
- 9.12. Для зупинення ферментативної реакції внести в лунки по 100  $\mu$ l [STOP SOLUTION], дотримуючись тієї ж послідовності, що і при внесенні [TMB SOLUTION].
- 9.13. Виміряти на рідері ОГ в кожній лунці при довжині хвилі 450/620-695 nm протягом 5 min після зупинення реакції. До проведення вимірювання слід переконавшись у чистоті зовнішньої поверхні дна лунок та відсутності бульбашок.

*Облік результатів аналізу можна проводити в однохвильовому режимі при довжині хвилі 450 nm, в цьому випадку слід залишити лунку для встановлення бланку (в таку лунку вносити лише [TMB SOLUTION] та [STOP SOLUTION]).*

## 10. ОБЛІК РЕЗУЛЬТАТІВ ТА ЇХ ІНТЕРПРЕТАЦІЯ

### 10.1. Облік результатів аналізу

Розрахувати середнє значення ОГ негативного контролю (Nc) та рівень граничного значення (Cut off - CO).

$$Nc = (Nc1 + Nc2 + Nc3) / 3;$$

$$CO = Nc + 0,3$$

### 10.2. Достовірність результатів аналізу

Дані тесту вважаються достовірними, якщо вони відповідають наступним вимогам:

[CONTROL +]	ОГ $\geq$ 1,500
[CONTROL -]	ОГ $\leq$ 0,100
[CONTROL -]	$Nc \times 0,5 \leq Ncn \leq Nc \times 2,0$

Якщо одне зі значень ОГ негативного контролю виходить за межі вказаного вище інтервалу, його відкидають і розраховують Nc за рештою значень ОГ негативного контролю. Якщо більш ніж одне значення ОГ негативного контролю не відповідає зазначеним вимогам, то тест вважається некоректним і потребує повторного аналізу.

### 10.3. Інтерпретація результатів

$OD_{\text{sample}} > CO,$ де $OD_{\text{sample}} - OG_{\text{зразка}}$	ПОЗИТИВНИЙ*
$0,9 \times CO \leq OD_{\text{sample}} \leq CO$	НЕВИЗНАЧЕНИЙ**
$OD_{\text{sample}} < 0,9 \times CO$	НЕГАТИВНИЙ

\*Зразки із значенням  $OG$  вище граничного значення вважаються первинно позитивними. Такі зразки мають бути досліджені повторно в двох лунках тест-системи Vitrotest® Anti-HCV. Після повторного тестування **позитивними** вважаються зразки,  $OG$  котрих хоча б в одному з повторів була вище або дорівнювала граничному значенню. Якщо при повторному тестуванні  $OG$  зразка в обох повторях була нижче граничного значення такий зразок вважається **негативним**.

\*\*Невизначені зразки рекомендується дослідити повторно. Якщо результати знову будуть в межах невизначених, слід провести відбір нового зразка.

## 11. ДІАГНОСТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТУ

### 11.1. Специфічність та чутливість

Чутливість та специфічність тест-системи Vitrotest® Anti-HCV оцінювали за допомогою комерційної панелі «Стандарт АТ(+/-)ВГС-МБА» виробництва ТОВ «МедБіоАльянс» (Україна). В тест-системі Vitrotest® Anti-HCV всі позитивні та негативні зразки визначались коректно, відповідно до паспортних даних панелі.

При дослідженні 161 зразка сироваток крові пацієнтів, хворих на гепатит С, в тест-системі Vitrotest® Anti-HCV всі зразки були визначені позитивними, чутливість склала 100 %. Крім того, в тест-системі Vitrotest® Anti-HCV було досліджено 299 зразків сироваток крові клінічно здорових донорів, серед яких не було виявлено хибнопозитивних результатів, специфічність склала 100 %.

### 11.2. Точність

*Повторюваність результатів у межах однієї постановки аналізу (Intra assay repeatability)*

Коефіцієнт варіації (CV) для двох сироваток з різним рівнем специфічних антитіл оцінювали в 32 повторях на одній постановці тест-системи.

№ сироватки	$OG_{\text{сеп}}$	CV, %
182L	0,705	7,8
1172L	1,441	6,5

*Відтворюваність результатів між різними постановками аналізу (Inter assay reproducibility)*

Коефіцієнт варіації (CV) для двох сироваток з різним рівнем специфічних антитіл оцінювали протягом чотирьох днів в чотирьох постановках аналізу, по 8 повторів в кожному аналізі.

№ сироватки	$OG_{\text{сеп}}$	CV, %
182L	0,688	7,1
1172L	1,432	7,0

## 12. ОБМЕЖЕННЯ АНАЛІЗУ

Для діагностики гострого, хронічного або перенесеного гепатиту С, оцінки ефективності терапії рекомендується додатково провести дослідження зразка на наявність антитіл до окремих білків ВГС та анти-ВГС IgM антитіл (наприклад, у тест-системах Vitrotest® Anti-HCV Different та Vitrotest® HCV-IgM, відповідно), РНК ВГС та оцінити біохімічні показники сироватки крові.

Сучасні методи виявлення антитіл до ВГС не можуть забезпечити виявлення всіх інфікованих пацієнтів. Негативний результат не виключає інфікування вірусом гепатиту С пацієнта, особливо, якщо він проходить імуносупресивне лікування або інфікований ВІЛ, а також на ранніх стадіях гепатитної інфекції.

Будь-який з методів ІФА може допустити хибнопозитивну реакцію. Для виключення хибнопозитивних результатів рекомендується провести верифікаційне дослідження з визначенням антитіл до окремих білків ВГС та РНК вірусу гепатиту С.

*Постановка діагнозу проводиться лише лікарем з урахуванням отриманих результатів досліджень, анамнезу та клінічної картини.*

## 13. ПРОБЛЕМИ, ЯКІ МОЖУТЬ ВИНИКНУТИ ПРИ ПРОВЕДЕННІ ІФА, ТА СПОСОБИ ЇХ УСУНЕННЯ

<i>Можливі причини</i>	<i>Способи усунення проблем</i>
<i>Високий фон у лунках всього планшета</i>	
Забруднений промивач	Почистити головку промивача та промити 30 % розчином етилового спирту, потім дистильованою водою
Низька якість або забруднення води	Використовувати очищену воду з питомим опором $\geq 10$ М $\Omega$ -см.
Використання погано помитого посуду	Використовувати хімічно чистий посуд
Використання дезінфікуючих засобів, що містять хлор	Не використовувати хлорвмісні дезінфікуючі засоби
Використання забруднених наконечників	Використовувати нові наконечники
Збільшено час інкубації або змінено температурний режим	Дотримуватися режиму інкубації відповідно до інструкції з використання
<i>Високий фон в окремих рядах</i>	
Повторне внесення розчину ТМБ	Розчин ТМБ вносити один раз
Забруднення конусу автоматичної піпетки розчином кон'югату	Прочистити піпетку і обережно набирати рідину
Забруднений один із каналів промивача	Почистити канал промивача, промити вошер
<i>Значення ОГ позитивного контролю нижче встановленої межі</i>	
Неправильно внесений або відсутній один із реагентів (кон'югат або розчин ТМБ)	Повторно провести ІФА, звернути увагу на правильність внесення цих реагентів
Скорочено час інкубації на одному з етапів	Проводити інкубацію відповідно до інструкції з використання
<i>Інтенсивність забарвлення лунок не відповідає отриманій оптичній густині</i>	
Зміщений оптичний промінь	Перевірити коректність роботи рідера

### ЛІТЕРАТУРА

1. Brillanti S., Masci C., Miglioli M. and Barbara L. Serum IgM antibodies to hepatitis C virus in acute and chronic hepatitis C. // Archives of virology supplementum. - 1993. – N8. – P.213-218.
2. Casno C., Lilli D., Rivanera D., et. al. Diagnostic value of anti-hepatitis C virus (HCV) core immunoglobulin M in recurrence of HCV infection after orthotropic liver transplantation. // Journal of Clinical Microbiology. - 1999. – V.37. – N.8. – P.2726-2728.
3. Dal Molin G., Tiribelli C. Campello C. A rational use of laboratory tests in the diagnosis and management of hepatitis C virus infection. // Annals of hepatology. - 2003. – N2. – P.76-83.
4. Richter S. Laboratory assays for diagnosis and management of hepatitis C virus infection. // Journal of Clinical Microbiology. - 2002. – V.40. – N.12. – P.4407-4412.
5. Urdea M.S., Wuestehube L.J., Laurenson P.M., and Wilber J.C. Hepatitis C – diagnosis and monitoring. // Clinical Chemistry. - 1997. – V.43. – N.8. – P.1507-1511.

# ГРАФІЧНІ ПОЗНАЧЕННЯ



Номер за каталогом



Користуйтеся інструкцією із застосування



Медичний виріб для діагностики in vitro



Виробник



Попередження



Достатньо для проведення  $<n>$  кількості досліджень



Обмеження температури



Код партії



Використати до



Дата виготовлення



Берегти від прямих сонячних променів



Уповноважений представник в Європейському Співтоваристві



Знак відповідності технічним регламентам з ідентифікаційним номером органу з оцінки відповідності (ідентифікаційний номер органу з оцінки відповідності UA.TR.099)

**В інструкції використовуються позначення одиниць вимірювання у відповідності до Наказу Мінекономрозвитку України № 914 від 04.08.2015 р.**

Назва величини	Одиниця		
	назва	позначення	
		міжн.	укр.
Час	секунда	s	с
	хвилина	min	хв
	година	h	год
Довжина	сантиметр	cm	см
	нанометр	nm	нм
	міліметр	mm	мм
Об'єм, місткість	літр	l	л
	мілілітр	ml	мл
	мікролітр	μl	мкл
Кількість речовини	моль	mol	моль
	мілімоль	mmol	млмоль
	мікромоль	μmol	мкмоль
Маса	міліграм	mg	мг
	нанограм	ng	нг
	мікрограм	μg	мкг
Електричний опір	мегаом	MΩ	МОм

ТУ У 24.4-36555928-001:2011

Inst\_Anti-HCV\_TK060\_V01

Редакція Інструкції № 1 від 06.08.2021 р.

З питаннями та побажаннями щодо роботи набору звертайтеся до виробника:



ТОВ «Вітротест Біореагент»,  
вул. М.Бойчука 186, оф. 56, м. Київ, 01103, Україна (юридична адреса)  
вул. Курортна, буд. 11, м. Київ, 04075, Україна (місцезнаходження виробництва)

tel.: +38(044)222-76-72, +38(097)222-76-72  
e-mail: info@vitrotest.ua, www.vitrotest.ua



UA.TR.099

# Vitrotest® Anti-HCV

## СХЕМА АНАЛІЗУ



Витримати всі реагенти та зразки мінімум 30 min при 18-25 °С перед використанням



Внести 80 µl **SAMPLE DILUENT** в лунки стрипів  
(коричнево-зелений)



Внести 40 µl контролів та зразків у лунки:

A1 – **CONTROL +**,

B1, C1, D1 – **CONTROL -**,

E1 та інші лунки – досліджувані зразки

(колір змінюється з коричнево-зеленого на синій)



Накрити стрипи клейкою плівкою та інкубувати 60 min при 37 °С



Промити лунки 5 разів розведеним 1:20 (1+19) розчином для промивання Tw20 (300 µl в лунку)



Додати 100 µl **CONJUGATE SOLUTION** в кожену лунку  
(зелений колір)



Промити лунки 5 разів розведеним 1:20 (1+19) розчином для промивання Tw20 (300 µl в лунку)



Внести по 100 µl **TMB SOLUTION** в кожену лунку



Інкубувати 30 min в темноті при 18-25 °С



Зупинити реакцію додаванням 100 µl **STOP SOLUTION**  
(колір змінюється з синього на жовтий)



Визначити оптичну густину (OD) при 450/620-695 nm

## ОБЛІК РЕЗУЛЬТАТІВ

$$Nc = (Nc1 + Nc2 + Nc3) / 3; \quad CO = Nc + 0,3;$$

Nc - середнє значення ОГ з **CONTROL -**,  
CO - граничне значення

## ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

$OD_{sample} > CO,$ де $OD_{sample}$ – ОГ зразка	ПОЗИТИВНИЙ*
$0,9 \times CO \leq OD_{sample} \leq CO$	НЕВИЗНАЧЕНИЙ**
$OD_{sample} < 0,9 \times CO$	НЕГАТИВНИЙ

**Vitrotest® Anti-Lambliia**

Иммуноферментная тест-система для выявления антител к *Giardia lamblia (intestinalis)*

TKO30  
96 анализов

IVD

**1. НАЗНАЧЕНИЕ**

Иммуноферментная тест-система Vitrotest Anti-Lambliia предназначена для выявления суммарных антител к *Giardia lamblia (intestinalis)* в сыворотке или плазме крови человека. Тест-набор может быть применен как для проведения иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием автоматических пипеток и стандартного оборудования, так и для постановки на автоматическом иммуноферментном анализаторе открытого типа.

**2. КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ**

*Giardia Lamblia (intestinalis)* вызывает лямблиоз (гиардиаз) - паразитарную инвазию, которая протекает в виде латентного паразитоза с манифестных форм (нарушение функций кишечника). Заболевания лямблиозом зафиксировано на всех 5 континентах и в большинстве стран мира. Уровни инфицирования варьируют от <1 до 50 %. Во многих развивающихся странах, с отсутствующими базовыми санитарными условиями, инфицирование *Giardia* в возрасте 2 лет является почти стопроцентным. В противоположность этому, в развитых странах инфицированность лямблией составляет лишь 3-7 %. Заболевания распространены среди всех возрастных групп, однако основной контингент составляют дети дошкольного возраста.

Основной путь передачи *G. lamblia* - фекально-оральный. Паразит имеет простой, двухстадийный жизненный цикл. После проглатывания хозяином цист, из последних в двенадцатиперстной кишке появляются трофозоиты, которые прикрепляются к слизистой оболочке тонкого кишечника.

Трофозоиты существуют только на поверхности слизистой оболочки верхнего отдела тонкой кишки. Поэтому лямблии механически блокируют слизистую оболочку и нарушают пристеночное пищеварение и двигательную активность тонкой кишки. Лямблии вызывают ухудшение всасывания жиров, углеводов, витаминов С и В12 и обуславливают вторичную бактериальную инфекцию. Симптомами лямблиоза могут быть: диарея, усталость, отек, апатия, потеря массы тела, снижение аппетита, бледность, мышечные подергивания. Со стороны желудочно-кишечного тракта лямблиоз проявляется главным образом в виде энтероколита с катаральными проявлениями.

Многочисленные факты свидетельствуют о роли гуморального иммунного ответа в элиминации *G.lamblia*. Как было показано на модели с экспериментальным инфицированием людей, уровень антител класса IgM значительно возрастал на 14-21 день после инфицирования и постепенно снижался после терапии. В противоположность этому, уровни антител класса IgG оставались повышенными после успешного лечения. Динамика уровня IgA была подобна таковой IgM.

Диагностика лямблиоза традиционно базируется на клинической истории, симптомах, наличии цист в фекальных пробах или трофозоитов в материале, полученном из тонкого кишечника при дуоденальной аспирации или дуоденальной биопсии. Альтернативными методами является выявление антигена *G.lamblia* в фекалиях и определения уровня специфических антител против *Giardia* в сыворотке пациента. Серологическое тестирование рассматривается как полезное дополнение в диагностике гиардиаза. Кроме помощи в постановке диагноза, оно может быть полезным для оценки состояния иммунного ответа пациента, а также для эпидемиологических исследований.

**3. ПРИНЦИП АНАЛИЗА**

Выявление специфичных к *G. lamblia* суммарных антител в тест-системе Vitrotest Anti-Lambliia базируется на принципе «непрямого» твердофазного ИФА при двухэтапной инкубации. В лунках планшета засорбированы очищенные антигены *G. lamblia*. Во время первого этапа инкубации исследуемых образцов в лунках ИФА-планшета происходит связывание, при условии присутствия в образцах, специфичных к *G. lamblia* антител с антигенами на твердой фазе. Лунки отмываются для удаления несвязанных компонентов, остаются только специфические комплексы антиген-антитело. После этого добавляется смесь антивидовых конъюгатов (анти-IgG, анти-IgM и анти-IgA) моноклональных антител с пероксидазой хрена, которые связываются с иммунными комплексами на твердой фазе. Несвязанные компоненты удаляются во время отмывания. Комплексы антиген-антитело выявляются путем добавления раствора хромогена 3,3',5,5'-тетраметилбензидина (ТМБ) с перекисью водорода. После 30 min инкубации реакция останавливается при добавлении стоп-реагента. Оптическая плотность (ОП) в лунках определяется на спектрофотометре при длине волны 450/620-695 nm. Значение ОП, полученное для образца, позволяет установить наличие или отсутствие антител к *G. Lamblia*. Интенсивность желтой окраски прямо пропорциональна количеству антител в образце.

## 4. МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

### 4.1. Состав набора

ELISA STRIPS	1x96 лунок	<b>ИФА-планшет</b> В каждой лунке планшета засорбированы очищенные антигены <i>G. lamblia</i> . Лунки можно отделять, 12 стрипов по 8 лунок.
CONTROL +	1x0,5 ml	<b>Положительный контроль</b> Раствор иммуноглобулинов, специфических к <i>G. lamblia</i> , с консервантом (розовый).
CONTROL -	1x0,5 ml	<b>Отрицательный контроль</b> Отрицательная сыворотка крови человека с консервантом (желтый).
SAMPLE DILUENT	1x12 ml	<b>Раствор для разведения сывороток</b> Буферный раствор с детергентом и консервантом (фиолетовый).
CONJUGATE SOLUTION	1x12 ml	<b>Раствор конъюгата</b> Буферный раствор пероксидазного конъюгата моноклональных антител к IgG, IgM и IgA человека, со стабилизаторами и консервантом (зеленый), готовый к использованию.
TMB SOLUTION	1x12 ml	<b>Раствор ТМБ</b> Раствор ТМБ, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , стабилизатор, консервант (бесцветный), готовый к использованию.
WASH TWEEN 20X	1x50 ml	<b>Раствор для промывания Tw20 (20x)</b> 20-ти кратный концентрат фосфатного буфера с Твином-20 и NaCl (бесцветный).
STOP SOLUTION	1x12 ml	<b>Стоп-реагент</b> Раствор 0,5 mol/l H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (бесцветный), готовый к использованию.

Клейкая пленка (2), бланк внесения проб (1) и инструкция по применению.

### 4.2. Дополнительные реактивы, материалы и оборудование

- Автоматические пипетки переменного объема на 10-1000  $\mu$ l и наконечники к ним;
- спектрофотометр (ридер) для микропланшетов на 450/620-695 nm,
- мерная лабораторная посуда (10-1000 ml);
- деионизированная или дистиллированная вода;
- термостат на 37 °C;
- автоматический или полуавтоматический промыватель планшетов (вошер);
- контейнеры для отходов потенциально зараженного материала;
- таймер;
- фильтровальная бумага;
- одноразовые перчатки;
- дезинфицирующие средства;
- защитная одежда.

## 5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

### 5.1. Предостережения

*Соблюдение времени инкубации и температуры является чрезвычайно важным для корректного результата ИФА.*

- не использовать компоненты тест-системы по окончании срока годности;
- не использовать при анализе и не смешивайте компоненты разных серий, компоненты из тест-систем различных нозологий или реагенты других производителей в сочетании с наборами Vitrotest®;

*Примечание: допускается использование* **WASH TWEEN 20X**, **TMB SOLUTION** *и* **STOP SOLUTION** *других серий.*

- после использования реагента закрывать каждый флакон своей крышкой;
- во время промывания контролировать наполнение и полную аспирацию раствора из лунок;
- каждый раз использовать новый наконечник пипетки для внесения образцов или реагентов;
- избегать попадания прямых солнечных лучей на реагенты тест-системы;
- **TMB SOLUTION** должен быть бесцветным перед использованием. Если раствор окрашен в синий или желтый цвет его нельзя использовать. Избегать контакта **TMB SOLUTION**

с металлами или ионами металлов. Для работы используйте только чистую, тщательно вымытую дистиллированной водой посуду;

- ни в коем случае не использовать одну и ту же посуду для **CONJUGATE SOLUTION** и **TMB SOLUTION**.

*Производитель не несет ответственности за любые некорректные результаты и неблагоприятные случаи, возникшие вследствие нарушений вышеуказанных предостережений. Производитель не несет ответственности за визуальный учет результатов анализа (без использования спектрофотометра).*

## 5.2. Меры безопасности

- все реагенты набора предназначены только для in vitro диагностики и могут использоваться только квалифицированным персоналом;
- постановку анализа проводить только в одноразовых перчатках и защитных очках;
- не допускается принимать пищу, пить, курить или пользоваться косметикой в комнате выполнения теста;
- не пипетировать растворы ртом;
- положительный контроль не содержит компонентов человеческого происхождения;
- отрицательный контроль тест-системы Vitrotest® Anti-Lambliа протестирован и найден отрицательным на антитела к ВИЧ<sub>1/2</sub>, ВГС и Treponema pallidum и HBsAg, однако работать с ним и исследуемыми образцами следует как с потенциально опасным инфекционным материалом;
- некоторые компоненты тест-системы содержат низкие концентрации вредных веществ и могут вызвать раздражение кожи и слизистых оболочек. При попадании **TMB SOLUTION**, **STOP SOLUTION** и **CONJUGATE SOLUTION** на слизистые оболочки и кожу необходимо немедленно промыть пораженное место большим количеством воды;
- в случае разбрызгивания растворов, не содержащих кислоты, например, сывороток, обработать поверхность дезинфицирующим средством, а затем вытереть насухо фильтровальной бумагой. В другом случае кислоту сначала необходимо нейтрализовать раствором бикарбоната натрия, а затем вытереть поверхность, как описано выше.

## 5.3. Утилизация отходов

- жидкие отходы следует инактивировать, например, раствором перекиси водорода в конечной концентрации 6 % в течение 3 h при комнатной температуре, или гипохлоритом натрия в конечной концентрации 5 % в течение 30 min, или другими разрешенными дезинфицирующими средствами;
- твердые отходы следует инактивировать путем автоклавирования при температуре 121 °С в течение 1 h;
- не автоклавировать растворы, содержащие азид натрия или гипохлорит натрия;
- удаление инактивированных отходов проводить в соответствии с действующим национальным законодательством;
- удаление остальных компонентов тест-систем после использования проводить согласно GLP (good laboratory practice) и действующего национального законодательства в сфере обращения с отходами.

## 6. ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Реагенты тест-системы стабильны в течение срока годности, указанного на этикетке, если их хранить при 2-8 °С. Не допускается замораживание тест-системы. Транспортировать набор при температуре 2-8 °С. Допускается однократная транспортировка при температуре не выше 23 °С в течение двух суток.

*После вскрытия первичной упаковки компоненты тест-системы являются стабильными в течение 3 месяцев, кроме тех, которые указаны в п. 8 настоящей Инструкции.*

## 7. ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Образцы сыворотки или плазмы крови хранить при температуре 2-8 °С не более 3 суток после забора. Для более длительного хранения образцы хранить в морозильной камере при температуре от -20 до -70 °С. Замороженные образцы перед использованием необходимо разморозить и выдержать при комнатной температуре в течение 30 min. Не использовать прогретые образцы. После размораживания образцы следует перемешать для достижения однородности. Избегать повторного замораживания-оттаивания исследуемых образцов. В случае помутнения сыворотки (или плазмы) освободить образец от нерастворимых включений центрифугированием при 3000 оборотов/min в течение 10-15 min. Не использовать образцы сывороток (или плазмы) с выраженной липидемией, гемолизом, а также бактериальным прорастанием. На результаты анализа не влияет присутствие в образце билирубина в концентрации до 0,21 mg/ml (361,8 μmol/l), гемоглобина в концентрации до 10 mg/ml и триглицеридов в концентрации до 10 mg/ml (11,3 mmol/l).

## 8. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

*Очень важно выдержать все реагенты тест-системы при комнатной температуре (18-25 °С) в течение 30 min перед использованием!*

### 8.1. Подготовка ИФА-планшета

Для предупреждения конденсации воды в лунках необходимо открывать **ELISA STRIPS** только после выдерживания 30 min при комнатной температуре. Потом раскрыть вакуумную

упаковку, отделить необходимое количество лунок, а остальные сразу же тщательно упаковать с влагопоглотителем и *хранить плотно закрытыми на замок (zip-lock)* при температуре 2-8 °С. Хранение таким образом упакованного планшета обеспечивает его стабильность в течение 3 месяцев.

## 8.2. Приготовление раствора для промывания

Для приготовления раствора для промывания развести концентрат [WASH TWEEN 20X] 1:20 (1+19) дистиллированной или деионизированной водой, затем перемешать. Например, 4 ml концентрата + 76 ml воды, что достаточно для 8 лунок. В случае наличия кристаллов в концентрате раствора для промывания, прогреть флакон при 37 °С до полного растворения кристаллов (15-20 min). Разведенный раствор можно хранить при температуре 2-8 °С не более 7 суток.

## 9. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

- 9.1. Подготовить необходимое количество лунок для анализа (количество исследуемых образцов и четыре лунки для контролей), вставить их в рамку ИФА-планшета. Лунки с контролями обязательно включать в каждую постановку анализа.
  - 9.2. Заполнить бланк внесения проб.
  - 9.3. Приготовить раствор для промывания согласно пункта 8.2.
  - 9.4. Внести во все лунки планшета по 90 µl [SAMPLE DILUENT].
  - 9.5. Внести в лунки по 10 µl контролей и исследуемых образцов: в лунку A1 – [CONTROL +], в лунки B1, C1 та D1 – [CONTROL –], в остальные лунки - исследуемые образцы. Осторожно пипетировать смесь в лунках, не допуская пенообразования. При внесении образцов происходит изменение цвета раствора в лунках с фиолетового на синий.
  - 9.6. Заклеить стрипы клейкой пленкой и инкубировать в течение 30 min при температуре 37 °С.
  - 9.7. По окончании инкубации осторожно снять клейкую пленку и промыть лунки пять раз с использованием автоматического промывателя или 8-канальной пипетки следующим образом:
    - удалить содержимое лунок в контейнер для жидких отходов;
    - наполнить лунки не менее чем по 300 µl раствора для промывания, оставить не менее чем на 30 s;
    - аспирировать раствор из лунок, остаточный объем раствора после аспирации на всех этапах промывания должен составлять не более 5 µl;
    - повторить процедуру промывания еще четыре раза;
    - после последней аспирации избавиться от лишней влаги, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге.
  - 9.8. В лунки внести по 100 µl [CONJUGATE SOLUTION]. Стрипы накрыть новой клейкой пленкой и инкубировать в течение 30 min при 37 °С.
  - 9.9. По окончании инкубации осторожно снять клейкую пленку и промыть лунки пять раз, как описано в пункте 9.7.
  - 9.10. Не касаясь дна и стенок лунок планшета, внести по 100 µl [TMB SOLUTION] в лунки.
  - 9.11. Инкубировать стрипы в течение 30 min в темном месте при комнатной температуре 18-25 °С. Не использовать клейкую пленку на данном этапе.
  - 9.12. Для остановки ферментативной реакции внести в лунки по 100 µl [STOP SOLUTION] придерживаясь той же последовательности, что и при внесении [TMB SOLUTION].
  - 9.13. Измерить на ридере ОП в каждой лунке при длине волны 450/620-695 nm в течение 5 min после остановки реакции. До проведения измерения необходимо убедиться в чистоте наружной поверхности дна лунок и отсутствии пузырьков.
- Учет результатов анализа можно проводить в одноволновом режиме при длине волны 450 nm, в этом случае следует оставить лунку для установления бланка (в такую лунку вносить только [TMB SOLUTION] и [STOP SOLUTION]).*

## 10. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ И ИХ ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

### 10.1. Учет результатов анализа

Рассчитать среднее значение ОП отрицательного контроля ( $N_c$ ), уровень граничного значения (Cut off - CO) и индекс позитивности образца ( $IP_{sample}$ ),

$$N_c = (Nc1 + Nc2 + Nc3) / 3;$$

$$CO = N_c + 0,25;$$

$$IP_{sample} = OD_{sample} / CO; \quad \text{где } OD_{sample} \text{ – ОП образца}$$

## 10.2. Достоверность результатов анализа

Данные теста считаются достоверными, если они отвечают следующим требованиям:

CONTROL +	ОП $\geq 1,200$
CONTROL -	ОП $\leq 0,150$
CONTROL -	$Nc \times 0,5 \leq Ncn \leq Nc \times 2,0$

Если одно из значений ОП отрицательного контроля выходит за пределы указанного выше интервала, его отбрасывают и рассчитывают среднее Nc по остальным значениям ОП отрицательного контроля. Если более одного из значений ОП отрицательного контроля не отвечают указанным требованиям, то тест считается некорректным и требует повторного анализа.

## 10.3. Интерпретация результатов

$IP_{sample} > 1,1$	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ
$0,9 \leq IP_{sample} \leq 1,1$	НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ*
$IP_{sample} < 0,9$	ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ

\* Неопределенные образцы рекомендуется исследовать повторно. Если результаты снова будут в пределах неопределенных, следует произвести забор нового образца.

## 11. ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

### 11.1. Специфичность и чувствительность

Для оценки чувствительности было проанализировано 44 образца сывороток крови, положительных в другой коммерческой тест-системе. Относительная чувствительность Vitrotest® Anti-Lambliа при этом составляла 94 %. В сравнительных исследованиях тест-системы Vitrotest® Anti-Lambliа с другой коммерческой тест-системой было проанализировано 231 отрицательный образец сывороток крови доноров. При этом относительная специфичность набора составила 97,5 %.

### 11.2. Точность

*Повторяемость результатов в пределах одной постановки анализа (Intra assay repeatability)*

Коэффициент вариации (CV) для трех сывороток с разным уровнем специфических антител оценивали в 24 повторях на одной серии тест-системы.

№ сыворотки	ОП <sub>ср</sub>	IP <sub>ср</sub>	CV, %
38S	0,690	2,29	3,0
37S	1,646	5,47	5,8
17S	2,590	8,49	3,3

*Воспроизводимость результатов между различными постановками анализа (Inter assay reproducibility)*

Коэффициент вариации (CV) для трех сывороток с разным уровнем специфических антител оценивали в течение четырех дней в четырех постановках анализа, по 8 повторов в каждом анализе.

№ сыворотки	ОП <sub>ср</sub>	IP <sub>ср</sub>	CV, %
38S	0,672	2,28	4,2
37S	1,615	5,47	5,6
17S	2,523	8,56	7,3

## 12. ОГРАНИЧЕНИЯ АНАЛИЗА

Окончательный диагноз не может быть установлен только на основании результатов серологического теста, следует учитывать клинические проявления заболевания и данные лабораторных исследований (например, результаты выявления цист в фекальных пробах или трофозоитов в дуоденальном содержимом, результаты выявления антигена *G.lambliа* в фекалиях).

Нельзя полностью исключить перекрестные реакции с антителами к антигенам других паразитов.

Специфичные к *Giardia lambliа* антитела могут не проявляться у детей с устойчивым и длительным лямблиозом.

Следует заметить, что антитела класса IgG к *G. lambliа* могут длительное время проявляться в ИФА, даже после успешно проведенного лечения.

### 13. ПРОБЛЕМЫ, КОТОРЫЕ МОГУТ ВОЗНИКНУТЬ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ИФА И СПОСОБЫ ИХ УСТРАНЕНИЯ

<i>Возможные причины</i>	<i>Способы устранения проблем</i>
<i>Высокий фон в лунках всего планшета</i>	
Загрязненный промыватель	Прочистить головку промывателя и промыть 30 % раствором этилового спирта, затем дистиллированной водой
Низкое качество или загрязненность воды	Использовать очищенную воду с удельным сопротивлением $\geq 10$ М $\Omega$ -см.
Использование плохо вымытой посуды	Использовать химически чистую посуду
Использование дезинфицирующих средств, содержащих хлор	Не использовать хлорсодержащие дезинфицирующие средства
Использование загрязненных наконечников	Использовать новые наконечники
Увеличено время инкубации или изменен температурный режим	Придерживаться режима инкубации согласно инструкции по применению
<i>Высокий фон в отдельных рядах</i>	
Повторное внесение раствора ТМБ	Раствор ТМБ вносить один раз
Загрязнение конуса автоматической пипетки раствором конъюгата	Прочистить пипетку и осторожно набирать раствор
Загрязнен один из каналов промывателя	Прочистить канал промывателя, промыть вошер
<i>Значение ОП положительного контроля ниже установленной границы</i>	
Неправильно приготовлен или не внесен один из реагентов (конъюгат или раствор ТМБ)	Повторно провести ИФА, обратить внимание на приготовление этих реагентов
Сокращено время инкубации на одном из этапов	Проводить инкубацию согласно инструкции по применению
<i>Интенсивность окрашивания лунок не отвечает полученной ОП</i>	
Смещен оптический луч	Проверить корректность работы ридера

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Adam R.D. Biology of *Giardia lamblia*. // Clin. Microbiol. Rev. - 2001. - 14. –P. 447–475.
2. Ahmed M.M., Bolbol A.H. The intestinal parasitic infections among children in Riyadh, Saudi Arabia // J. Egypt. Soc. Parasitol. – 1989. – 19. P. 583-588.
3. Nash T.E., Herrington D.A., Losonsky G.A., Levine M.M. Experimental human Infections with *Giardia lamblia* // J.Infect. Dis. – 1987. – 156. P. 974-983.
4. Flanagan P.A. *Giardia* - diagnosis, clinical course and epidemiology // Epidemiol. Infect. – 1992. – 109. P. 1-22.
5. Roxström-Lindquist K., Palm D., Reiner D., Ringqvist E., Svärd S.G. *Giardia* immunity – an update // Trends Parasitol. – 2006. – 22. –P. 26-31.

## ГРАФИЧЕСКИЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

	Номер по каталогу
	Используйте инструкцию по применению
	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Производитель
	Предупреждение
	Достаточно для проведения <n> количества исследований
	Ограничение температуры
	Код партии
	Использовать до
	Дата производства
	Беречь от прямых солнечных лучей
	Знак соответствия техническим регламентам

ТУ У 24.4-36555928-001:2011  
Inst\_Anti-Lambliа\_TK030\_V05\_RU  
Редакция Инструкции №5 от 08.09.2021

По вопросам и пожеланиями относительно работы изделия обращайтесь к производителю:



ООО «Витротест Биореагент»,  
ул. М. Бойчука 18 б, оф. 56, г. Киев, 01103, Украина (юридический адрес)  
ул. Курортная, дом. 11, г. Київ, 04075, Украина (местонахождение производства)

тел.: +38 (044) 222-76-72, +38 (097) 222-76-72  
e-mail: info@vitrotest.ua, www.vitrotest.ua



# Vitrotest® Anti-Lambliа

## СХЕМА АНАЛИЗА



Выдержать все реагенты не менее 30 min при 18-25 °С перед использованием



Внести 90µl [SAMPLE DILUENT] в лунки  
(фиолетовый цвет)



Внести 10 µl контролей и образцов в лунки:  
A1 – [CONTROL +],  
B1, C1, D1 – [CONTROL -],  
E1 и другие лунки – исследуемые образцы  
(цвет изменится с фиолетового на синий)



Заклеить стрипы пленкой, инкубировать 30 min при 37 °С



Промыть лунки 5 раз разведённым 1:20 (1+19) раствором для промывания Tw20 (300 µl в лунку)



Добавить 100 µl [CONJUGATE SOLUTION] в лунки  
(зеленый цвет)



Заклеить стрипы пленкой, инкубировать 30 min при 37 °С



Промыть лунки 5 раз разведённым 1:20 (1+19) раствором для промывания Tw20 (300 µl в лунку)



Добавить 100 µl [TMB SOLUTION] в каждую лунку



Инкубировать 30 min в темноте при 18-25 °С



Остановить реакцию внесением 100 µl [STOP SOLUTION]  
(цвет меняется с синего на жёлтый)



Определить оптическую плотность (OD) при 450/620-695 nm

### УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

$$Nc = (Nc1 + Nc2 + Nc3) / 3;$$

$$CO = Nc + 0,25;$$

$$IP_{sample} = OD_{sample} / CO;$$

Nc - OD<sub>mean</sub> для 3 [CONTROL -]

CO - Cut off, IP- индекс позитивности

### ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

$IP_{sample} > 1,1$	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ
$0,9 \leq IP_{sample} \leq 1,1$	НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ
$IP_{sample} < 0,9$	ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ

# Vitrotest® Anti-Toxocara

Иммуноферментная тест-система для выявления антител к *Toxocara canis*

TK058  
96 анализов



## 1. НАЗНАЧЕНИЕ

Иммуноферментная тест-система Vitrotest® Anti-Toxocara предназначена для выявления антител класса IgG к *Toxocara canis* в сыворотке или плазме крови человека. Тест-набор может быть применен как для проведения иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием автоматических пипеток и стандартного оборудования, так и для постановки на автоматическом иммуноферментном анализаторе открытого типа.

## 2. КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Токсокароз - зоонозное заболевание, обусловленное паразитированием в организме человека личинок круглых червей рода *Toxocara*, часто протекающее с поражением внутренних органов и глаз. Заболевание широко распространено во всех странах мира, к тому же, чаще всего поражаются дети. Известны несколько видов этого рода, в патологии человека наибольшее изучена роль *Toxocara canis* (гельминт, что поражает, преимущественно, семейство собачьих), меньше - *Toxocara cati* (поражает, преимущественно, представителей семейства кошачьих).

Источником инвазии для человека, главным образом, являются собаки, загрязняющие почву яйцами токсокар, выделяя их вместе с фекалиями. Инфицированность собак этим гельминтом составляет примерно 15-50 %, но в некоторых регионах достигает 90%. Больные люди не являются источником инвазии, так как в их организме цикл развития токсокар неполный (половозрелые формы не образуются).

Люди заражаются токсокарозом при проглатывании яиц токсокар с пищей или водой, загрязненными выделениями животных, а также при контакте с зараженными животными. Личинки, выходящие из яиц, мигрируют сквозь стенки кишечника в кровеносное русло и попадают в различные органы и ткани, где инкапсулируются и, сохраняя длительное время биологическую активность, вызывают личиночную форму заболевания. Мигрируя в организме человека, личинки травмируют ткани, оставляя некрозы и воспалительные процессы.

Клинические проявления токсокароза зависят от локализации паразитов и интенсивности инвазии. В клиническом течении выделяют две формы инвазии: висцеральный синдром «мигрирующей личинки» (visceral larva migrans) и токсокароз глаз (ocular larva migrans). Висцеральный токсокароз часто проявляется лихорадкой с рецидивами в течение нескольких недель, даже месяцев. Отмечается увеличение отдельных лимфатических узлов, наблюдается поражение органов дыхательной системы (бронхиты и бронхопневмонии). Практически для всех случаев характерна эозинофилия.

Прижизненный паразитологический диагноз токсокароза является практически невозможным, поскольку обнаружить мигрирующие личинки в организме трудно. Гистологические исследования биоптатов лишь в ряде случаев позволяют выявить личинки токсокар и установить паразитологический диагноз. В то же время многочисленные исследования показали, что серологические исследования с использованием очищенных антигенов личинок, в частности иммуноферментный анализ, являются достаточно чувствительным и специфичным методом диагностики. На сегодняшний день этим методом обнаруживают антитела, специфичные к экскреторно-секреторным и соматическим антигенам личинок *Toxocara canis*.

## 3. ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Выявление антител класса IgG, специфичных к *Toxocara canis* в тест-системе Vitrotest® Anti-Toxocara базируется на принципе «непрямого» твердофазного ИФА при двухэтапной инкубации. В лунках планшета засорбированы антигены личинки *T. canis*. Во время первого этапа инкубации исследуемых образцов в лунках ИФА-планшета происходит связывание, при условии присутствия в образцах, специфичных к *T. canis* антител с антигенами на твердой фазе. Лунки отмываются для удаления несвязавшихся антител, остаются только специфические комплексы антиген-антитело.

После этого добавляется конъюгат антивидовых анти-IgG моноклональных антител с пероксидазой хрена, который связывается с иммунными комплексами на твердой фазе. Несвязанные компоненты удаляются во время промывки. Комплексы антиген-антитело выявляются путем добавления раствора хромогена 3,3',5,5'-тетраметилбензидина (ТМБ) с перекисью водорода. После 30 min инкубации реакция останавливается и оптическая плотность (ОП) в лунках определяется на спектрофотометре при длине волны 450/620-695 nm. Значение ОП, полученное для образца, позволяет выявить наличие или отсутствие антител к *T. canis*. Интенсивность желтой окраски пропорциональна количеству антител в образце.

## 4. МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

### 4.1. Состав набора

<b>ELISA STRIPS</b>	1x96 лунок	<b>ИФА-планшет</b> В каждой лунке планшета засорбированы антигены личинок <i>T. canis</i> . Лунки можно отделять. 12 стрипов по 8 лунок.
<b>CONTROL +</b>	1x0,5 ml	<b>Положительный контроль</b> Раствор иммуноглобулинов, специфических к <i>T. canis</i> , с консервантом (розовый).
<b>CONTROL -</b>	1x0,5 ml	<b>Отрицательный контроль</b> Раствор альбумина с консервантом (желтый).
<b>SAMPLE DILUENT</b>	1x12 ml	<b>Раствор для разведения сывороток</b> Буферный раствор с детергентом и консервантом (коричнево-зеленый).
<b>CONJUGATE SOLUTION</b>	1x12 ml	<b>Раствор конъюгата</b> Буферный раствор моноклональных антител к IgG человека, конъюгированных с пероксидазой хрена, со стабилизаторами и консервантом (зелёный), готовый к использованию.
<b>TMB SOLUTION</b>	1x12 ml	<b>Раствор ТМБ</b> Раствор ТМБ, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , стабилизатор, консервант (бесцветный), готовый к использованию.
<b>WASH TWEEN 20X</b>	1x50 ml	<b>Раствор для промывания Tw20 (20x)</b> 20-ти кратный концентрат фосфатного буфера с Твином-20 и NaCl (бесцветный).
<b>STOP SOLUTION</b>	1x12 ml	<b>Стоп-реагент</b> Раствор 0,5 mol/l H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (бесцветный), готовый к использованию.

Клейкая пленка (2), бланк внесения проб (1) и инструкция по применению.

### 4.2. Дополнительные реактивы, материалы и оборудование

- Автоматические пипетки переменного объема на 10-1000 µl и наконечники к ним;
- спектрофотометр (ридер) для микропланшетов на 450/620-695 nm,
- мерная лабораторная посуда (10-1000 ml);
- деионизированная или дистиллированная вода;
- термостат на 37 °C;
- автоматический или полуавтоматический промыватель планшетов (вошер);
- контейнеры для отходов потенциально зараженного материала;
- таймер;
- фильтровальная бумага;
- одноразовые перчатки;
- дезинфицирующие средства;
- защитная одежда.

## 5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

### 5.1. Предостережения

*Соблюдение времени инкубации и температуры является чрезвычайно важным для корректного результата ИФА.*

- не использовать компоненты тест-системы по окончании срока годности;
- не использовать при анализе и не смешивайте компоненты разных серий, компоненты из тест-систем различных нозологий или реагенты других производителей в сочетании с наборами Vitrotest®;

*Примечание: допускается использование **WASH TWEEN 20X**, **TMB SOLUTION** и **STOP SOLUTION** других серий.*

- после использования реагента закрывать каждый флакон своей крышкой;
- во время промывания контролировать наполнение и полную аспирацию раствора из лунок;
- каждый раз использовать новый наконечник пипетки для внесения образцов или реагентов;
- избегать попадания прямых солнечных лучей на реагенты тест-системы;

- **TMB SOLUTION** должен быть бесцветным перед использованием. Если раствор окрашен в синий или желтый цвет его нельзя использовать. Избегать контакта **TMB SOLUTION** с металлами или ионами металлов. Для работы используйте только чистую, тщательно вымытую дистиллированной водой посуду;
- ни в коем случае не использовать одну и ту же посуду для **CONJUGATE SOLUTION** и **TMB SOLUTION**.

*Производитель не несет ответственности за любые некорректные результаты и неблагоприятные случаи, возникшие вследствие нарушений вышеуказанных предостережений. Производитель не несет ответственности за визуальный учет результатов анализа (без использования спектрофотометра).*

## 5.2. Меры безопасности

- все реагенты набора предназначены только для in vitro диагностики и могут использоваться только квалифицированным персоналом;
- постановку анализа проводить только в одноразовых перчатках и защитных очках;
- не допускается принимать пищу, пить, курить или пользоваться косметикой в комнате выполнения теста;
- не пипетировать растворы ртом;
- положительный и отрицательный контроли не содержат компонентов человеческого происхождения;
- некоторые компоненты тест-системы содержат низкие концентрации вредных веществ и могут вызвать раздражение кожи и слизистых оболочек. При попадании **TMB SOLUTION**, **STOP SOLUTION** и **CONJUGATE SOLUTION** на слизистые оболочки и кожу необходимо немедленно промыть пораженное место большим количеством воды;
- в случае разбрызгивания растворов, не содержащих кислоту, например, сывороток, обработать поверхность дезинфицирующим средством, а затем вытереть насухо фильтровальной бумагой. В другом случае кислоту сначала необходимо нейтрализовать раствором бикарбоната натрия, а затем вытереть поверхность, как описано выше.

## 5.3. Утилизация отходов

- жидкие отходы следует инактивировать, например, раствором перекиси водорода в конечной концентрации 6 % в течение 3 h при комнатной температуре, или гипохлоритом натрия в конечной концентрации 5 % в течение 30 min, или другими разрешенными дезинфицирующими средствами;
- твердые отходы следует инактивировать путем автоклавирования при температуре 121 °C в течение 1 h;
- не автоклавировать растворы, содержащие азид натрия или гипохлорит натрия;
- удаление инактивированных отходов проводить в соответствии с действующим национальным законодательством;
- удаление остальных компонентов тест-систем после использования проводить согласно GLP (good laboratory practice) и действующего национального законодательства в сфере обращения с отходами.

## 6. ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Реагенты тест-системы стабильны в течение срока годности, указанного на этикетке, если их хранить при 2-8 °C. Не допускается замораживание тест-системы. Транспортировать набор при температуре 2-8 °C. Допускается однократная транспортировка при температуре не выше 23 °C в течение двух суток.

*После вскрытия первичной упаковки компоненты тест-системы являются стабильными в течение 3 месяцев, кроме тех, которые указаны в п. 8 настоящей Инструкции.*

## 7. ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Образцы сыворотки или плазмы крови хранить при температуре 2-8 °C не более 3 суток после забора. Для более длительного хранения образцы хранить в морозильной камере при температуре от -20 до -70 °C. Замороженные образцы перед использованием необходимо разморозить и выдержать при комнатной температуре в течение 30 min. Не использовать прогретые образцы. После размораживания образцы следует перемешать для достижения однородности. Избегать повторного замораживания-оттаивания исследуемых образцов. В случае помутнения сыворотки (или плазмы) освободить образец от нерастворимых включений центрифугированием при 3000 оборотов/min в течение 10-15 min. Не использовать образцы сывороток (или плазмы) с выраженной липидемией, гемолизом, а также бактериальным проращением. На результаты анализа не влияет присутствие в образце билирубина в концентрации до 0,21 mg/ml (361,8 μmol/l), гемоглобина в концентрации до 10 mg/ml и триглицеридов в концентрации до 10 mg/ml (11,3 mmol/l).

## 8. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

*Очень важно выдержать все реагенты тест-системы при комнатной температуре (18-25 °C) в течение 30 min перед использованием!*

### 8.1. Подготовка ИФА-планшета

Для предупреждения конденсации воды в лунках необходимо открывать только после выдерживания 30 min при комнатной температуре. Потом раскрыть вакуумную упаковку, отделить необходимое количество лунок, а остальные сразу же тщательно упаковать с влагопоглотителем и хранить плотно закрытыми на замок (zip-lock) при температуре 2-8 °C. Хранение таким образом упакованного планшета обеспечивает его стабильность в течение 3 месяцев.

### 8.2. Приготовление раствора для промывания

Для приготовления раствора для промывания развести концентрат **[WASH TWEEN 20X]** 1:20 (1+19) дистиллированной или деионизированной водой, затем перемешать. Например, 4 ml концентрата + 76 ml воды, что достаточно для 8 лунок. В случае наличия кристаллов в концентрате раствора для промывания, прогреть флакон при 37 °C до полного растворения кристаллов (15-20 min). Разведенный раствор можно хранить при температуре 2-8 °C не более 7 суток.

## 9. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

9.1. Подготовить необходимое количество лунок для анализа (количество исследуемых образцов и четыре лунки для контролей), вставить их в рамку ИФА-планшета. Лунки с контролями обязательно включать в каждую постановку анализа.

9.2. Заполнить бланк внесения проб.

9.3. Приготовить раствор для промывания согласно пункта 8.2.

9.4. Внести во все лунки планшета по 90 µl **[SAMPLE DILUENT]**

9.5. Внести в лунки по 10 µl контролей и исследуемых образцов: в лунку A1 – **[CONTROL +]**, в лунки B1, C1 та D1 – **[CONTROL -]**, в остальные лунки - исследуемые образцы. Осторожно пипетировать смесь в лунках, не допуская пенообразования. При внесении образцов происходит изменение цвета раствора в лунках с коричнево-зеленого на синий.

9.6. Заклеить стрипы клейкой пленкой и инкубировать в течение 30 min при температуре 37 °C.

9.7. По окончании инкубации осторожно снять клейкую пленку и промыть лунки пять раз с использованием автоматического промывателя или 8-канальной пипетки следующим образом:

- удалить содержимое лунок в контейнер для жидких отходов;
- наполнить лунки не менее чем по 300 µl раствора для промывания, оставить не менее чем на 30 s;
- аспирировать раствор из лунок, остаточный объем раствора после аспирации на всех этапах промывания должен составлять не более 5 µl;
- повторить процедуру промывания еще четыре раза;
- после последней аспирации избавиться от лишней влаги, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге.

9.8. В лунки внести по 100 µl **[CONJUGATE SOLUTION]**. Стрипы накрыть новой клейкой пленкой и инкубировать в течение 30 min при 37 °C.

9.9. По окончании инкубации осторожно снять клейкую пленку и промыть лунки пять раз, как описано в пункте 9.7.

9.10. Не касаясь дна и стенок лунок планшета, внести по 100 µl **[TMB SOLUTION]** в лунки.

9.11. Инкубировать стрипы в течение 30 min в темном месте при комнатной температуре 18-25 °C. Не использовать клейкую пленку на данном этапе.

9.12. Для остановки ферментативной реакции внести в лунки по 100 µl **[STOP SOLUTION]** придерживаясь той же последовательности, что и при внесении **[TMB SOLUTION]**.

9.13. Измерить на ридере ОП в каждой лунке при длине волны 450/620-695 nm в течение 5 min после остановки реакции. До проведения измерения необходимо убедиться в чистоте наружной поверхности дна лунок и отсутствии пузырьков.

*Учет результатов анализа можно проводить в одноволновом режиме при длине волны 450 nm, в этом случае следует оставить лунку для установления бланка (в такую лунку внести только **[TMB SOLUTION]** и **[STOP SOLUTION]**).*

## 10. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ И ИХ ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

### 10.1. Учет результатов анализа

Рассчитать среднее значение ОП отрицательного контроля ( $N_c$ ), уровень граничного значения ( $Cut\ off - CO$ ) и индекс позитивности образца ( $IP_{sample}$ ),

$$N_c = (Nc1 + Nc2 + Nc3) / 3; \quad CO = Nc + 0,3; \quad IP_{sample} = OD_{sample} / CO; \quad \text{где } OD_{sample} - OP_{образца}$$

## 10.2. Достоверность результатов анализа

Данные теста считаются достоверными, если они отвечают следующим требованиям:

CONTROL +	$OD \geq 1,200$
CONTROL -	$OD \leq 0,150$
CONTROL -	$Nc \times 0,5 \leq Ncn \leq Nc \times 2,0$

Если одно из значений ОП отрицательного контроля выходит за пределы указанного выше интервала, его отбрасывают и рассчитывают среднее  $Nc$  по остальным значениям ОП отрицательного контроля. Если более одного из значений ОП отрицательного контроля не отвечают указанным требованиям, то тест считается некорректным и требует повторного анализа.

## 10.3. Интерпретация результатов

$IP_{sample} > 1,1$	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ
$0,9 \leq IP_{sample} \leq 1,1$	НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ*
$IP_{sample} < 0,9$	ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ

\*Неопределенные образцы рекомендуется исследовать повторно. Если результаты снова будут в пределах неопределенных, следует произвести забор нового образца.

## 11. ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

### 11.1. Специфичность и чувствительность

Для оценки чувствительности было проанализировано 97 образцов сывороток крови, положительных в двух других коммерческих тест-системах, относительная чувствительность Vitrotest® Anti-Toxocara при этом составляла 98 %. Кроме того, в сравнительных исследованиях тест-системы Vitrotest® Anti-Toxocara с другой коммерческой тест-системой было проанализировано 285 отрицательных образцов сывороток крови. При этом относительная специфичность набора составила 97,9 %.

### 11.2. Точность

*Повторяемость результатов в пределах одной постановки анализа (Intra assay repeatability)*

Коэффициент вариации (CV) для 3 сывороток с разным уровнем специфических антител оценивали в 24 повторях на одной серии тест-системы.

№ сыворотки	OD <sub>cp</sub>	IP <sub>cp</sub>	CV, %
21L	0,449	1,36	2,2
31L	1,223	3,71	5,9
58L	0,605	1,83	4,7

*Воспроизводимость результатов между различными постановками анализа (Inter assay reproducibility)*

Коэффициент вариации (CV) для 3 сывороток с разным уровнем специфических антител оценивали в течение 4 дней в 4 постановках анализа, по 8 повторам в каждом анализе.

№ сыворотки	OD <sub>cp</sub>	IP <sub>cp</sub>	CV, %
76L	1,118	3,26	4,42
78L	1,540	4,49	3,70
79L	0,484	1,41	5,43

## 12. ОГРАНИЧЕНИЯ АНАЛИЗА

Положительный результат в тест-системе Vitrotest® Anti-Toxocara является свидетельством наличия у пациента антител класса IgG, специфичных к *Toxocara canis*. Наличие антител этого класса у новорожденных не является доказательством инвазии *Toxocara canis*.

Неопределенные результаты могут свидетельствовать о инвазии *Toxocara canis* в анамнезе.

Отрицательный результат в тест-системе Vitrotest® Anti-Toxocara свидетельствует об отсутствии в исследуемом образце антител, специфичных к *Toxocara canis*, или концентрация специфических антител ниже предела чувствительности анализа.

Окончательный диагноз не может быть установлен только на основании результатов серологического теста. При установлении диагноза следует учитывать результаты комплекса лабораторных и инструментальных исследований, а также клинические проявления заболевания. Нельзя полностью исключить перекрестные реакции с антителами к антигенам других гельминтов.

### 13. ПРОБЛЕМЫ, КОТОРЫЕ МОГУТ ВОЗНИКНУТЬ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ИФА И СПОСОБЫ ИХ УСТРАНЕНИЯ

<i>Возможные причины</i>	<i>Способы устранения проблем</i>
<i>Высокий фон в лунках всего планшета</i>	
Загрязненный промыватель	Прочистить головку промывателя и промыть 30 % раствором этилового спирта, затем дистиллированной водой
Низкое качество или загрязненность воды	Использовать очищенную воду с удельным сопротивлением $\geq 10$ М $\Omega$ -см.
Использование плохо вымытой посуды	Использовать химически чистую посуду
Использование дезинфицирующих средств, содержащих хлор	Не использовать хлорсодержащие дезинфицирующие средства
Использование загрязненных наконечников	Использовать новые наконечники
Увеличено время инкубации или изменен температурный режим	Придерживаться режима инкубации согласно инструкции по применению
<i>Высокий фон в отдельных рядах</i>	
Повторное внесение раствора ТМБ	Раствор ТМБ вносить один раз
Загрязнение конуса автоматической пипетки раствором конъюгата	Прочистить пипетку и осторожно набирать раствор
Загрязнен один из каналов промывателя	Прочистить канал промывателя, промыть вошер
<i>Значение ОП положительного контроля ниже установленной границы</i>	
Неправильно приготовлен или не внесен один из реагентов (конъюгат или раствор ТМБ)	Повторно провести ИФА, обратить внимание на приготовление этих реагентов
Сокращено время инкубации на одном из этапов	Проводить инкубацию согласно инструкции по применению
<i>Интенсивность окрашивания лунок не отвечает полученной ОП</i>	
Смещен оптический луч	Проверить корректность работы ридера

### ЛИТЕРАТУРА

1. Brunello F, Falagiani P, Genchi C. Enzyme immunoassay (ELISA) for the detection of specific IgG antibodies to *Toxocara canis* ES antigens. // Boll. Ist. Sieroter. Milan. – 1986 – V.65 N.1 – p.54-60.
2. Carlier Y., Yang J., Bout D. and Capron A. The use of an excretory-secretory antigen for an ELISA specific sero-diagnosis of visceral larva migrans. // Biomed Pharmacother – 1982. – V.36 N.1 – p.39-42.
3. Jacoquier P., Gottstein B., Stingelin Y. and Eckert J. Immunodiagnosis of toxocarosis in humans: evaluation of a new enzyme-linked immunosorbent assay kit. // J. Clin. Microbiol. - 1991. – V. 29 N.9 – p.1831–1835.
4. Magnaval J.F., Glickman L.T., Dorchie Ph., Morassin B. Highlights of human toxocarosis. // J. Clin. Microbiol. – 2001. – V 39, N.8 – P. 2991-2994.
5. Noordin R., Smith H.V., Mohamad S., et. al. Comparison of IgG-ELISA and IgG4-ELISA for *Toxocara* serodiagnosis. // Acta Tropica. – 2005 - V. 93 – P. 57-62.

## ГРАФИЧЕСКИЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

**REF**

Номер по каталогу



Используйте инструкцию по применению

**IVD**

Медицинское изделие для диагностики in vitro



Производитель



Предупреждение



Достаточно для проведения <n> количества исследований



Ограничение температуры

**LOT**

Код партии



Использовать до



Дата производства



Беречь от прямых солнечных лучей



Знак соответствия техническим регламентам

ТУ У 24.4-36555928-001:2011  
Inst\_Anti-Тохосара\_TK058\_V04\_RU

Редакция Инструкции № 4 от 28.08.2021

По вопросам и пожеланиями относительно работы изделия обращайтесь к производителю:



ООО «Витротест Биореагент»,  
ул. М. Бойчука 18 б, оф. 56, г. Киев, 01103, Украина (юридический адрес)  
ул. Курортная, дом. 11, г. Київ, 04075, Украина (местонахождение производства)

тел.: +38 (044) 222-76-72, +38 (097) 222-76-72  
e-mail: info@vitrotest.ua, www.vitrotest.ua



# Vitrotest® Anti-Toxocara

## СХЕМА АНАЛИЗА



Выдержать все реагенты не менее 30 min при 18-25 °С перед использованием



Внести 90 µl [SAMPLE DILUENT] в лунки  
(коричнево-зеленый цвет)



Внести 10 µl контролей и образцов в лунки:  
A1 – [CONTROL +],  
B1, C1, D1 – [CONTROL -],  
E1 и другие лунки – исследуемые образцы  
(цвет изменится с коричнево-зеленого на синий)



Заклеить стрипы пленкой, инкубировать 30 min при 37 °С



Промыть лунки 5 раз разведённым 1:20 (1+19) раствором для промывания Tw20 (300 µl в лунку)



Добавить 100 µl [CONJUGATE SOLUTION] в лунки  
(зеленый цвет)



Заклеить стрипы пленкой, инкубировать 30 min при 37 °С



Промыть лунки 5 раз разведённым 1:20 (1+19) раствором для промывания Tw20 (300 µl в лунку)



Добавить 100 µl [TMB SOLUTION] в каждую лунку



Инкубировать 30 min в темноте при 18-25 °С



Остановить реакцию внесением 100 µl [STOP SOLUTION]  
(цвет меняется с синего на жёлтый)



Определить оптическую плотность (OD) при 450/620-695 nm

### УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

$$N_c = (N_{c1} + N_{c2} + N_{c3}) / 3;$$

$$CO = N_c + 0,3;$$

$$IP_{\text{sample}} = OD_{\text{sample}} / CO;$$

$N_c$  -  $OD_{\text{mean}}$  для 3 [CONTROL -]

CO - Cut off, IP- индекс позитивности

### ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

$IP_{\text{sample}} > 1,1$	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ
$0,9 \leq IP_{\text{sample}} \leq 1,1$	НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ
$IP_{\text{sample}} < 0,9$	ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ

**Vitrotest® HCV-IgM**

Імуноферментна тест-система для виявлення антитіл класу IgM до вірусу гепатиту С

TK043  
96 аналізів

**1. ПРИЗНАЧЕННЯ**

Імуноферментна тест-система Vitrotest® HCV-IgM призначена для виявлення антитіл класу IgM до вірусу гепатиту С (ВГС) у сироватці чи плазмі крові людини. Тест-набір може бути застосований як для проведення імуноферментного аналізу (ІФА) з використанням автоматичних піпеток та стандартного обладнання, так і для постановки на автоматичному імуноферментному аналізаторі відкритого типу.

**2. КЛІНІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ**

За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, близько 150 мільйонів людей хронічно інфіковані вірусом гепатиту С і щорічно більше 350 тисяч осіб вмирають від пов'язаних з гепатитом С хвороб печінки. Захворювання може мати гострий або хронічний перебіг, при цьому найчастіше протікає без виражених симптомів. Однак, хронізація інфекції призводить до цирозу печінки та розвитку гепатоцелюлярної карциноми.

Збудником гепатиту С є маленький вкритий оболонкою вірус (50 nm в діаметрі), що містить одноланцюгову РНК, відноситься до родини флавівірусів. В складі геному ВГС виділяють зони, що кодують структурні та неструктурні білки. До структурних антигенів вірусу належать нуклеокапсидний білок – core та два білки зовнішньої оболонки – E1 і E2. Неструктурні білки представлені комплексом білків з ферментативною активністю – NS2, NS3, NS4a, NS4b, NS5a та NS5b. У відповідь на інфікування вірусом в організмі людини продукуються специфічні антитіла до всіх білків вірусу.

Сучасна лабораторна діагностика гепатиту С базується на виявленні специфічних маркерів інфікування ВГС: антигенів вірусу, антитіл до вірусних білків та РНК вірусу в біологічних рідинах організму. Найбільш раннім маркером ВГС-інфекції є вірусна РНК, яка виявляється в крові інфікованого через 2-6 тижнів від моменту інфікування. Через один-два тижні у крові виявляється core антиген вірусу гепатиту С. На 6-8 тижні організмом продукуються специфічні антитіла класу IgM. Як при гострому, так і при хронічному гепатиті С ці антитіла можуть виявлятися тривалий час і являються маркером активної вірусної реплікації. Низькі титри анти-ВГС IgM антитіл виявляються у 50-80 % випадків хронічного гепатиту С. У більшості інфікованих антитіла класу IgG спочатку з'являються до епітопів білків core та NS3, і лише пізніше (через 20-22 тижні після інфікування) до NS4. Окрім того, інтенсивність продукції антитіл до білку NS4 у деяких генотипів ВГС нижче, в той же час кількість антитіл до білків core та NS3 висока для всіх генотипів.

На сьогоднішній день з метою первинної діагностики вірусного гепатиту С та тестування донорської крові для виявлення специфічних до ВГС антитіл переважно застосовують ІФА, в якому використовуються рекомбінантні білки core, NS3, NS4 та NS5.

**3. ПРИНЦИП АНАЛІЗУ**

Виявлення антитіл класу IgM, специфічних до ВГС, в тест-системі Vitrotest® HCV-IgM базується на принципі «непрямого» твердофазного ІФА у двоетапній інкубації. В лунках планшету засорбовані рекомбінантні антигени вірусу гепатиту С core, NS3, NS4. Під час першого етапу інкубації досліджуваних зразків в лунках ІФА-планшета, специфічні до ВГС антитіла, якщо вони присутні, зв'язуються з антигенами на твердій фазі. Лунки відмиваються для видалення нез'язаних антитіл, залишаються лише специфічні комплекси антиген-антитіло. Після цього додається кон'югат антивидових анти-IgM моноклональних антитіл з пероксидазою хрому, який зв'язується з імуноними комплексами на твердій фазі. Незв'язані компоненти видаляються під час відмивання. Комплекси антиген-антитіло виявляються шляхом додавання розчину хромогену 3,3',5,5'-тетраметилбензидину (ТМБ) з перекисом водню. Після 30 min інкубації реакція зупиняється додаванням стоп-реагенту. Оптична густина (ОГ) в лунках визначається на спектрофотометрі при довжині хвилі 450/620-695 nm. Значення ОГ, отримане для зразка, дозволяє виявити наявність або відсутність антитіл класу IgM до ВГС. Інтенсивність жовтого забарвлення пропорційна кількості антитіл, зв'язаних з антигенами на твердій фазі.

**4. МАТЕРІАЛИ ТА ОБЛАДНАННЯ****4.1. Склад набору**

	1x96 лунок	<b>ІФА-планшет</b> В кожній лунці планшету засорбовані рекомбінантні антигени ВГС core, NS3, NS4. Лунки можна відокремлювати. 12 стрипів по 8 лунок.
--	---------------	---

<b>CONTROL +</b>	1x0,7 ml	<b>Позитивний контроль</b> Розчин специфічних імуноглобулінів з консервантом (рожевий).
<b>CONTROL -</b>	1x1,8 ml	<b>Негативний контроль</b> Розчин альбуміну з консервантом (жовтий).
<b>SAMPLE DILUENT</b>	1x10 ml	<b>Розчин для розведення сироваток</b> Буферний розчин з детергентом та консервантом (коричнево-зелений).
<b>CONJUGATE SOLUTION</b>	1x12 ml	<b>Розчин кон'югату</b> Буферний розчин моноклональних антитіл до IgM людини, кон'югованих з пероксидазою хрому, зі стабілізаторами та консервантом (зелений), готовий до використання.
<b>TMB SOLUTION</b>	1x12 ml	<b>Розчин ТМБ</b> Розчин ТМБ, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , стабілізатор, консервант (безбарвний), готовий до використання.
<b>WASH TWEEN 20X</b>	1x50 ml	<b>Розчин для промивання Tw20 (20x)</b> 20-ти кратний концентрат фосфатного буферу з Твіном-20 та NaCl (безбарвний).
<b>STOP SOLUTION</b>	1x12 ml	<b>Стоп-реагент</b> Розчин 0,5 mol/l H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (безбарвний), готовий до використання.

Клейка плівка (2), бланк внесення проб (1) та інструкція з використання.

## 4.2. Додаткові реактиви, матеріали та обладнання

- Автоматичні піпетки змінного об'єму на 10–1000  $\mu$ l та наконечники до них;
- спектрофотометр (рідер) для мікропланшетів на 450/620-695 nm;
- мірний лабораторний посуд (10-1000 ml);
- деіонізована або дистильована вода;
- термостат на 37 °C;
- автоматичний або напівавтоматичний промивач планшетів (вошер);
- контейнери для відходів потенційно зараженого матеріалу;
- таймер;
- фільтрувальний папір;
- одноразові рукавички;
- дезінфікуючі засоби;
- захисний одяг.

## 5. ЗАСТЕРЕЖЕННЯ ТА ЗАХОДИ БЕЗПЕКИ

### 5.1. Застереження

*Дотримання часу інкубації та температури є надзвичайно важливим для коректного результату ІФА.*

- не використовувати компоненти тест-системи після закінчення строку придатності;
- не використовувати під час аналізу та не змішувати компоненти різних серій, компоненти з тест-систем різних нозологій або реагенти інших виробників у поєднанні з наборами Vitrotest®;

*Примітка: допускається використання **WASH TWEEN 20X**, **TMB SOLUTION** та **STOP SOLUTION** інших серій.*

- після використання реагенту закривати кожен флакон своєю кришкою;
- під час промивання контролювати наповнення та повну аспірацію розчину з лунок;
- кожного разу використовувати новий наконечник піпетки для внесення зразків або реагентів;
- уникати потрапляння прямих сонячних променів на реагенти тест-системи;
- **TMB SOLUTION** має бути безбарвним перед використанням. Якщо розчин забарвлений в синій або жовтий колір, його не можна використовувати. Уникати контакту **TMB SOLUTION** з металами або іонами металів. Для роботи використовувати лише чистий, ретельно виполосканий дистильованою водою посуд;
- ні в якому разі не використовувати один і той же посуд для **CONJUGATE SOLUTION** та **TMB SOLUTION**.

*Виробник не несе відповідальність за будь-які некоректні результати та несприятливі випадки, що виникли внаслідок порушень вищенаведених застережень. Виробник не несе відповідальність за візуальний облік результатів аналізу (без використання спектрофотометра).*

## 5.2. Заходи безпеки

- постановку аналізу проводити лише в захисному одязі, одноразових рукавичках та захисних окулярах;
- не допускається приймати їжу, пити, палити або користуватися косметикою у кімнаті виконання тесту;
- не піпетувати розчини ротом;
- позитивний та негативний контрольні тест-системи Vitrotest® HCV-IgM не містять компонентів людського походження;
- деякі компоненти тест-системи містять низькі концентрації шкідливих речовин та можуть спричинити подразнення шкіри та слизових оболонок. При потрапленні [TMB SOLUTION] [STOP SOLUTION] та [CONJUGATE SOLUTION] на слизові оболонки та шкіру необхідно негайно промити уражене місце великою кількістю води;
- у разі розбризкування розчинів, що не містять кислоти, наприклад, сироваток, обробити поверхню дезінфікуючим засобом, а потім витерти насухо фільтрувальним папером. В іншому випадку кислоту спочатку потрібно нейтралізувати розчином бікарбонату натрію, а потім витерти поверхню як описано вище.

## 5.3. Утилізація відходів

- рідкі відходи слід інактивувати, наприклад, розчином перекису водню у кінцевій концентрації 6 % упродовж 3 h за кімнатної температури, або гіпохлоритом натрію у кінцевій концентрації 5 % протягом 30 min, або іншими дозволеними дезінфікуючими засобами;
- тверді відходи слід інактивувати шляхом автоклавування за температури 121 °C упродовж 1 h;
- не автоклаувати розчини, що містять азид натрію або гіпохлорит натрію;
- видалення інактивованих відходів проводити згідно з чинним законодавством України;
- видалення решти компонентів тест-систем після використання проводити згідно GLP (good laboratory practice) та чинного законодавства України в сфері поводження з відходами.

## 6. ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ

Реагенти тест-системи стабільні протягом строку придатності, вказаного на етикетці, якщо їх зберігати за температури 2-8 °C. Не допускається заморожування тест-системи. Транспортувати набір за температури 2-8 °C. Допускається одноразове транспортування за температури не вище 23 °C протягом двох днів.

*Після першого відкриття первинного пакування компоненти тест-системи є стабільними протягом 3 місяців, окрім тих, що зазначені в п. 8 даної Інструкції.*

## 7. ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

Зразки сироватки чи плазми (EDTA, літій-гепарин, цитрат натрію, фторид калію) крові зберігати за температури 2-8 °C не більше 3 днів після забору. Для більш тривалого зберігання зразки тримати у морозильній камері за температури від -20 до -70 °C. Заморожені зразки перед використанням розморозити та витримати за кімнатної температури упродовж 30 min. Не використовувати прогріті зразки. Після розморозування зразки слід перемішати задля досягнення однорідності. Уникати повторного заморожування-відтаювання досліджуваних зразків. У разі помутніння сироватки (чи плазми) звільнити від нерозчинних включень центрифугуванням при 3000 об./min протягом 10-15 min. Не використовувати зразки сироваток (чи плазми) із вираженою ліпідемією, гемолізом, а також бактерійним проростом. На результаті аналізу не впливає присутність у зразку білірубину в концентрації до 0,21 mg/ml (361,8 μmol/l), гемоглобіну в концентрації до 10 mg/ml і тригліцеридів в концентрації до 10 mg/ml (11,3 mmol/l).

## 8. ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ

*Дуже важливо витримати всі реагенти тест-системи за кімнатної температури 18-25 °C протягом 30 min перед використанням!*

### 8.1. Підготовка ІФА-планшета

Для попередження конденсації води в лунках слід відкривати [ELISA STRIPS] лише після витримання 30 min за кімнатної температури. Потім розкрити вакуумну упаковку, відокремити необхідну кількість лунок, а решту відразу ж ретельно упакувати з вологопоглиначем та зберігати щільно закритими на замок (zip-lock) за температури 2-8 °C. Зберігання в такий спосіб упакованого планшета забезпечує його стабільність протягом 3 місяців.

## 8.2. Приготування розчину для промивання

Для приготування розчину для промивання необхідно розвести концентрат **WASH TWEEN|20X** 1:20 (1+19) дистильованою або деіонізованою водою, потім перемішати. Наприклад, 4 ml концентрату + 76 ml води, що достатньо для 8 лунок. У випадку наявності кристалів у концентраті розчину для промивання потрібно прогріти флакон за температури 37 °C до повного розчинення кристалів (15 - 20 min). Розведений розчин можна зберігати за температури 2-8 °C не більше 7 днів.

## 9. ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

- 9.1. Підготувати необхідну кількість лунок для аналізу (кількість досліджуваних зразків та чотири лунки для контролів), вставити їх в рамку ІФА-планшета. Лунки з контролями обов'язково включати до кожної постановки аналізу.
- 9.2. Заповнити бланк внесення проб.
- 9.3. Приготувати розчин для промивання згідно з пунктом 8.2.
- 9.4. Внести в усі лунки планшета по 80  $\mu$ l **SAMPLE DILUENT**.
- 9.5. Внести в лунки по 40  $\mu$ l контролів та досліджуваних зразків: в лунку A1 – **CONTROL|+**, в лунки B1, C1 та D1 – **CONTROL|–**, в решту лунок – досліджувані зразки. Обережно піпетувати суміш в лунках, не допускаючи піноутворення, відбувається зміна кольору розчину в лунках з коричнево-зеленого на синій.
- 9.6. Заклеїти стрипи клейкою плівкою та інкубувати протягом 30 min за температури 37 °C.
- 9.7. По закінченні інкубації обережно зняти клейку плівку та промити лунки п'ять разів з використанням автоматичного промивача або 8-канальної піпетки наступним чином:
  - видалити вміст лунок в контейнер для рідких відходів;
  - наповнити лунки не менш ніж по 300  $\mu$ l розчином для промивання, залишити не менш як на 30 s;
  - аспірувати розчин з лунок, залишковий об'єм розчину після аспірації на всіх етапах промивання має складати не більше 5  $\mu$ l;
  - повторити процедуру промивання ще чотири рази;
  - після останньої аспірації позбавитись зайвої вологи, постукуючи планшетом по фільтрувальному паперу.
- 9.8. В лунки внести по 100  $\mu$ l **CONJUGATE SOLUTION**. Стрипи накрити новою клейкою плівкою та інкубувати протягом 30 min за температури 37 °C.
- 9.9. По закінченні інкубації обережно зняти клейку плівку та промити лунки п'ять разів, як описано в п. 9.7.
- 9.10. Не торкаючись дна та стінок лунок планшета, внести по 100  $\mu$ l **TMB SOLUTION** в лунки.
- 9.11. Інкубувати стрипи протягом 30 min в темному місці за кімнатної температури 18-25 °C. Не використовувати клейку плівку на даному етапі.
- 9.12. Для зупинення ферментативної реакції внести в лунки по 100  $\mu$ l **STOP SOLUTION**, дотримуючись тієї ж послідовності, що і при внесенні **TMB SOLUTION**.
- 9.13. Виміряти на рідері ОГ в кожній лунці при довжині хвилі 450/620-695 nm протягом 5 min після зупинення реакції. До проведення вимірювання слід переконатися у чистоті зовнішньої поверхні дна лунок та відсутності бульбашок.

*Облік результатів аналізу можна проводити в однохвильовому режимі при довжині хвилі 450 nm, в цьому випадку слід залишити лунку для встановлення бланку (в таку лунку вносити лише **TMB SOLUTION** та **STOP SOLUTION**).*

## 10. ОБЛІК РЕЗУЛЬТАТІВ ТА ЇХ ІНТЕРПРЕТАЦІЯ

### 10.1. Облік результатів аналізу

Розрахувати середнє значення ОГ негативного контролю (Nc), рівень граничного значення (Cut off - CO) та індекс позитивності зразка ( $IP_{sample}$ ):

$$Nc = (Nc1 + Nc2 + Nc3) / 3;$$

$$CO = Nc + 0,3$$

$$IP_{sample} = OD_{sample} / CO, \text{ де } OD_{sample} - \text{оптична густина зразка}$$

### 10.2. Достовірність результатів аналізу

Дані тесту вважаються достовірними, якщо вони відповідають наступним вимогам:

<b>CONTROL +</b>	ОГ $\geq$ 1,2
<b>CONTROL –</b>	ОГ $\leq$ 0,150
<b>CONTROL –</b>	$Nc \times 0,5 \leq Ncn \leq Nc \times 2,0$

Якщо одне зі значень ОГ негативного контролю виходить за межі вказаного вище інтервалу, його відкидають і розраховують  $N_c$  за рештою значень ОГ негативного контролю

Якщо більш ніж одне значення ОГ негативного контролю не відповідає зазначеним вимогам, то тест вважається некоректним і потребує повторного аналізу.

### 10.3. Інтерпретація результатів

$IP_{\text{sample}} > 1,1$	ПОЗИТИВНИЙ*
$0,9 \leq IP_{\text{sample}} \leq 1,1$	НЕВИЗНАЧЕНИЙ**
$IP_{\text{sample}} < 0,9$	НЕГАТИВНИЙ

\*Зразки із значенням  $IP_{\text{sample}}$  вище 1,1 вважаються первинно позитивними. Такі зразки мають бути досліджені повторно в двох лунках тест-системи Vitrotest® HCV-IgM. Після повторного тестування **позитивними** вважаються зразки,  $IP_{\text{sample}}$  котрих хоча б в одному з повторів була вище 1,1. Якщо при повторному тестуванні  $IP_{\text{sample}}$  зразка в обох повторах була нижче 0,9 такий зразок вважається **негативним**.

\*\*Невизначені зразки рекомендується дослідити повторно. Якщо результати знову будуть в межах невизначених, слід провести відбір нового зразка.

## 11. ДІАГНОСТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТУ

### 11.1. Специфічність та чутливість

Чутливість тест-системи Vitrotest® HCV-IgM оцінювали з використанням 161 зразка сироваток крові пацієнтів, хворих на гепатит С. З цієї вибірки сироваток в тест-системі Vitrotest® HCV-IgM специфічні до ВГС антитіла класу IgM було виявлено у 65 зразках. Отримані позитивні результати були підтверджені в аналогічній комерційній тест-системі.

При дослідженні в тест-системі Vitrotest® HCV-IgM 299 зразків сироваток крові клінічно здорових донорів (негативних на антитіла до ВГС) не було виявлено хибнопозитивних результатів, специфічність тест-системи Vitrotest® HCV-IgM склала 100 %.

### 11.2. Точність

#### *Повторюваність результатів у межах однієї постановки аналізу (Intra assay repeatability)*

Коефіцієнт варіації (CV) для двох зразків з різним рівнем специфічних антитіл оцінювали в 32 повторах на одній серії тест-системи.

N° зразку	$IP_{\text{сер}}$	CV, %
925L	4,59	4,8
1232L	2,20	5,5

#### *Відтворюваність результатів між різними постановками аналізу (Inter assay reproducibility)*

Коефіцієнт варіації (CV) для двох зразків з різним рівнем специфічних антитіл оцінювали протягом чотирьох днів в чотирьох постановках аналізу по 8 повторів в кожному аналізі.

N° зразку	$IP_{\text{сер}}$	CV, %
925L	4,78	5,1
1232L	2,26	5,3

## 12. ОБМЕЖЕННЯ АНАЛІЗУ

Інтерпретація результатів повинна проводитися з урахуванням клінічних проявів та даних комплексу лабораторних досліджень. Для діагностики гострого, хронічного або перенесеного гепатиту С, оцінки ефективності терапії рекомендується додатково провести дослідження зразка на наявність антитіл до окремих білків ВГС та анти-ВГС IgG антитіл (наприклад, у тест-системах Vitrotest® Anti-HCV Different та Vitrotest® HCV-IgG, відповідно), РНК ВГС та оцінити біохімічні показники сироватки крові.

Оскільки специфічні антитіла класу IgM до ВГС можуть виявлятися лише у частини хворих, набір Vitrotest® HCV-IgM не призначений для скринінгових досліджень на гепатит С.

Сучасні методи виявлення антитіл до ВГС не можуть забезпечити виявлення всіх інфікованих пацієнтів. Негативний результат не виключає інфікування вірусом гепатиту С пацієнта, особливо, якщо він проходить імуносупресивне лікування або інфікований ВІЛ, а також на ранніх стадіях гепатитної інфекції.

Будь-який з методів ІФА може допустити хибнопозитивну реакцію. Для виключення хибнопозитивних результатів рекомендується провести верифікаційне дослідження з визначенням антитіл до окремих білків ВГС та РНК вірусу гепатиту С.

*Постановка діагнозу проводиться лише лікарем з урахуванням отриманих результатів досліджень, анамнезу та клінічної картини.*

### 13. ПРОБЛЕМИ, ЯКІ МОЖУТЬ ВИНИКНУТИ ПРИ ПРОВЕДЕННІ ІФА, ТА СПОСОБИ ЇХ УСУНЕННЯ

<i>Можливі причини</i>	<i>Способи усунення проблем</i>
<i>Високий фон у лунках всього планшета</i>	
Забруднений промивач	Почистити головку промивача та промити 30 % розчином етилового спирту, потім дистильованою водою
Низька якість або забруднення води	Використовувати очищену воду з питомим опором $\geq 10$ МΩ·см.
Використання погано помитого посуду	Використовувати хімічно чистий посуд
Використання дезінфікуючих засобів, що містять хлор	Не використовувати хлорвмісні дезінфікуючі засоби
Використання забруднених наконечників	Використовувати нові наконечники
Збільшено час інкубації або змінено температурний режим	Дотримуватися режиму інкубації відповідно до інструкції з використання
<i>Високий фон в окремих рядах</i>	
Повторне внесення розчину ТМБ	Розчин ТМБ вносити один раз
Забруднення конусу автоматичної піпетки розчином кон'югату	Прочистити піпетку і обережно набирати рідину
Забруднений один із каналів промивача	Почистити канал промивача, промити вошер
<i>Значення ОГ позитивного контролю нижче встановленої межі</i>	
Неправильно внесений або відсутній один із реагентів (кон'югат або розчин ТМБ)	Повторно провести ІФА, звернути увагу на правильність внесення цих реагентів
Скорочено час інкубації на одному з етапів	Проводити інкубацію відповідно до інструкції з використання
<i>Інтенсивність забарвлення лунок не відповідає отриманій оптичній густині</i>	
Зміщений оптичний промінь	Перевірити коректність роботи рідера

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Brillanti S., Masci C., Miglioli M. and Barbara L. Serum IgM antibodies to hepatitis C virus in acute and chronic hepatitis C. // Archives of virology supplementum. - 1993. – N8. – P.213-218.
2. Casno C., Lilli D., Rivanera D., et. al. Diagnostic value of anti-hepatitis C virus (HCV) core immunoglobulin M in recurrence of HCV infection after orthotopic liver transplantation. // Journal of Clinical Microbiology. - 1999. – V.37. – N.8. – P.2726-2728.
3. Dal Molin G., Tiribelli C., Campello C. A rational use of laboratory tests in the diagnosis and management of hepatitis C virus infection. // Annals of hepatology. - 2003. – N2. – P.76-83.
4. Richter S. Laboratory assays for diagnosis and management of hepatitis C virus infection. // Journal of Clinical Microbiology. - 2002. – V.40. – N.12. – P.4407-4412.
5. Urdea M.S., Wuestehube L.J., Laurenson P.M., and Wilber J.C. Hepatitis C – diagnosis and monitoring. // Clinical Chemistry. - 1997. – V.43. – N.8. – P.1507-1511.

# ГРАФІЧНІ ПОЗНАЧЕННЯ



Номер за каталогом



Користуйтеся інструкцією із застосування



Медичний виріб для діагностики in vitro



Виробник



Попередження



Достатньо для проведення <n> кількості досліджень



Обмеження температури



Код партії



Використати до



Дата виготовлення



Берегти від прямих сонячних променів



Уповноважений представник в Європейському Співтоваристві



Знак відповідності технічним регламентам з ідентифікаційним номером органу з оцінки відповідності (ідентифікаційний номер органу з оцінки відповідності UA.TR.099)

*В інструкції використовуються позначення одиниць вимірювання у відповідності до Наказу Мінекономрозвитку України № 914 від 04.08.2015 р.*

Назва величини	Одиниця		
	назва	позначення	
		міжн.	укр.
Час	секунда	s	с
	хвилина	min	хв
	година	h	год
Довжина	сантиметр	cm	см
	нанометр	nm	нм
	міліметр	mm	мм
Об'єм, місткість	літр	l	л
	мілілітр	ml	мл
	мікролітр	µl	мкл
Кількість речовини	моль	mol	моль
	мілімоль	mmol	млмоль
	мікромоль	µmol	мкмоль
Маса	міліграм	mg	мг
Електричний опір	мегаом	MΩ	МОм

ТУ У 24.4-36555928-001:2011

Inst\_HCV-IgM\_TK043\_V01

Редакція Інструкції № 1 від 02.08.2021 р.

З питаннями та побажаннями щодо роботи набору звертайтеся до виробника:



ТОВ «Вітротест Біореагент»,  
вул. М.Бойчука 18б, оф. 56, м. Київ, 01103, Україна (юридична адреса)  
вул. Курортна, буд. 11, м. Київ, 04075, Україна (місцезнаходження виробництва)

tel: +38(044)222-76-72, +38(097)222-76-72  
e-mail: info@vitrotest.ua, www.vitrotest.ua



UA.TR.099

# Vitrotest® HCV-IgM

## СХЕМА АНАЛІЗУ



Витримати всі реагенти та зразки мінімум 30 min при 18-25 °C перед використанням



Внести 80 µl [SAMPLE DILUENT] в лунки стрипів (коричнево-зелений)



Внести 40 µl контролів та зразків у лунки:

A1 – [CONTROL +],

B1, C1, D1 – [CONTROL -],

E1 та інші лунки – досліджувані зразки

(колір змінюється з коричнево-зеленого на синій)



Накрити стрипи клейкою плівкою та інкубувати 30 min при 37 °C



Промити лунки 5 разів розведеним 1:20 (1+19) розчином для промивання Tw20 (300 µl в лунку)



Додати 100 µl [CONJUGATE SOLUTION] в кожну лунку (зелений колір)



Накрити стрипи клейкою плівкою та інкубувати 30 min при 37 °C



Промити лунки 5 разів розведеним 1:20 (1+19) розчином для промивання Tw20 (300 µl в лунку)



Внести по 100 µl [TMB SOLUTION] в кожну лунку



Інкубувати 30 min в темноті при 18-25 °C



Зупинити реакцію додаванням 100 µl [STOP SOLUTION] (колір змінюється з синього на жовтий)



Визначити оптичну густину (OD) при 450/620-695 nm

### ОБЛІК РЕЗУЛЬТАТІВ

$$Nc = (Nc1 + Nc2 + Nc3) / 3; \quad CO = Nc + 0,3;$$
$$IP_{sample} = OD_{sample} / CO;$$

Nc - середнє значення ОГ з [CONTROL -],  
CO - граничне значення, IP- індекс позитивності

### ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

$IP_{sample} > 1,1$	ПОЗИТИВНИЙ*
$0,9 \leq IP_{sample} \leq 1,1$	НЕВИЗНАЧЕНИЙ**
$IP_{sample} < 0,9$	НЕГАТИВНИЙ