



EKVITESTLAB LLC

Velyka Vasylkivska St. 114
03150 Kyiv, Ukraine
Tel. 0-800-31-89-87
e-mail: info@equitest.com.ua
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



Declaration of Conformity

According to annex III of the Council Directive 98/79/EC on in vitro diagnostic medical device
We,

EKVITESTLAB LLC

Velyka Vasylkivska St. 114, Kyiv, Ukraine, 03150, tel. 0(800)31-89-87; +38 (044)334-89-87

e-mail: info@equitest.com.ua, web-site: www.equitest.com.ua

Declare under our sole responsibility that the following in vitro diagnostic medical devices
other than those covered by annex II and devices for performance evaluation

**EQUI anti-Lambliia - ELISA kit for the qualitative detection of antibodies to
Giardia lamblia (intestinalis), REF EI-606**

Meet the provisions of the Council Directive 98/79/EC concerning medical devices which
apply to them.

Undersigned declares to fulfill the obligations imposed by Annex III section 2 to 5:

- availability of the technical documentation set in Annex III (section 3), allowing the assessment of conformity of the product with the requirements of the Directive.
- the manufacturer shall take necessary measures to ensure that the manufacturing process follows the principles of quality assurance as appropriate for the products manufactured (Annex III section 4).
- the manufacturer shall institute and keep up to date a systematic procedure to review experience gained from devices in the post-production phase and to implement appropriate means to apply any necessary corrective actions (Annex III section 5).

Conformity assessment was performed according to Article 9 (7) and Annex III, section 3.

Our current Quality System is formatted to international standards:

- **ISO 13485:2016 «Medical devices — Quality management systems — Requirements for regulatory purposes»**

Corporate Contact Information

EKVITESTLAB LLC

Velyka Vasytkivska St. 114, Kyiv, Ukraine, 03150

tel. 0(800)31-89-87; +38 (044)334-89-87

e-mail: info@equitest.com.ua

RESPONSIBLE PERSON'S name: Anna Yurchuk

Position: Director

SIGNATURE :



Date : October 25, 2021

Stamp



European Authorized Representative:

Registered Address:

Obelis s.a.

Bd. Général Wahis 53

B-1030 Brussels, Belgium

Phone: 32.2.732.59.54

Fax: 32.2.732.60.03

E-mail: mail@obelis.net

Representative: Mr. Gideon ELKAYAM (CEO)



Declaration of Conformity

According to annex III of the Council Directive 98/79/EC on in vitro diagnostic medical device
We,

EKVITESTLAB LLC

Velyka Vasylkivska St. 114, Kyiv, Ukraine, 03150, tel. 0(800)31-89-87; +38 (044)334-89-87
e-mail: info@equitest.com.ua, web-site: www.equitest.com.ua

Declare under our sole responsibility that the following in vitro diagnostic medical devices
other than those covered by annex II and devices for performance evaluation

**EQUI *Ascaris lumbricoides* IgG - ELISA kit for the qualitative detection of IgG
antibodies to *Ascaris lumbricoides*, REF EI-601**

Meet the provisions of the Council Directive 98/79/EC concerning medical devices which
apply to them.

Undersigned declares to fulfill the obligations imposed by Annex III section 2 to 5:

- availability of the technical documentation set in Annex III (section 3), allowing the assessment of conformity of the product with the requirements of the Directive.
- the manufacturer shall take necessary measures to ensure that the manufacturing process follows the principles of quality assurance as appropriate for the products manufactured (Annex III section 4).
- the manufacturer shall institute and keep up to date a systematic procedure to review experience gained from devices in the post-production phase and to implement appropriate means to apply any necessary corrective actions (Annex III section 5).

Conformity assessment was performed according to Article 9 (7) and Annex III, section 3.

Our current Quality System is formatted to international standards:

- **ISO 13485:2016 «Medical devices — Quality management systems — Requirements for regulatory purposes»**

Corporate Contact Information

EKVITESTLAB LLC

Velyka Vasytkivska St. 114, Kyiv, Ukraine, 03150

tel. 0(800)31-89-87; +38 (044)334-89-87

e-mail: info@equitest.com.ua

RESPONSIBLE PERSON'S name: Anna Yurchuk

Position: Director

SIGNATURE :



Date : October 25, 2021

Stamp



European Authorized Representative:

Registered Address:

Obelis s.a.

Bd. Général Wahis 53

B-1030 Brussels, Belgium

Phone: 32.2.732.59.54

Fax: 32.2.732.60.03

E-mail: mail@obelis.net

Representative: Mr. Gideon ELKAYAM (CEO)



Declaration of Conformity

According to annex III of the Council Directive 98/79/EC on in vitro diagnostic medical device
We,

EKVITESTLAB LLC

Velyka Vasylkivska St. 114, Kyiv, Ukraine, 03150, tel. 0(800)31-89-87; +38 (044)334-89-87

e-mail: info@equitest.com.ua, web-site: www.equitest.com.ua

Declare under our sole responsibility that the following in vitro diagnostic medical devices
other than those covered by annex II and devices for performance evaluation

**EQUI *Helicobacter* IgG - ELISA kit for the qualitative and semiquantitative detection
of IgG antibodies to CagA protein of *Helicobacter pylori*, REF EI-502**

Meet the provisions of the Council Directive 98/79/EC concerning medical devices which
apply to them.

Undersigned declares to fulfill the obligations imposed by Annex III section 2 to 5:

- availability of the technical documentation set in Annex III (section 3), allowing the assessment of conformity of the product with the requirements of the Directive.
- the manufacturer shall take necessary measures to ensure that the manufacturing process follows the principles of quality assurance as appropriate for the products manufactured (Annex III section 4).
- the manufacturer shall institute and keep up to date a systematic procedure to review experience gained from devices in the post-production phase and to implement appropriate means to apply any necessary corrective actions (Annex III section 5).

Conformity assessment was performed according to Article 9 (7) and Annex III, section 3.

Our current Quality System is formatted to international standards:

- **ISO 13485:2016 «Medical devices — Quality management systems — Requirements for regulatory purposes»**

Corporate Contact Information

EKVITESTLAB LLC

Velyka Vasylykivska St. 114, Kyiv, Ukraine, 03150

tel. 0(800)31-89-87; +38 (044)334-89-87

e-mail: info@equitest.com.ua

RESPONSIBLE PERSON'S name: Anna Yurchuk

Position: Director

SIGNATURE :



Date : October 25, 2021

Stamp



European Authorized Representative:

Registered Address:

Obelis s.a.

Bd. Général Wahis 53

B-1030 Brussels, Belgium

Phone: 32.2.732.59.54

Fax: 32.2.732.60.03

E-mail: mail@obelis.net

Representative: Mr. Gideon ELKAYAM (CEO)



Declaration of Conformity

According to annex III of the Council Directive 98/79/EC on in vitro diagnostic medical device
We,

EKVITESTLAB LLC

Velyka Vasylkivska St. 114, Kyiv, Ukraine, 03150, tel. 0(800)31-89-87; +38 (044)334-89-87

e-mail: info@equitest.com.ua, web-site: www.equitest.com.ua

Declare under our sole responsibility that the following in vitro diagnostic medical devices
other than those covered by annex II and devices for performance evaluation

***EQUI Toxocara canis IgG - ELISA kit for the qualitative detection of IgG antibodies to
Toxocara canis, REF EI-603***

Meet the provisions of the Council Directive 98/79/EC concerning medical devices which
apply to them.

Undersigned declares to fulfill the obligations imposed by Annex III section 2 to 5:

- availability of the technical documentation set in Annex III (section 3), allowing the assessment of conformity of the product with the requirements of the Directive.
- the manufacturer shall take necessary measures to ensure that the manufacturing process follows the principles of quality assurance as appropriate for the products manufactured (Annex III section 4).
- the manufacturer shall institute and keep up to date a systematic procedure to review experience gained from devices in the post-production phase and to implement appropriate means to apply any necessary corrective actions (Annex III section 5).

Conformity assessment was performed according to Article 9 (7) and Annex III, section 3.

Our current Quality System is formatted to international standards:

- **ISO 13485:2016 «Medical devices — Quality management systems — Requirements for regulatory purposes»**

Corporate Contact Information

EKVITESTLAB LLC

Velyka Vasylykivska St. 114, Kyiv, Ukraine, 03150

tel. 0(800)31-89-87; +38 (044)334-89-87

e-mail: info@equitest.com.ua

RESPONSIBLE PERSON'S name: Anna Yurchuk

Position: Director

SIGNATURE :



Date : October 25, 2021

Stamp



European Authorized Representative:

Registered Address:

Obelis s.a.

Bd. Général Wahis 53

B-1030 Brussels, Belgium

Phone: 32.2.732.59.54

Fax: 32.2.732.60.03

E-mail: mail@obelis.net

Representative: Mr. Gideon ELKAYAM (CEO)

ПРОМСТАНДАРТ ☐ ПРОМСТАНДАРТ ☐ ПРОМСТАНДАРТ ☐ ПРОМСТАНДАРТ ☐ ПРОМСТАНДАРТ ☐



registration code 38745936

Ukraine, 03150, Kyiv, 114 Velyka Vasylykivska street.

Ukraine, 04212, Kyiv, 60/2 Peremohy Avenue

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

«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.

Valid until 05-April 2024

80156
DSTU EN ISO/IEC 17021-1

05 April 2024

dy
LLC

ОДІНКИ ВІДПОВІДНОСТІ «ПРОСТАНДАРТ»
ТОВАРИСТВО З ОБМЕЖЕНОЮ ВІДПОВІДАЛЬНІСТЮ

stamp

(signature)

Sergiy Dubrovskiy

210107

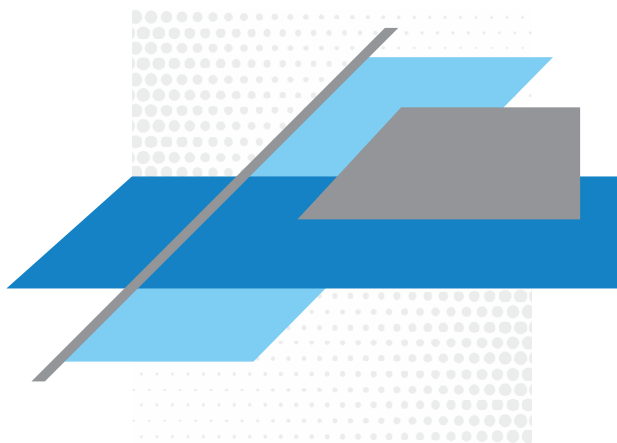
The validity of certificate can be verified by telephone: (056) 742-82-39
or on website of «CAB «PROMSTANDART», LLC: prom-standart.com.ua



anti-Lamblia

ИФА-набор для качественного обнаружения
антител к *Giardia lamblia (intestinalis)*

Инструкция по применению



IVD

REF
EI-606

Σ 96
анализов



CE

EQUI anti-Lamblia

ИФА-набор для качественного обнаружения антител
к *Giardia lamblia (intestinalis)*

1. НАЗНАЧЕНИЕ

ИФА-набор «EQUI anti-Lamblia» предназначен для качественного обнаружения антител к *Giardia lamblia (intestinalis)* в сыворотке или плазме крови человека методом иммуноферментного анализа (ИФА) с целью диагностики лямблиоза. Процедура анализа рассчитана как для ручной постановки с автоматическими пипетками и стандартным оборудованием, так и автоматического иммуноферментного анализатора «открытого» типа.

Целевая группа: дети, владельцы домашних животных, сельские жители, дачники.

Применение: ИФА-набор применяется в клинических диагностических лабораториях и других учреждениях, работающих в области *in vitro* диагностики.

2. КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Лямблиоз (гиардиоз) считается одним из распространенных паразитических заболеваний тонкого кишечника в мире. Эта инфекция является основной причиной острой и хронической диареи, особенно среди детей. Этиологическим агентом лямблиоза является *Giardia lamblia*, также называемая *Giardia intestinalis* или *Giardia duodenalis*.

Giardia lamblia – это одноклеточные жгутиковые самые простые, паразитирующие в кишечнике человека и некоторых других млекопитающих. В жизненном цикле паразитов чередуются две стадии: устойчивые к воздействию внешних условий цисты и вегетативная форма – трофозоиты. Заражение происходит при попадании цист в желудочно-кишечный тракт человека. Испытав действие желудочной кислоты, цисты в двенадцатиперстной кишке превращаются в трофозоиты, которые и паразитируют в верхних отделах тонкого кишечника. Они впитывают питательные вещества из просвета кишки, блокируют пристенковое пищеварение и нарушают двигательную активность кишечника.

Инфицирование человека происходит фекально-оральным путем через зараженные цистами продукты питания, воду, грязные руки и т.д. К человеку лямблии могут попасть и от инфицированных кошек, собак, домашнего скота. Особое распространение лямблиоз приобретает в регионах с плохим соблюдением санитарных норм. Кроме того, передача от человека к человеку часто наблюдается в дошкольных учреждениях.

Во многих случаях инвазия лямблий протекает без клинических проявлений. В противном случае первые симптомы лямблиоза появляются через 1–3 недели после заражения. Чаще они проявляются спазмами, вздутием живота, тошнотой и диареей, что приводит к дегидратации и потере веса. Острая форма заболевания может длиться до двух недель и заканчиваться выздоровлением без дополнительного лечения или

переходить в хроническую. При длительности инвазии более 2 месяцев развивается хронический лямблиоз, обострение клинических проявлений (диарея) носит циклический характер. Паразитирование *Giardia lamblia* может привести к синдрому мальабсорбции, при котором нарушается всасывание углеводов и жиров, а также обмен витаминов B12, A и C.

Для контроля развития заболевания и тяжести клинических проявлений большое значение имеют иммунный ответ на инвазию и неиммунные факторы. В эрадикации возбудителя принимают участие и гуморальный, и клеточный иммунитет, роль которых до сих пор является предметом научных исследований. Кроме того, благодаря защитным механизмам формируется частичная стойкость к повторному заражению.

Как правило, для диагностики лямблиоза проводят выявление трофозоитов и цист лямблий в дуоденальном содержимом и кале. При хроническом течении заболевания цисты выделяются периодически, это следует учитывать и проводить дополнительные анализы регулярно в течение нескольких недель. Другим методом диагностики лямблиоза является обнаружение антигенов *Giardia lamblia* в фекалиях. Вместе с тем серодиагностика с выявлением специфических антител к антигенам лямблий является важным этапом оценки иммунного ответа пациентов. Выявление специфических IgM антител позволяет говорить об острой стадии лямблиоза. Однако выявление специфических IgG и IgA антител следует интерпретировать с осторожностью: в некоторых регионах они сохраняются длительно после инфицирования, в то время как в других их уровень снижается после эрадикации возбудителя.

3. ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Выявление специфических к *Giardia lamblia* антител в ИФА-наборе «EQUI anti-Lamblia» основано на принципе «непрямого» твердофазного ИФА в двухэтапной инкубации. В лунках планшета засорбированы очищенные антигены *Giardia lamblia*. Во время первого этапа инкубации исследуемых образцов в лунках планшета ИФА специфические антитела к *Giardia lamblia*, 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 антивидных конъюгатов (анти-IgG и анти-IgA) моноклональных антител с пероксидазой хрена, которые связываются с иммунными комплексами на твердой фазе. Несвязанные компоненты удаляются при отмывании. Комплексы антиген-антитело 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 антител в образце.

4. МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

4.1. Состав набора

		Планшет ИФА
STRIPS	1 x 96 лунок	В каждой лунке планшета засорбированы очищенные антигены <i>Giardia lamblia</i> . 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 0,35 ml	Раствор конъюгированных специфических моноклональных антител с консервантом (розовый). Хранить при температуре 2-8°C
		Негативный контроль
CONTROL -	1 x 1,2 ml	Негативная сыворотка крови человека с консервантом (желтый). Хранить при температуре 2-8°C
		Раствор для разведения сывороток
DIL SAMPLE	1 x 11 ml	Буферный раствор с экстрактом молока, детергентом и консервантом (фиолетовый). Хранить при температуре 2-8°C
		Раствор конъюгата (готов к использованию)
SOLN CONJ	1 x 13 ml	Буферный раствор моноклональных антител к IgG и IgA человека, конъюгированных с пероксидазой хрена, со стабилизаторами и консервантом (зеленый). Хранить при температуре 2-8°C
		Раствор ТМБ (готов к использованию)
SOLN TMB	1 x 13 ml	Раствор ТМБ, H ₂ O ₂ , 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 мл концентрата + 95 мл 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 ₂ SO ₄ (бесцветный). Хранить при температуре 2-8°C

В состав набора 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, термошейкер на 37°C или термостат на 42°C, автоматический или полуавтоматический промыватель планшетов (вошер), спектрофотометр (ридер) для микропланшетов на 450/620-695

пм, 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 anti-Lambliа»;
- 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-Lambliа» протестированы и признаны негативными на HBsAg и антитела к ВИЧ1/2, ВГС, *Treponema pallidum*, однако обращаться с контролями 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 [SOLN|CONJ] 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, затем вытереть досуха фильтровальной бумагой. В противном случае кислоту сначала нужно 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 промывочного раствора 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 μ l [DIL|SAMPLE].
- 9.5. Внесите в лунки по 20 μ l контролей и исследуемых образцов:
[CONTROL|+] – в лунку A1,
[CONTROL|-] – в лунки B1, C1, D1,
в остальные лунки – исследуемые образцы.
При внесении происходит изменение цвета раствора с фиолетового 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 μ l 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 μ l;
– повторите процедуру промывания еще пять раз;
– после последней аспирации избавьтесь от лишней влаги, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге.
- 9.8. Внесите в лунки по 100 μ l [SOLN|CONJ]. Стрипы накройте новой клейкой пленкой и инкубируйте в течение 30 минут при 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 μ 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 μ 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 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) и индекс позитивности образца (IP_{sample}).

$$\bar{Nc} = (Nc1 + Nc2 + Nc3)/3; \quad CO = \bar{Nc} + 0,25$$

$$IP_{sample} = OD_{sample} / CO, \text{ где } OD_{sample} - \text{ОП образца}$$

10.2. Контроль достоверности результатов анализа

Данные теста считаются достоверными, если они отвечают следующим требованиям:

$$\boxed{\text{CONTROL} +} \quad ОП \geq 1,0$$

$$\boxed{\text{CONTROL} -} \quad ОП \leq 0,150$$

$$\boxed{\text{CONTROL} -} \quad \bar{Nc} \times 0,5 \leq Ncn \leq \bar{Nc} \times 2,0 \quad \text{где } Ncn - \text{ОП каждого повтора } Nc$$

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

$$\begin{array}{ll} IP_{sample} > 1,1 & \text{ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ} \\ 0,9 \leq IP_{sample} \leq 1,1 & \text{НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ*} \\ IP_{sample} < 0,9 & \text{ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ} \end{array}$$

* Неопределенные образцы рекомендуется исследовать повторно в двух лунках набора ИФА. Если результаты снова будут в пределах неопределенных, следует провести отбор и анализ нового образца через 2-4 недели. В случае повторного получения неопределенных результатов такие образцы считать отрицательными.

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 разным уровнем специфических антител оценивали в 32 повторах одной серии ИФА-наборов.

№ сыворотки	ОП _{ср}	IP _{ср}	CV, %
14L	0,679	2,47	6,5
16L	0,490	1,79	6,6

Воспроизводимость результатов между разными постановками анализа (Inter assay reproducibility)

Коэффициент вариации (CV) для двух сывороток с разным уровнем специфических антител оценивали в течение 3 дней в 3 постановках анализа, по 8 повторов в каждом анализе.

№ сыворотки	ОП _{ср}	IP _{ср}	CV, %
14L	0,670	2,39	5,55
16L	0,463	1,65	7,06

Аналитическая специфичность

На результат анализа не влияет наличие в образце билирубина в концентрации до 0,21 mg/ml (361,8 μ 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

Исследование характеристик метода по сравнению с аналогичным коммерческим ИФА-набором проводилось на выборке охарактеризованных сывороток, целевой группе детей и выборке доноров. Относительную чувствительность ИФА-наборов «EQUI anti-Lambliа» определяли на выборке из 23 образцов сывороток крови, которые были проверены на наличие антител к *Giardia lamblia* и охарактеризованы как положительные в коммерческом ИФА-наборе. Все сыворотки также были определены как положительные в наборах «EQUI anti-Lambliа», а значит относительная чувствительность составляет 100%. Для выборки из 148 сывороток детей, проверенных и охарактеризованных в коммерческих аналогах, относительная специфичность ИФА-наборов «EQUI anti-Lambliа» составила 92,86%, процент совпадения – 93,24%. По аналогичному принципу для выборки из 238 образцов сывороток крови доноров относительная специфичность составляла 97%, а процент совпадения – 96,64%.

12. ОГРАНИЧЕНИЕ АНАЛИЗА

Окончательный диагноз не может быть установлен только на основании результатов серологического теста, следует учитывать клинические проявления заболевания и данные лабораторных исследований (такие как результаты выявления цист в фекальных пробах или трофозоитов в дуоденальном содержимом; результаты обнаружения антигена *Giardia lamblia* в фекалиях).

Нельзя полностью исключить перекрестные реакции с антителами к антигенам других паразитов.

Специфические антитела *Giardia lamblia* могут не проявляться у детей со стойким и длительным лямблиозом.

Следует заметить, что антитела класса IgG к *Giardia lamblia* могут длительно проявляться в ИФА, даже после успешно проведенного лечения.

13. ТРУДНОСТИ, КОТОРЫЕ МОГУТ ВОЗНИКНУТЬ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ИФА

Возможные причины	Способы решения
Высокий фон в лунках всего планшета	
Загрязненного промывателя	Очистить промыватель и промойте его в соответствии с инструкцией
Низкое качество или загрязненная вода	Использовать очищенную воду с удельным сопротивлением $\geq 10 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$
Использование плохо помытой посуды	Использовать химически чистую посуду
Использование моющих средств, содержащих хлор	Не использовать дезинфицирующие средства, содержащие хлор
Использование загрязненных наконечников	Использовать только новые наконечники
Увеличение времени инкубации или изменение температурного режима	Соблюдать режим инкубации в соответствии с инструкцией по применению
Высокий фон в отдельных рядах	
Повторное внесение раствора ТМБ	Раствор ТМБ следует вносить один раз
Загрязнение конуса автоматической пипетки раствором конъюгата	Прочистить пипетку и осторожно набирать жидкость
Загрязнение одного из каналов промывателя	Прочистить канал промывателя, промыть вошер
Полученное значение ОП положительного контроля ниже установленной границы	
Неправильно приготовлен или не внесен один из реагентов (раствор конъюгата или раствор ТМБ)	Повторно провести ИФА анализ, обратить внимание на правильность внесения этих реагентов
Сокращено время инкубации на одном из этапов	Проводить инкубацию в соответствии с инструкцией по применению
Интенсивность окраски лунок не соответствует полученной оптической плотности	
Высокая вероятность смещения оптического луча	Проверить корректность работы ридера

14. ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОМОЩЬ И ОБСЛУЖИВАНИЕ КЛИЕНТОВ

В случае возникновения технических проблем необходимо обратиться к производителю.

ЛИТЕРАТУРА

1. Adam R. D. Biology of *Giardia lamblia* // *Clinical Microbiology Reviews*. - 2001. - Vol. 14(3). - P. 447–475.
2. CDC - *Giardia* // <https://www.cdc.gov/parasites/giardia/index.html>.
3. Choy S. H., Al-Mekhlafi H. M. et al. Prevalence and Associated Risk Factors of *Giardia* Infection among Indigenous Communities in Rural Malaysia // *Scientific Reports*. - 2014. - Vol. 4, Article number: 6909.
4. DuPont H. L. *Giardia*: both a harmless commensal and a devastating pathogen // *Journal of Clinical Investigation*. - 2013. - Vol. 123(6). - P. 2352–2354.
5. Faubert G. Immune Response to *Giardia duodenalis* // *Clinical Microbiology Reviews*. - 2000. - Vol. 13(1). - P. 35–54.
6. Lopez-Romero G., Quintero J. et al. Host defences against *Giardia lamblia* // *Parasite Immunology*. - 2015. -Vol. 37(8). - P. 394-406.
7. Saghaug C. S., Sørnes S. et al. Human Memory CD4+ T Cell Immune Responses against *Giardia lamblia* // *Clinical and Vaccine Immunology*. - 2016. - Vol. 23, No. 1. - P. 11-18.
8. Solaymani-Mohammadi S. and Singer S. M. *Giardia duodenalis*: The Double-edged Sword of Immune Responses in Giardiasis // *Experimental Parasitology*. - 2010. - Vol. 126 (3). - P. 292–297.
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
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



Уполномоченный представитель на территории ЕС



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



Нестерильно



Ознакомление с инструкцией по применению



Беречь от прямых солнечных лучей



Хранить в сухом месте



Знак соответствия техническим регламентам



Знак соответствия требованиям безопасности ЕС

Редакция 7 от 18.02.2022г.

С вопросами и пожеланиями по работе набора обращайтесь к производителю:



ООО «Эквипестлаб»

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, www.equitest.com.ua



Obelis s.a.

Bd Général Wahis 53
1030 Brussels
Belgium
Tel: +(32)2 732-59-54
Fax: +(32)2 732-60-03
mail@obelis.net

СХЕМА ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА

Выдержать реагенты 30 min при температуре 18-25°C

В лунки планшета внести по 80 µl **DIL|SAMPLE**
(фиолетовый 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 фиолетового на синий)

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

Промыть лунки 5 раз приготовленным 1:20 (1+19) промывным раствором 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) 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)

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

УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

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

$$CO = \overline{Nc} + 0,25;$$

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

Nc - Среднее значение ОП 3-х **CONTROL|–**

CO - Уровень граничного значения (Cut off)

IP_{sample} - Индекс позитивности образца

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

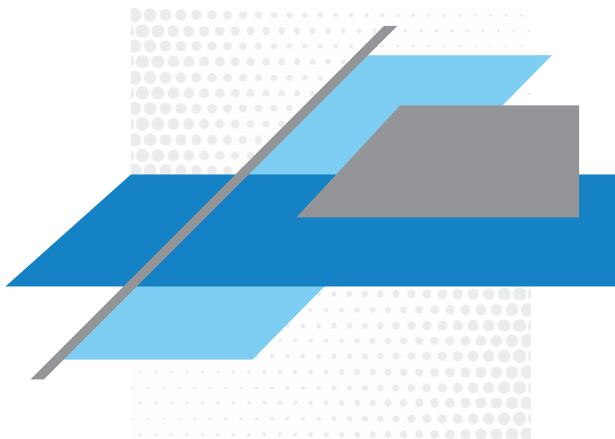
$IP_{sample} > 1,1$	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ
$0,9 \leq IP_{sample} \leq 1,1$	НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ
$IP_{sample} < 0,9$	ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ



Ascaris lumbricoides IgG

ИФА-набор для качественного обнаружения антител
класса IgG к *Ascaris lumbricoides*

Инструкция по применению



IVD

REF
EI-601

Σ 96
анализов



CE

EQUI *Ascaris lumbricoides* IgG

ИФА-набор для качественного обнаружения антител
класса IgG к *Ascaris lumbricoides*

1. НАЗНАЧЕНИЕ

ИФА-набор «EQUI *Ascaris lumbricoides* IgG» предназначен для качественного обнаружения антител класса IgG к *Ascaris lumbricoides* в сыворотке или плазме крови человека методом иммуноферментного анализа (ИФА) с целью диагностики аскаридоза. Процедура анализа рассчитана как для ручной постановки с автоматическими пипетками и стандартным оборудованием, так и автоматического иммуноферментного анализатора «открытого» типа.

Целевая группа: дети, деревенские обитатели, дачники.

Применение: ИФА-набор применяется в клинических диагностических лабораториях и других учреждениях, работающих в области *in vitro* диагностики.

2. КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Ascaris lumbricoides является паразитом человека, вызывающим аскаридоз – один из наиболее распространенных гельминтозов в мире. По некоторым оценкам, на Земле насчитывается более миллиарда инфицированных аскаридами.

Аскарида человеческая – это круглый червь из типа *Nematoda*, паразитирующий в тонком кишечнике человека, который и является его единственным хозяином. Яйца *Ascaris lumbricoides* выделяются в окружающую среду с калом зараженного человека. В теплой влажной почве внутри яиц развиваются личинки аскарид, поэтому яйца приобретают инвазионность только после периода созревания (2-3 недели при температуре 25-30°C, при более низких температурах процесс занимает больше времени). После заражения в кишечнике человека личинки выходят из яиц, попадают в кровеносное русло и с течением крови мигрируют в печень и легкие. Из легких личинки двигаются к глотке, где повторно заглатываются и впоследствии попадают снова в тонкий кишечник. Там спустя 2-3 месяца из личинок развиваются взрослые аскариды, способные к размножению.

Передаются гельминты фекально-оральным путем при проглатывании зрелых яиц *Ascaris lumbricoides* с загрязненными почвами овощами, фруктами, водой, а также через грязные руки после контакта с землей. Аскаридоз условно разделяют на раннюю стадию (миграция личинок) и позднюю (паразитирование взрослых особей в кишечнике). В большинстве случаев инвазия протекает бессимптомно. Первичное недомогание может наблюдаться уже через несколько дней после заражения и сопровождаться слабостью, болью в животе, тошнотой. Миграция личинок в легкие может проявляться хрипами и кашлем. Интенсивная инвазия в некоторых случаях может приводить к пневмонии и поражению печени. Однако

наиболее распространенным симптомом раннего аскаридоза являются аллергические реакции из-за развития гиперчувствительности к продуктам жизнедеятельности личинок.

Клиническими проявлениями поздней стадии являются снижение аппетита, боли в животе, рвота, диарея, запоры. Массивная аскаридная инвазия может приводить к закупорке кишечника клубком гельминтов или прорыву стенок с развитием перитонита. При попадании аскариды в другие органы могут возникнуть осложнения, такие как гепатит, холангит, панкреатит и даже асфиксия. При аскаридозе иногда наблюдаются неврологические расстройства: головные боли, раздражительность, нарушение сна, рассеянность и т.д. Интенсивная инвазия без своевременного лечения может привести к смерти, особенно у младшего возраста.

Еще на ранней стадии развивается сильный иммунный ответ на инвазию *Ascaris lumbricoides*, включающий и клеточный, и гуморальный иммунитет. Антигены личинок аскарид стимулируют секрецию специфических иммуноглобулинов всех классов, однако больше возрастает уровень специфических и общих IgE-антител. Интенсивность иммунного ответа (в том числе рост титров IgG антител) коррелирует с массой инвазии.

Для диагностики аскаридоза чаще всего используют паразитологическое исследование кала на наличие личинок и яиц аскарид. На ранней стадии инвазии дополнительно используют рентгенологическое исследование легких. Также в комплекс исследований входит общий анализ крови (при аскаридозе развивается эозинофилия) и выявление сывороточных антител к антигенам *Ascaris lumbricoides*. Наличие специфических антител к аскаридам может свидетельствовать об инвазии без клинических проявлений и в комплексе с другими диагностическими инструментами позволяет начать терапию до появления осложнений.

3. ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Обнаружение антител класса IgG к *Ascaris lumbricoides* в наборе ИФА «EQUI *Ascaris lumbricoides* IgG» базируется на принципе «непрямого» твердофазного ИФА в двухэтапной инкубации. В лунках планшета засорбированы антигены *Ascaris lumbricoides*. Во время первого этапа инкубации исследуемых образцов в лунках планшета ИФА специфические антитела *Ascaris lumbricoides*, 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 конъюгат антивидовых анти-IgG моноклональных антител с пероксидазой хрена, который связывается с иммунными комплексами на твердой фазе. Несвязанные компоненты удаляются при отмывании. Комплексы антиген-антитело 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 антител в образце.

4. МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

4.1. Состав набора

STRIPS	1 x 96 лунок	Планшет ИФА В каждой лунке планшета засорбированы антигены <i>Ascaris lumbricoides</i> . Лунки можно отделять. После первого открытия храните неиспользованные стрипы в упаковке при температуре 2-8°C не более 6 месяцев
CONTROL +	1 x 0,25 ml	Позитивный контроль Раствор конъюгированных специфических моноклональных антител с консервантом (розовый). Хранить при температуре 2-8°C
CONTROL -	1 x 0,6 ml	Негативный контроль Негативная сыворотка крови человека с консервантом (желтый). Хранить при температуре 2-8°C
DIL SAMPLE	1 x 13 ml	Раствор для разведения сывороток Буферный раствор с экстрактом молока, детергентом и консервантом (коричневый). Хранить при температуре 2-8°C
SOLN CONJ	1 x 13 ml	Раствор конъюгата (готов к использованию) Буферный раствор моноклональных антител к IgG человека, конъюгированный с пероксидазой хрена, со стабилизаторами и консервантом (зеленый). Хранить при температуре 2-8°C
SOLN TMB	1 x 13 ml	Раствор ТМБ (готов к использованию) Раствор ТМБ, H ₂ O ₂ , стабилизатор, консервант (бесцветный). Хранить при температуре 2-8°C
TWEEN WASH 20x	1 x 50 ml	Раствор для промывки TWEEN (20x концентрат) 20-кратный концентрат фосфатного буфера с Твином-20 (бесцветный). Развести раствор для промывки TWEEN (20x) 1:20 дистиллированной или деионизированной водой (например, 5 мл концентрата + 95 мл воды для 8 лунок) перед использованием. Разбавленный раствор хранить при температуре 2-8°C не более 7 суток
SOLN STOP	1 x 13 ml	Стоп-раствор (готов к использованию) Раствор 0,5 mol H ₂ SO ₄ (бесцветный). Хранить при температуре 2-8°C

В состав набора 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

Редакция 8 от 10.02.2022г.

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 Ascaris lumbricoides IgG»;
- 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 Ascaris lumbricoides IgG» протестированы и признаны негативными на HBsAg и антитела к ВИЧ1/2, ВГС, *Treponema pallidum*, однако обращаться с контролями 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 [SOLN|CONJ] 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, затем вытереть досуха фильтровальной бумагой. В противном случае кислоту сначала нужно 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 промывочного раствора 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 90 µl **[DIL|SAMPLE]**.
- 9.5. Внесите в лунки по 10 µl контролей и исследуемых образцов:
[CONTROL|+] – в лунку A1,
[CONTROL|-] – в лунки B1, C1, D1,
в остальные лунки – исследуемые образцы.
При внесении 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 пять раз;
– после последней аспирации избавьтесь от лишней влаги, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге.
- 9.8. Внесите в лунки по 100 µl **[SOLN|CONJ]**. Стрипы накройте новой клейкой пленкой и инкубируйте в течение 30 минут при 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 µl **[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 µl **[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 пузырьков.

Учет результатов анализа можно проводить в одноволновом режиме при длине волны 450 nm, в этом случае оставить 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) и индекс позитивности образца (IP_{sample}).

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

$$IP_{sample} = OD_{sample} / CO, \text{ где } OD_{sample} - \text{ОП образца}$$

10.2. Контроль достоверности результатов анализа

Данные теста считаются достоверными, если они отвечают следующим требованиям:

$$[CONTROL|+] \quad ОП \geq 1,0$$

$$[CONTROL|-] \quad ОП \leq 0,150$$

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

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

$$\begin{array}{ll} IP_{sample} > 1,1 & \text{ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ} \\ 0,9 \leq IP_{sample} \leq 1,1 & \text{НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ*} \\ IP_{sample} < 0,9 & \text{ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ} \end{array}$$

* Неопределенные образцы рекомендуется исследовать повторно в двух лунках набора ИФА. Если результаты снова будут в пределах неопределенных, следует провести отбор и анализ нового образца через 2-4 недели. В случае повторного получения неопределенных результатов такие образцы считать отрицательными.

11. ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

11.1. Аналитические характеристики

Прецизионность

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

Коэффициент вариации (CV) для троих сывороток с разным уровнем специфических антител оценивали в 24 повторах одной серии ИФА-наборов.

№ сыворотки	ОП _{ср}	IP _{ср}	CV, %
547	0,504	1,43	2,9
671	0,753	2,13	3,6
413	1,165	3,30	3,1

Воспроизводимость результатов между разными постановками анализа (Inter assay reproducibility)

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

№ сыворотки	ОП _{ср}	IP _{ср}	CV, %
547	0,534	1,55	5,0
671	0,750	2,17	4,6
413	1,159	3,36	3,6

Аналитическая специфичность

На результат анализа не влияет наличие в образце билирубина в концентрации до 0,21 mg/ml (361,8 μ 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 и специфичности наборов ИФА «EQUI *Ascaris lumbricoides* IgG» использовали 55 образцов сывороток, полученных от пациентов с клиническими симптомами, характерными для аскаридоза, и 60 образцов сывороток пациентов без клинических проявлений (серонегативных по отношению к *Ascaris lum*). Клиническая чувствительность ИФА-наборов «EQUI *Ascaris lumbricoides* IgG» составляла 94,55%, а клиническая специфичность – 93,3%.

Исследование характеристик метода по сравнению с аналогичным коммерческим набором ИФА проводили на целевой группе детей (160 образцов) и выборке доноров (346 образцов). Для выборки сывороток детей была определена относительная специфичность ИФА-наборов «EQUI *Ascaris lumbricoides* IgG» на уровне 97,92%, а процент совпадения составил 95,51%. Для выборки образцов сывороток крови доноров относительная чувствительность составляла 89,74%, относительная специфичность – 96,30%, а процент совпадения – 95,47%.

12. ОГРАНИЧЕНИЕ АНАЛИЗА

Положительный результат в ИФА-наборе «EQUI *Ascaris lumbricoides* IgG» является свидетельством наличия у пациента антител класса IgG, специфических к *Ascaris lumbricoides*. Наличие антител этого класса у

новорожденных не является подтверждением инвазии *Ascaris lumbricoides*.

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

Негативный результат в ИФА-наборе EQUI *Ascaris lumbricoides* IgG свидетельствует об отсутствии в исследуемом образце антител, специфических к *Ascaris lumbricoides*, или концентрация специфических антител ниже предела чувствительности анализа.

Окончательный диагноз не может быть установлен только исходя из результатов серологического теста. При определении 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. ТРУДНОСТИ, КОТОРЫЕ МОГУТ ВОЗНИКНУТЬ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ИФА

Возможные причины	Способы решения
Высокий фон в лунках всего планшета	
Загрязненного промывателя	Очистить промыватель и промойте его в соответствии с инструкцией
Низкое качество или загрязненная вода	Использовать очищенную воду с удельным сопротивлением $\geq 10 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$
Использование плохо помытой посуды	Использовать химически чистую посуду
Использование моющих средств, содержащих хлор	Не использовать дезинфицирующие средства, содержащие хлор
Использование загрязненных наконечников	Использовать только новые наконечники
Увеличение времени инкубации или изменение температурного режима	Соблюдать режим инкубации в соответствии с инструкцией по применению
Высокий фон в отдельных рядах	
Повторное внесение раствора ТМБ	Раствор ТМБ следует вносить один раз
Загрязнение конуса автоматической пипетки раствором конъюгата	Прочистить пипетку и осторожно набирать жидкость

Загрязнение одного из каналов промывателя	Прочистить канал промывателя, промыть вошер
<i>Полученное значение ОП положительного контроля ниже установленной границы</i>	
Неправильно приготовлен или не внесен один из реагентов (раствор конъюгата или раствор ТМБ)	Повторно провести ИФА анализ, обратить внимание на правильность внесения этих реагентов
Сокращено время инкубации на одном из этапов	Проводить инкубацию в соответствии с инструкцией по применению
<i>Интенсивность окраски лунок не соответствует полученной оптической плотности</i>	
Высокая вероятность смещения оптического луча	Проверить корректность работы ридера

14. ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОМОЩЬ И ОБСЛУЖИВАНИЕ КЛИЕНТОВ

В случае возникновения технических проблем необходимо обратиться к производителю.

ЛИТЕРАТУРА

1. CDC - Ascariasis // <https://www.cdc.gov/parasites/ascariasis/index.html>.
2. Cooper P. J., Chico M. E. et al. Human Infection with *Ascaris lumbricoides* Is Associated with a Polarized Cytokine Response // *The Journal of Infectious Diseases*. - 2003. - Vol. 182 (4). - P. 1207–1213.
3. Gupta S., Kumar S. et al. *Ascaris lumbricoides*: an unusual aetiology of gastric perforation // *Journal of Surgical Case Reports*. - 2012. - Vol. 2012. - rjs008.
4. Li Q., Zhao D. et al. Life-threatening complications of ascariasis in trauma patients: a review of the literature // *World Journal of Emergency Medicine*. - 2014. - Vol. 5 (3). - P. 165–170.
5. McSharry C., Xia Y. et al. Natural Immunity to *Ascaris lumbricoides* Associated with Immunoglobulin E Antibody to ABA-1 Allergen and Inflammation Indicators in Children // *Infection and Immunity*. - 1999. - Vol. 67(2). - P. 484–489.
6. Palmer L. J., Celedón J. C. et al. *Ascaris lumbricoides* Infection Is Associated with Increased Risk of Childhood Asthma and Atopy in Rural China // *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. - 2002. - Vol. 165, No. 11. - P. 1489–1493.
7. Shalaby N. Effect of *Ascaris lumbricoides* infection on T helper cell type 2 in rural Egyptian children // *Therapeutics and Clinical Risk Management*. - 2016. - Vol. 12. - P. 379–385.
8. WHO. Water related diseases: ascariasis. 2013 // http://www.who.int/water_sanitation_health/diseases/ascariasis/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
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
	Уполномоченный представитель на территории ЕС
	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, ознакомиться с сопроводительными документами
	Нестерильно
	Ознакомление с инструкцией по применению
	Беречь от прямых солнечных лучей
	Хранить в сухом месте
	Знак соответствия техническим регламентам
	Знак соответствия требованиям безопасности ЕС

Редакция 8 от 10.02.2022г.

С вопросами и пожеланиями по работе набора обращайтесь к производителю:



ООО «Эквипестлаб»
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, www.equitest.com.ua



Obelis s.a.
Bd Général Wahis 53
1030 Brussels
Belgium
Tel: +(32)2 732-59-54
Fax: +(32)2 732-60-03
mail@obelis.net

СХЕМА ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА

Выдержать реагенты 30 min при температуре 18-25°C

В лунки планшета внести по 90 µl [DIL|SAMPLE]
(коричневый цвет)

Внести по 10 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) промывным раствором 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) 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)

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

УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

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

$$CO = \overline{Nc} + 0,3;$$

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

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

CO - Уровень граничного значения (Cut off)

IP_{sample} - Индекс позитивности образца

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

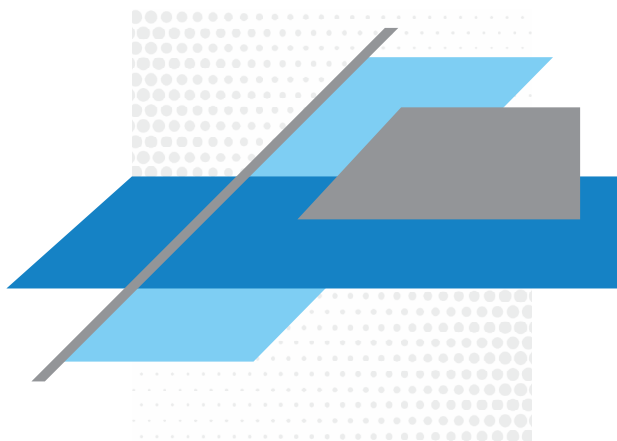
$IP_{sample} > 1,1$	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ
$0,9 \leq IP_{sample} \leq 1,1$	НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ
$IP_{sample} < 0,9$	ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ



Borrelia burgdorferi IgG

ELISA kit for the qualitative and semiquantitative
detection of IgG antibodies to *Borrelia burgdorferi*

Instructions for use



IVD

REF
EI-801

Σ 96
tests



EQUI *Borrelia burgdorferi* IgG

ELISA kit for the qualitative and semiquantitative detection of IgG antibodies to *Borrelia burgdorferi*

1. INTENDED USE

The «EQUI *Borrelia burgdorferi* IgG» ELISA is a kit intended to qualitatively and semi-quantitatively detect anti-*Borrelia burgdorferi* sensu lato IgG in human serum or plasma by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in order to diagnose Lyme disease. The testing procedure is designed for both manual arrangement with automatic pipettes and standard equipment, and for automated open immunoassay analysers.

Target group: patients with non-specific infectious symptoms, people who spend lots of time outdoors in wooded, grassy areas or tick bites, inhabitants of endemic areas.

Usage: ELISA kit is used in clinical diagnostic laboratories and other institutions engaged in *in vitro* diagnostics.

2. CLINICAL SIGNIFICANCE

Lyme disease, or Lyme borreliosis, is the most common bacterial infection in the northern hemisphere that is transmitted through the bite of Ixodes mites. Spirochetes of the genus *Borrelia* cause this disease. Lyme disease causes polysystemic affections and without proper treatment in the chronic form causes a number of complications.

Lyme borreliosis is caused by several species and serotypes of bacteria in North America, Europe and Asia, which are grouped into the group *Borrelia burgdorferi* sensu lato. The most common are *Borrelia burgdorferi* sensu stricto, *Borrelia afzelii*, *Borrelia garinii*. These are mobile gram-negative spiral spirochetes 10-25 µm long and about 0.2 µm thick.

After infection with *Borrelia*, an inflammatory reaction occurs in response to surface antigens of *Borrelia burgdorferi*. The development of primary migratory erythema is associated with the interaction of mast cells with lipoproteins of the pathogen. During the first stage of the disease, 1-3 weeks after infection, specific IgM antibodies to *Borrelia burgdorferi* antigens begin to be produced. They are found in the vast majority of people with a history of primary migratory erythema and tick bites. Specific IgG antibodies begin to be synthesized about a month after infection and are detected in high titers in the second stage of Lyme disease, as well as in chronic borreliosis in the absence of proper treatment. After successful therapy, the titer of IgG antibodies decreases after a few months, but they may continue to be low for a long time. The presence of specific antibodies to *Borrelia burgdorferi* antigens does not provide immunity to re-infection.

Asymptomatic course of the disease in the early stages, as well as nonspecific manifestations of tick-borne borreliosis complicate its timely detection. The detection of specific antibodies plays a special role to *Borrelia* antigens in serum or cerebrospinal fluid by ELISA and immunoblotting. However, false-positive results of serodiagnosis can be observed in the presence of other spirochert infections

(syphilis, leptospirosis, etc.). Bacteriological methods of detection of the pathogen and its genetic material by polymerase chain reaction are used to verify the diagnosis. In addition, there is a seronegative course of the disease. Therefore, when diagnosing Lyme borreliosis, both the data of the epidemiological anamnesis and the clinical picture of the infection are taken into account.

3. ANALYSIS PRINCIPLE

The procedure of testing for anti-*Borrelia burgdorferi* specific IgG in «EQUI *Borrelia burgdorferi* IgG» ELISA kit is based on «indirect» solid-phase ELISA with a two-stage incubation. Recombinant antigens of *Borrelia burgdorferi* sensu lato are entrapped in the wells. During the first step of incubation of ELISA plate wells with test samples, specific anti-*Borrelia burgdorferi* antibodies (if present in the samples) bind to the solid-phase antigens. The wells are washed to remove unbound antibodies and have only specific antigen-antibody complexes left. Then, a conjugate of anti-species IgG monoclonal antibodies with horseradish peroxidase is added, which binds to solid-phase immune complexes. Unbound components are removed by washing. Antigen-antibody complexes are detected by adding a solution of chromogen 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB) with hydrogen peroxide. After 30-minute incubation, the reaction is stopped by adding the stop solution. The optical density (OD) in the wells is determined using a spectrophotometer at 450/620-695 nm. The intensity of the yellow colour is proportional to the level of antibodies in the sample.

4. MATERIALS AND EQUIPMENT

4.1. Contents of the ELISA kit

STRIPS	1 x 96 wells	Microplate
		Each plate well is coated with anti- <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato: <i>B.burgdorferi</i> sensu stricto, <i>B.afzelii</i> , <i>B.garinii</i> . The wells are detachable. After the first opening, store unused strips in the package at 2-8 °C for a maximum of 6 months
CONTROL +	1 x 0,25 ml	Positive control
		Conjugated specific monoclonal antibody solution with preservative (pink). Store at 2-8 °C
CONTROL -	1 x 0,6 ml	Negative control
		Negative human serum with a preservative (yellow). Store at 2-8 °C
DIL SAMPLE	1 x 13 ml	Serum dilution solution
		Buffer solution with a milk extract, a detergent and a preservative (violet). Store at 2-8 °C
SOLN CONJ	1 x 13 ml	Conjugate solution (ready to use)
		Buffer solution of monoclonal antibodies to human IgG, conjugated with horseradish peroxidase, with stabilizers and preservative (green). Store at 2-8 °C

SOLN|TMB

1 x 13 ml

TMB solution (ready to use)

TMB solution, H_2O_2 , a stabilizer, a preservative (colourless). Store at 2-8 °C

Washing solution TWEEN (20x concentrated)

20-fold phosphate buffer concentrate with Tween-20 (colourless). Dilute TWEEN detergent (20x) at 1:20 with distilled or deionized water (e. g., 5 mL of concentrate + 95 mL of water for 8 wells) before use. Store the diluted solution at 2-8 °C for a maximum of 7 days

TWEEN|WASH|20x

1 x 50 ml

SOLN|STOP

1 x 13 ml

Stop Solution (ready to use)

0.5 mol H_2SO_4 solution (colourless). Store at 2-8 °C

The ELISA kit also includes adhesive films (2 items), sample application plan (1 item), checklist, and instruction for use.

4.2. Optional reagents, materials and equipment

Automatic single and multichannel pipettes 10–1000 μL , tips, volumetric laboratory glassware (10–1,000 mL), deionized or distilled water, thermostat at 37 °C, automatic or semi-automatic plate washer, spectrophotometer (reader) for microplates at 450/620-695 nm, appropriate containers for potentially contaminated waste, timer, filter paper, disposable powder-free gloves, disinfectants.

5. PRECAUTIONS AND SAFETY

5.1. Precautions

Be sure to read the instructions for use carefully before the test. The validity of the test results depends on strict following of the test procedure.

- do not use the ELISA kit components after the expiry date;
- do not use reagents from different lots of the ELISA kit during the assay; do not mix reagents from different lots of the ELISA kit; do not mix reagents from ELISA kits of different nosology; do not use reagents of other manufacturers along with «EQUI *Borrelia burgdorferi* IgG» kits;
- do not freeze the ELISA kit or its contents;
- after using a reagent, close each vial with its cap;
- when washing, control filling and complete aspiration of solution from the wells;
- use a new pipette tip each time you add samples or reagents;
- prevent direct sunlight from reaching the reagents from the ELISA ki;
- **SOLN|TMB** solution must be colourless before use. Do not use the solution if its colour is blue or yellow. Avoid contact of **SOLN|TMB** with metals or metal ions. Use only clean glassware thoroughly rinsed with distilled water;
- do not use reagents with colour not in line with para. 4.1;
- under no circumstances should the same glassware be used for **SOLN|CONJ** and **SOLN|TMB**;
- do not evaluate the test results visually (without a reader);

- any optional equipment that is in direct contact with biological material or kit components should be considered contaminated and requires cleaning and decontamination;
- the ELISA kit includes materials for 96 tests. Dispose of the used components as well as any remaining unused components.

5.2. Safety requirements

- all reagents in the ELISA kit are for laboratory professional use for *in vitro* diagnosis only and may only be used by qualified personnel;
- conduct the tests in disposable powder-free gloves and goggles only;
- do not eat, drink, smoke, or apply make-up in the test room;
- do not mouth-pipette the solutions;
- controls of ELISA kit «EQUI Borrelia burgdorferi IgG» were tested and found to be negative for anti-HIV1/2, anti-HCV, anti-*T.pallidum* antibodies and HBsAg. Nevertheless, all controls and patient samples should be regarded and handled as potentially infectious;
- some components of the ELISA kit contain low concentrations of harmful agents and could cause irritation of the skin and the mucosa. In the case of contact with [SOLN|TMB], [SOLN|STOP] and [SOLN|CONJ] with skin or mucosa the place of contact should be immediately rinsed with large amounts of water;
- in case of spilling solutions that do not contain acid, e.g. sera, disinfect the surface thoroughly, then dry it with absorbent paper. If the spilling fluid is an acid, it must be initially neutralized with sodium bicarbonate and then use the mechanism described above.

5.3. Waste inactivation and disposal

- the liquid waste must be inactivated, for example, with hydrogen peroxide solution at the final concentration of 6% for 3 hours at room temperature, or with sodium hypochlorite at the final concentration of 5% for 30 minutes, or with other approved disinfectants;
- the solid waste must be inactivated by autoclaving at a temperature not less than 132°C;
- do not autoclave the solutions that contain sodium azide or sodium hypochlorite;
- disposal of inactivated waste must be conducted due to national laws and regulations.

6. STORAGE AND STABILITY

ELISA kit is stable up to the expiry date stated on the label when stored at 2-8°C. The kit should be transported at 2-8°C. Single transportation at a temperature up to 23°C for two days is possible.

7. SAMPLE COLLECTION, TRANSPORTATION AND STORAGE GUIDELINES

Collect blood from the vein into the sterile test tube. Test tube must be marked with patient ID and date of sample collecting. Blood before serum separation can be stored at 2-8 °C for 24 hours, avoiding freezing.

Serum or plasma can be stored at 2-8 °C for maximum 3 days. Frozen serum can be stored for longer periods of time at -20 °C or -70 °C. Thaw frozen samples and keep them at room temperature for 30 minutes before use. After thawing, the stir samples to achieve homogeneity. Avoid repeated freezing-thawing cycles for test samples. If serum (or plasma) is turbid, remove insoluble inclusions by centrifugation at 3000 rpm for 10-15 minutes. Do not use serum samples with hyperlipidemia, hemolysis, and bacterial growth.

Transport serum samples in insulated containers. To do that, put closed labelled tubes in a plastic bag, tightly seal it and place in the centre of an insulated container. Put the frozen cold packs on the bottom, along the side walls of the insulated container and on top of the serum samples.

8. REAGENT PREPARATION

NOTE! It is very important to keep all ELISA kit components for at least 30 min at room temperature 18-25 °C before the assay!

8.1. Microplate preparation

To prevent water condensation in the wells, keep the **STRIPS** for 30 minutes at a room temperature before opening. Open the vacuum pack, detach the appropriate number of wells, and carefully pack the remaining wells with a desiccant and store tightly zip-locked at 2-8 °C. Storing the packed plate this way ensures its stability for 6 months.

8.2. Washing solution preparation

To prepare detergent, dilute **TWEEN|WASH|20x** at 1:20 (1+19) with distilled or deionized water and stir. E. g., 5 mL of concentrate + 95 mL of water, which is enough for 8 wells. If there are crystals present in the detergent concentrate, heat the vial at 37 °C until the crystals dissolve completely (15–20 minutes). Store the diluted solution at 2-8 °C for a maximum of 7 days.

9. ASSAY PROCEDURE

9.1. Prepare the necessary number of wells (four wells for controls and a necessary number of wells for test samples) and insert them into the ELISA plate frame.

Be sure to add control wells in every test run.

9.2. Fill in the sample application plan.

9.3. Prepare the detergent as per para. 8.2.

9.4. Dispense 90 µl of **DIL|SAMPLE** into each well.

9.5. Add 10 µl of controls and test samples into the wells:

CONTROL|+ – into well A1,

CONTROL|- – into wells B1, C1, D1,

and test samples into the remaining wells.

At the time of adding, colour of the sample diluent changes from violet to blue. Pipette mixture in the wells gently, avoiding foaming.

9.6. Cover strips with an adhesive film and incubate for 30 min at 37°C.

9.7. Remove and discard the adhesive film and wash all wells 6 times with automatic washer or 8-channel pipette as follows:

- aspirate the content of all wells into a liquid waste container;
- add a minimum of 300 µl of diluted washing solution to each well, soak each well for 30 seconds;
- aspirate the content of all wells again. The residual volume after every aspiration should be less than 5 µl;
- repeat the washing step 5 more times;
- after the final aspiration, eliminate extra moisture by tapping the plate against a piece of filter paper.

9.8. Add 100 µl of [SOLN|CONJ] into all wells. Cover strips with a new adhesive film and incubate for 30 min at 37°C.

9.9. Remove and discard the adhesive film and wash all wells 5 times as described above in 9.7.

9.10. Add 100 µL of [SOLN|TMB] into the wells; do not touch the bottom and the walls of the plate wells.

9.11. Incubate the strips for **30 minutes** in a dark place at a room temperature of 18-25 °C. Do not use adhesive film at this stage.

9.12. Add 100 µL of [SOLN|STOP] into each strip well to stop the enzymatic reaction; adhere to the same sequence of actions as when adding [SOLN|TMB]. At the time of adding, the solution colour changes from blue to yellow, and clear solution slightly changes its shade.

9.13. Measure the optical density (OD) of the wells at 450/620-695 nm wavelength using an ELISA microplate reader within 5 minutes after stopping the reaction. Pay attention to the cleanness of the plate bottom and the absence of bubbles in the wells before reading.

Measurement at the single wavelength of 450 nm is possible, in that case, it is needed to leave one well for blank (only [SOLN|TMB] and [SOLN|STOP] must be added in blank well).

10. CALCULATION AND INTERPRETATION OF RESULTS

10.1. Calculation of results

Calculate the average OD of the negative control ($\bar{Nc}$), Cut off (CO) and a sample positivity index (IP_{sample}).

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

$$IP_{sample} = OD_{sample} / CO, \text{ where } OD_{sample} \text{ is the OD sample}$$

10.2. Quality control (assay validation)

The test results are considered valid if they meet the following requirements:

CONTROL + OD $\geq 1,5$

CONTROL - OD $\leq 0,150$

CONTROL - $\bar{Nc} \times 0,5 \leq Ncn \leq \times 2,0$ where Ncn is the OD for each Nc run

If any of the OD values for the negative control is beyond the above interval, it should be discarded, and $\bar{Nc}$ is calculated based on the remaining OD values for the negative control. If several OD values for the negative control fail to meet the above requirements, the test is considered invalid and requires a new run.

10.3. Interpretation of results

$IP_{\text{sample}} > 1,1$	POSITIVE
$0,9 \leq IP_{\text{sample}} \leq 1,1$	BORDERLINE*
$IP_{\text{sample}} < 0,9$	NEGATIVE

* Borderline samples are recommended to be re-examined in two wells of the ELISA kit. If the results are again uncertain, a new sample should be selected and analyzed in 2-4 weeks. In case of repeated indeterminate results, such samples shall be considered negative.

Use of the positivity index allows for a semi-quantitative comparative analysis of the level of specific antibodies in the dynamics of paired samples obtained from patients with an interval of 2-4 weeks. It should be borne in mind that IP_{sample} within 1,1 – 7,0 proportional to the content of specific antibodies. If IP_{sample} is higher 7,0, to correctly assess the content of specific antibodies, it is recommended to re-analyze the sample previously diluted 10 times. When determining the final result in this case, multiply the value obtained IP_{sample} on the degree of dilution (x10).

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical performance characteristics

Precision of measurement

Intra assay repeatability

The coefficient of variation (CV) for two sera with different levels of specific antibodies was evaluated in 32 replicates on one series of ELISA kits.

Sample No.	OD _{av}	IP _{av}	CV, %
2	0,449	1,3	7,2
13	0,675	2,0	7,1

Inter assay reproducibility

The coefficient of variation (CV) for two sera with different levels of specific antibodies was evaluated for 4 days in 4 sets of analysis, 8 replicates in each analysis.

Sample No.	OD _{av}	IP _{av}	CV, %
2	0,414	1,2	7,8
13	0,714	2,1	6,9

Analytical specificity

The test results are not affected by bilirubin at up to 0.21 mg/mL (361.8 µmol/L), haemoglobin at up to 10 mg/mL and triglycerides at up to 10 mg/mL (11.3 mmol/l) present in the sample.

11.2. Diagnostic characteristics

To determine the sensitivity and specificity of the «EQUI *Borrelia burgdorferi* IgG» ELISA kit in comparison with a similar commercial ELISA kit, 122 samples of donor blood sera (random sampling) and 212 samples of children's blood sera (a total of 334 samples), as well as samples of a commercial panel of sera, were used «Lyme Disease (Anti-*Borrelia burgdorferi*) Mixed Titer Performance Panel PTL202» (SeraCare Life Sciences, USA). The results of determination of antibodies of the IgG class to *Borrelia burgdorferi*, obtained in the «EQUI *Borrelia burgdorferi* IgG» ELISA kit, were compared with the results obtained in similar commercial tests. The relative sensitivity of the «EQUI *Borrelia burgdorferi* IgG» ELISA kit was 99.5%, the relative specificity was 98.8%.

12. LIMITATIONS OF ASSAY

A positive result in the «EQUI *Borrelia burgdorferi* IgG» ELISA kit is evidence of the presence of IgG class antibodies in the patient, specific to *Borrelia burgdorferi* sensu lato, which are produced by the body when a person is infected with the causative agent of Lyme borreliosis.

It should be noted that in the case of early infection, the ELISA result may be negative due to the absence of antibodies at the initial stage of the disease. In the presence of clinical manifestations of the disease, it is recommended to conduct repeated testing after two to four weeks, as well as examine the patient's sample for specific antibodies of the IgM class (for example, in the «EQUI *Borrelia burgdorferi* IgM» ELISA kit).

It is not possible to completely exclude false-positive results, which may be caused by the presence of specific antibodies in the blood in diseases caused by spirochetes (syphilis, typhus, leptospirosis, etc.).

To confirm a positive ELISA result, it is recommended to conduct an additional study of the sample for the presence of antibodies to individual *Borrelia burgdorferi* proteins by immunoblotting. However, the final diagnosis cannot be established only on the basis of serological test results. For the correct diagnosis of tick-borne borreliosis, research should also be conducted to identify the causative agent, for example, using PCR or cultural methods. When establishing a diagnosis, the results of a complex of laboratory and instrumental studies, as well as clinical manifestations of the disease, should be taken into account.

13. DIFFICULTIES THAT CAN OCCUR DURING THE ASSAY PROCEDURE

Possible reasons	Solution
<i>High background in all wells</i>	
Contaminated washer	Clean the washer head and rinse according to the instructions for use
Poor quality or contaminated water	Use purified water with specific resistance $\geq 10 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$
Use of poorly washed glassware	Use chemically clean utensils
Use of chlorinated disinfectants	Do not use chlorine disinfectants
Use of contaminated tips	Use new tips
Increased incubation times or change in the temperature conditions	Adhere to the incubation regime according to the instructions for use
<i>High background in a row of wells</i>	
Repeat application of TMB solution	TMB solution should be applied once
Contamination of the automatic pipette nozzle with conjugate solution	Clean the pipette and dial carefully liquid
Contamination of one of the washer's channel	Clean the flush channel, rinse washer
<i>Received OD of the positive control is below the border value</i>	
One of the reagents (conjugate solution or TMB solution) was not prepared in a correct way or was not added	Re-conduct ELISA, pay attention to the correctness of the introduction of these reagents
Reduced incubation times at any stage	Incubate according to instructions for use
<i>The colour density of the wells fails to meet the obtained optical density value</i>	
This may suggest that the optical beam has been displaced	Check the correct operation of the reader

14. TECHNICAL ASSISTANCE AND CUSTOMER SERVICE

In case of technical problems, you can obtain assistance by contacting the manufacturer.

REFERENCES

1. Bernard Q., Wang Z. et al. Interaction of primary mast cells with *Borrelia burgdorferi* (sensu stricto): role in transmission and dissemination in C57BL/6 mice // *Parasites & Vectors*. - 2017. - 10:313.
2. CDC. Lyme Disease // <https://www.cdc.gov/lyme/index.html>.
3. Cerar T., Strle F., Stupica D. et al. Differences in Genotype, Clinical Features, and Inflammatory Potential of *Borrelia burgdorferi* sensu stricto Strains from Europe and the United States // *Emerging Infectious Diseases*. - 2016. - Vol. 22(5). - P. 818-827.
4. Embers M. E., Hasenkampf N. R. et al. Dynamic Longitudinal Antibody Responses during *Borrelia burgdorferi* Infection and Antibiotic Treatment of Rhesus Macaques // *Clinical & Vaccine Immunology*. – 2012. – Vol. 19, No. 8. – P. 1218-1226.
5. Lantos P. M., Auwaerter P. G., Wormser G. P. A Systematic Review of *Borrelia burgdorferi* Morphologic Variants Does Not Support a Role in Chronic Lyme Disease // *Clinical Infectious Diseases*. - 2014. - Vol. 58(5). - P. 663–671.
6. Lyme Borreliosis (Lyme disease). In: *International travel and health*. Geneva: World Health Organization; 2014 (<http://www.who.int/ith/diseases/lyme/en/>).
7. Tilly K., Rosa P. A. and Stewart P. E. Biology of Infection with *Borrelia burgdorferi* // *Infectious Disease Clinics of North America*. - 2008. - Vol. 22(2). - P. 217–234.
8. Shapiro E. D. *Borrelia burgdorferi* (Lyme Disease) // *Pediatrics in Review*. - 2014. - Vol. 35(12). - P. 500–509.
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.
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.



Manufacturer



In vitro diagnostic medical device



Catalogue number



Date of manufacture



Use by date



Batch code



Temperature limit



Contains sufficient for <n> tests



Caution



Consult instructions for use



Keep away from sunlight



Mark of compliance with technical regulations

Edition 7, 13.12.2022

For questions and suggestions regarding the ELISA kit contact:



Ekvittestlab LLC

Velyka Vasylkivska St. 114, Kyiv, Ukraine, 03150

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

e-mail: info@equitest.com.ua, www.equitest.com.ua

ASSAY PROCEDURE SCHEME

Keep all reagents for 30 min at temperature 18-25°C before use

Dispense 90 µl [DIL][SAMPLE] into the wells (violet)

Add to 10 µl of controls and samples into the wells:
A1 – [CONTROL][+], B1, C1, D1 – [CONTROL][-],
other wells – examined samples
(change of colour from violet to blue)

Cover strips with an adhesive film, incubate for **30 min at 37°C**

Rinse the wells 5 times with prepared 1:20 (1+19) washing solution TWEEN (300 µl per well)

Add 100 µl of [SOLN][CONJ] into all wells (green)

Cover strips with an adhesive film, incubate for **30 min at 37°C**

Rinse the wells 5 times with prepared 1:20 (1+19) washing solution TWEEN (300 µl per well)

Add 100 µl of [SOLN][TMB] into all wells

Incubate for **30 min** in the dark at **18-25°C**

Add 100 µl of [SOLN][STOP] into all wells
(change of colour from blue to yellow)

Measure the optical density (OD) with an ELISA microplate reader at 450/620-695 nm

CALCULATION OF RESULTS

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

$$CO = \bar{Nc} + 0,3;$$

$$IP_{\text{sample}} = OD_{\text{sample}} / CO$$

$\bar{Nc}$ - the average value of OD 3-x [CONTROL][-]

CO - Cut off

IP_{sample} - sample positivity index

INTERPRETATION OF RESULTS

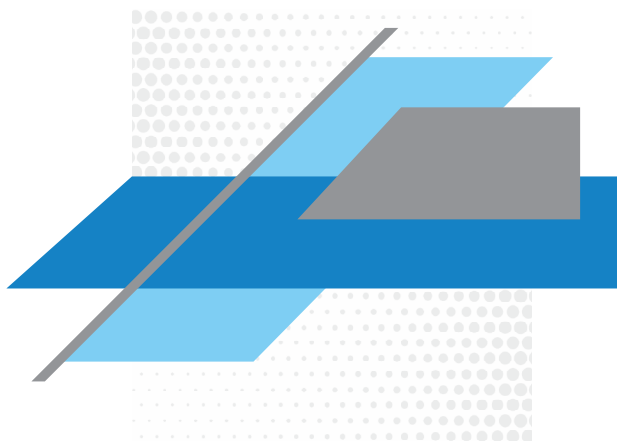
$IP_{\text{sample}} > 1,1$	POSITIVE
$0,9 \leq IP_{\text{sample}} \leq 1,1$	BORDERLINE
$IP_{\text{sample}} < 0,9$	NEGATIVE



Borrelia burgdorferi IgM

ELISA kit for the qualitative detection of IgM
antibodies to *Borrelia burgdorferi*

Instructions for use



IVD

REF
EI-802

Σ 96
tests



EQUI *Borrelia burgdorferi* IgM

ELISA kit for the qualitative detection of IgM
antibodies to *Borrelia burgdorferi*

1. INTENDED USE

The «EQUI *Borrelia burgdorferi* IgM» ELISA kit is intended for the qualitative detection of IgM antibodies to *Borrelia burgdorferi* sensu lato in human serum or blood plasma by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the purpose of diagnosing acute Lyme borreliosis. The analysis procedure is designed both for manual setup with automatic pipettes and standard equipment, and for an automatic enzyme immunoassay of the «open» type.

Target group: patients with non-specific infectious symptoms, visits to the forest or a history of tick bites, summer residents, residents of endemic areas.

Usage: ELISA kit is used in clinical diagnostic laboratories and other institutions engaged in *in vitro* diagnostics.

2. CLINICAL SIGNIFICANCE

Lyme disease, or Lyme borreliosis, is the most common bacterial infection in the northern hemisphere that is transmitted through the bite of Ixodes mites. Spirochetes of the genus *Borrelia* cause this disease. Lyme disease causes polysystemic affections and without proper treatment in the chronic form causes a number of complications.

Lyme borreliosis is caused by several species and serotypes of bacteria in North America, Europe and Asia, which are grouped into the group *Borrelia burgdorferi* sensu lato. The most common are *Borrelia burgdorferi* sensu stricto, *Borrelia afzelii*, *Borrelia garinii*. These are mobile gram-negative spiral spirochetes 10-25 µm long and about 0.2 µm thick.

After infection with *Borrelia*, an inflammatory reaction occurs in response to surface antigens of *Borrelia burgdorferi*. The development of primary migratory erythema is associated with the interaction of mast cells with lipoproteins of the pathogen. During the first stage of the disease, 1-3 weeks after infection, specific IgM antibodies to *Borrelia burgdorferi* antigens begin to be produced. They are found in the vast majority of people with a history of primary migratory erythema and tick bites. Specific IgG antibodies begin to be synthesized about a month after infection and are detected in high titers in the second stage of Lyme disease, as well as in chronic borreliosis in the absence of proper treatment. After successful therapy, the titer of IgG antibodies decreases after a few months, but they may continue to be low for a long time. The presence of specific antibodies to *Borrelia burgdorferi* antigens does not provide immunity to re-infection.

Asymptomatic course of the disease in the early stages, as well as nonspecific manifestations of tick-borne borreliosis complicate its timely detection. The detection of specific antibodies plays a special role to *Borrelia* antigens in serum or cerebrospinal fluid by ELISA and immunoblotting. However, false-positive results of serodiagnosis can be observed in the presence of other spirochete infections (syphilis, leptospirosis, etc.). Bacteriological methods of detection of the pathogen

and its genetic material by polymerase chain reaction are used to verify the diagnosis. In addition, there is a seronegative course of the disease. Therefore, when diagnosing Lyme borreliosis, both the data of the epidemiological anamnesis and the clinical picture of the infection are taken into account.

3. ANALYSIS PRINCIPLE

The procedure of testing for anti-*Borrelia burgdorferi* sensu lato specific IgM in «EQUI *Borrelia burgdorferi* IgM» ELISA kit is based on «indirect» solid-phase ELISA with a two-stage incubation. Recombinant antigens of *Borrelia burgdorferi* are entrapped in the wells. During the first step of incubation of ELISA plate wells with test samples, specific anti-*Borrelia burgdorferi* antibodies (if present in the samples) bind to the solid-phase antigens. The wells are washed to remove unbound antibodies and have only specific antigen-antibody complexes left. Then, a conjugate of anti-species IgM monoclonal antibodies with horseradish peroxidase is added, which binds to solid-phase immune complexes. Unbound components are removed by washing. Antigen-antibody complexes are detected by adding a solution of chromogen 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB) with hydrogen peroxide. After 30-minute incubation, the reaction is stopped by adding the stop solution. The optical density (OD) in the wells is determined using a spectrophotometer at 450/620-695 nm. The intensity of the yellow colour is proportional to the level of antibodies in the sample.

4. MATERIALS AND EQUIPMENT

4.1. Contents of the ELISA kit

		Microplate
STRIPS	1 x 96	Each plate well is coated with anti- <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato: <i>B.burgdorferi</i> sensu stricto, <i>B.afzelii</i> , <i>B.garinii</i> . The wells are detachable. After the first opening, store unused strips in the package at 2-8 °C for a maximum of 6 months
	wells	
		Positive control
CONTROL +	1 x 0,25 ml	Conjugated specific monoclonal antibody solution with preservative (pink). Store at 2-8 °C
		Negative control
CONTROL -	1 x 0,6 ml	Negative human serum with a preservative (yellow). Store at 2-8 °C
		Serum dilution solution
DIL SAMPLE	1 x 13 ml	Buffer solution with a milk extract, a detergent and a preservative (brown). Store at 2-8 °C
		Conjugate solution (ready to use)
SOLN CONJ	1 x 13 ml	Buffer solution of monoclonal antibodies to human IgM, conjugated with horseradish peroxidase, with stabilizers and preservative (green). Store at 2-8 °C

SOLN TMB	1 x 13 ml	TMB solution (ready to use) TMB solution, H ₂ O ₂ , a stabilizer, a preservative (colourless). Store at 2-8 °C Washing solution TWEEN (20x concentrated) 20-fold phosphate buffer concentrate with Tween-20 (colourless). Dilute TWEEN detergent (20x) at 1:20 with distilled or deionized water (e. g., 5 mL of concentrate + 95 mL of water for 8 wells) before use. Store the diluted solution at 2-8 °C for a maximum of 7 days
TWEEN WASH 20x	1 x 50 ml	
SOLN STOP	1 x 13 ml	Stop Solution (ready to use) 0.5 mol H ₂ SO ₄ solution (colourless). Store at 2-8 °C

The ELISA kit also includes adhesive films (2 items), sample application plan (1 item), checklist, and instruction for use.

4.2. Optional reagents, materials and equipment

Automatic single and multichannel pipettes 10–1000 µL, tips, volumetric laboratory glassware (10–1,000 mL), deionized or distilled water, thermostat at 37 °C, automatic or semi-automatic plate washer, spectrophotometer (reader) for microplates at 450/620–695 nm, appropriate containers for potentially contaminated waste, timer, filter paper, disposable powder-free gloves, disinfectants.

5. PRECAUTIONS AND SAFETY

5.1. Precautions

Be sure to read the instructions for use carefully before the test. The validity of the test results depends on strict following of the test procedure.

- do not use the ELISA kit components after the expiry date;
- do not use reagents from different lots of the ELISA kit during the assay; do not mix reagents from different lots of the ELISA kit; do not mix reagents from ELISA kits of different nosology; do not use reagents of other manufacturers along with «EQUI Borrelia burgdorferi IgM» kits;
- do not freeze the ELISA kit or its contents;
- after using a reagent, close each vial with its cap;
- when washing, control filling and complete aspiration of solution from the wells;
- use a new pipette tip each time you add samples or reagents;
- prevent direct sunlight from reaching the reagents from the ELISA ki;
- **SOLN|TMB** solution must be colourless before use. Do not use the solution if its colour is blue or yellow. Avoid contact of **SOLN|TMB** with metals or metal ions. Use only clean glassware thoroughly rinsed with distilled water;
- do not use reagents with colour not in line with para. 4.1;
- under no circumstances should the same glassware be used for **SOLN|CONJ** and **SOLN|TMB**;
- do not evaluate the test results visually (without a reader);

- any optional equipment that is in direct contact with biological material or kit components should be considered contaminated and requires cleaning and decontamination;
- the ELISA kit includes materials for 96 tests. Dispose of the used components as well as any remaining unused components.

5.2. Safety requirements

- all reagents in the ELISA kit are for laboratory professional use for *in vitro* diagnosis only and may only be used by qualified personnel;
- conduct the tests in disposable powder-free gloves and goggles only;
- do not eat, drink, smoke, or apply make-up in the test room;
- do not mouth-pipette the solutions;
- controls of ELISA kit «EQUI Borrelia burgdorferi IgM» were tested and found to be negative for anti-HIV1/2, anti-HCV, anti-*T.pallidum* antibodies and HBsAg. Nevertheless, all controls and patient samples should be regarded and handled as potentially infectious;
- some components of the ELISA kit contain low concentrations of harmful agents and could cause irritation of the skin and the mucosa. In the case of contact with [SOLN|TMB], [SOLN|STOP] and [SOLN|CONJ] with skin or mucosa the place of contact should be immediately rinsed with large amounts of water;
- in case of spilling solutions that do not contain acid, e.g. sera, disinfect the surface thoroughly, then dry it with absorbent paper. If the spilling fluid is an acid, it must be initially neutralized with sodium bicarbonate and then use the mechanism described above.

5.3. Waste inactivation and disposal

- the liquid waste must be inactivated, for example, with hydrogen peroxide solution at the final concentration of 6% for 3 hours at room temperature, or with sodium hypochlorite at the final concentration of 5% for 30 minutes, or with other approved disinfectants;
- the solid waste must be inactivated by autoclaving at a temperature not less than 132°C;
- do not autoclave the solutions that contain sodium azide or sodium hypochlorite;
- disposal of inactivated waste must be conducted due to national laws and regulations.

6. STORAGE AND STABILITY

ELISA kit is stable up to the expiry date stated on the label when stored at 2-8°C. The kit should be transported at 2-8°C. Single transportation at a temperature up to 23°C for two days is possible.

7. SAMPLE COLLECTION, TRANSPORTATION AND STORAGE GUIDELINES

Collect blood from the vein into the sterile test tube. Test tube must be marked with

patient ID and date of sample collecting. Blood before serum separation can be stored at 2-8 °C for 24 hours, avoiding freezing.

Serum or plasma can be stored at 2-8 °C for maximum 3 days. Frozen serum can be stored for longer periods of time at -20 °C or -70 °C. Thaw frozen samples and keep them at room temperature for 30 minutes before use. After thawing, stir samples to achieve homogeneity. Avoid repeated freezing-thawing cycles for test samples. If serum (or plasma) is turbid, remove insoluble inclusions by centrifugation at 3000 rpm for 10-15 minutes. Do not use serum samples with hyperlipidemia, hemolysis, and bacterial growth.

Transport serum samples in insulated containers. To do that, put closed labelled tubes in a plastic bag, tightly seal it and place in the centre of an insulated container. Put the frozen cold packs on the bottom, along the side walls of the insulated container and on top of the serum samples.

8. REAGENT PREPARATION

NOTE! It is very important to keep all ELISA kit components for at least 30 min at room temperature 18-25 °C before the assay!

8.1. Microplate preparation

To prevent water condensation in the wells, keep the **STRIPS** for 30 minutes at a room temperature before opening. Open the vacuum pack, detach the appropriate number of wells, and carefully pack the remaining wells with a desiccant and store tightly zip-locked at 2-8 °C. Storing the packed plate this way ensures its stability for 6 months.

8.2. Washing solution preparation

To prepare detergent, dilute **TWEEN|WASH|20x** at 1:20 (1+19) with distilled or deionized water and stir. E. g., 5 mL of concentrate + 95 mL of water, which is enough for 8 wells. If there are crystals present in the detergent concentrate, heat the vial at 37 °C until the crystals dissolve completely (15–20 minutes). Store the diluted solution at 2-8 °C for a maximum of 7 days.

9. ASSAY PROCEDURE

9.1. Prepare the necessary number of wells (four wells for controls and a necessary number of wells for test samples) and insert them into the ELISA plate frame. Be sure to add control wells in every test run.

9.2. Fill in the sample application plan.

9.3. Prepare the detergent as per para. 8.2.

9.4. Dispense 90 µl of **DIL|SAMPLE** into each well.

9.5. Add 10 µl of controls and test samples into the wells:

CONTROL|+ – into well A1,

CONTROL|- – into wells B1, C1, D1,

and test samples into the remaining wells.

At the time of adding, colour of the sample diluent changes from brown to blue. Pipette mixture in the wells gently, avoiding foaming.

- 9.6. Cover strips with an adhesive film and incubate for 30 min at 37°C.
- 9.7. Remove and discard the adhesive film and wash all wells 6 times with automatic washer or 8-channel pipette as follows:
- aspirate the content of all wells into a liquid waste container;
 - add a minimum of 300 µl of diluted washing solution to each well, soak each well for 30 seconds;
 - aspirate the content of all wells again. The residual volume after every aspiration should be less than 5 µl;
 - repeat the washing step 5 more times;
 - after the final aspiration, eliminate extra moisture by tapping the plate against a piece of filter paper.
- 9.8. Add 100 µl of [SOLN|CONJ] into all wells. Cover strips with a new adhesive film and incubate for 30 min at 37°C.
- 9.9. Remove and discard the adhesive film and wash all wells 5 times as described above in 9.7.
- 9.10. Add 100 µL of [SOLN|TMB] into the wells; do not touch the bottom and the walls of the plate wells.
- 9.11. Incubate the strips for 30 minutes in a dark place at a room temperature of 18-25 °C. Do not use adhesive film at this stage.
- 9.12. Add 100 µL of [SOLN|STOP] into each strip well to stop the enzymatic reaction; adhere to the same sequence of actions as when adding [SOLN|TMB]. At the time of adding, the solution colour changes from blue to yellow, and clear solution slightly changes its shade.
- 9.13. Measure the optical density (OD) of the wells at 450/620-695 nm wavelength using an ELISA microplate reader within 5 minutes after stopping the reaction. Pay attention to the cleanness of the plate bottom and the absence of bubbles in the wells before reading.

Measurement at the single wavelength of 450 nm is possible, in that case, it is needed to leave one well for blank (only [SOLN|TMB] and [SOLN|STOP] must be added in blank well).

10. CALCULATION AND INTERPRETATION OF RESULTS

10.1. Calculation of results

Calculate the average OD of the negative control ($\bar{Nc}$), Cut off (CO) and a sample positivity index (IP_{sample}).

$$\bar{Nc} = (Nc1 + Nc2 + Nc3)/3; \quad CO = \bar{Nc} + 0,25$$

$$IP_{sample} = OD_{sample} / CO, \text{ where } OD_{sample} \text{ is the OD sample}$$

10.2. Quality control (assay validation)

The test results are considered valid if they meet the following requirements:

CONTROL +	OD $\geq 1,5$
CONTROL -	OD $\leq 0,150$

CONTROL -	$\bar{Nc} \times 0,5 \leq Ncn \leq \bar{Nc} \times 2,0$	where Ncn is the OD for each Nc run
-----------	---	--

If any of the OD values for the negative control is beyond the above interval, it should be discarded, and $\bar{Nc}$ is calculated based on the remaining OD values for the negative control. If several OD values for the negative control fail to meet the above requirements, the test is considered invalid and requires a new run.

10.3. Interpretation of results

$IP_{sample} > 1,1$	POSITIVE
$0,9 \leq IP_{sample} \leq 1,1$	BORDERLINE*
$IP_{sample} < 0,9$	NEGATIVE

* Borderline samples are recommended to be tested again in two wells of the ELISA kit. If the results are again indeterminate, a new sample should be collected and analyzed after 7-14 days. In case of repeated reception of indeterminate results, such samples should be considered negative.

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical performance characteristics

Precision of measurement

Intra assay repeatability

The coefficient of variation (CV) for two sera with different levels of specific antibodies was evaluated in 44 replicates on one series of ELISA kits.

Sample No.	OD _{av}	IP _{av}	CV, %
269	2,186	7,7	5,6
809	0,387	1,4	8,6

Inter assay reproducibility

The coefficient of variation (CV) for two sera with different levels of specific antibodies was evaluated for 4 days in 4 sets of analysis, 8 replicates in each analysis.

Sample No.	OD _{av}	IP _{av}	CV, %
269	2,073	7,2	8,1
809	0,364	1,3	7,5

Analytical specificity

The test results are not affected by bilirubin at up to 0.21 mg/mL (361.8 μ mol/L), haemoglobin at up to 10 mg/mL and triglycerides at up to 10 mg/mL (11.3 mmol/l) present in the sample.

11.2. Diagnostic characteristics

To determine the sensitivity of the «EQUI *Borrelia burgdorferi* IgM» ELISA kit, we used serum samples that were characterized as positive by the Western blot method (59 samples), as well as samples of the commercial serum panel «Lyme Disease (Anti-*Borrelia burgdorferi*) Mixed Titer Performance Panel PTL202 (SeraCare Life Sciences, USA). According to the results of the analysis, the sensitivity of the ELISA kit was 96.9%. To assess the specificity, samples of donor blood sera (122 samples) and 212 samples of children's blood sera (334 samples in total) were used. The results of the determination of IgM antibodies to *Borrelia burgdorferi* obtained in the «EQUI *Borrelia burgdorferi* IgM» ELISA kit were compared with the results obtained in similar commercial tests. The relative specificity of the «EQUI *Borrelia burgdorferi* IgM» ELISA kit was 100.0%.

12. LIMITATIONS OF ASSAY

A positive result in the «EQUI *Borrelia burgdorferi* IgM» ELISA kit is evidence of the presence of IgM class antibodies in the patient, specific to *Borrelia burgdorferi* sensu lato, which are produced by the body when a person is infected with the causative agent of Lyme borreliosis.

It should be noted that in the case of early infection, the ELISA result may be negative due to the absence of antibodies at the initial stage of the disease. In the presence of clinical manifestations of the disease, it is recommended to conduct repeated testing after at least two weeks. A two- or three-fold increase in the level of antibodies indicates the activity of the infectious process.

The results obtained in immunosuppressed individuals should be interpreted with caution.

It is not possible to completely exclude false-positive results, which may be caused by the presence of specific antibodies in the blood in diseases caused by spirochetes (syphilis, typhus, leptospirosis, etc.).

To confirm a positive ELISA result, it is recommended to conduct an additional study of the sample for the presence of antibodies to individual *Borrelia burgdorferi* proteins by immunoblotting. However, the final diagnosis cannot be established only on the basis of serological test results. For the correct diagnosis of tick-borne borreliosis, research should also be conducted to identify the causative agent, for example, using PCR or cultural methods. When establishing a diagnosis, the results of a complex of laboratory and instrumental studies, as well as clinical manifestations of the disease, should be taken into account.

13. DIFFICULTIES THAT CAN OCCUR DURING THE ASSAY PROCEDURE

Possible reasons	Solution
High background in all wells	
Contaminated washer	Clean the washer head and rinse according to the instructions for use

Poor quality or contaminated water	Use purified water with specific resistance $\geq 10 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$
Use of poorly washed glassware	Use chemically clean utensils
Use of chlorinated disinfectants	Do not use chlorine disinfectants
Use of contaminated tips	Use new tips
Increased incubation times or change in the temperature conditions	Adhere to the incubation regime according to the instructions for use
<i>High background in a row of wells</i>	
Repeat application of TMB solution	TMB solution should be applied once
Contamination of the automatic pipette nozzle with conjugate solution	Clean the pipette and dial carefully liquid
Contamination of one of the washer's channel	Clean the flush channel, rinse washer
<i>Received OD of the positive control is below the border value</i>	
One of the reagents (conjugate solution or TMB solution) was not prepared in a correct way or was not added	Re-conduct ELISA, pay attention to the correctness of the introduction of these reagents
Reduced incubation times at any stage	Incubate according to instructions for use
<i>The colour density of the wells fails to meet the obtained optical density value</i>	
This may suggest that the optical beam has been displaced	Check the correct operation of the reader

14. TECHNICAL ASSISTANCE AND CUSTOMER SERVICE

In case of technical problems, you can obtain assistance by contacting the manufacturer.

REFERENCES

1. Bernard Q., Wang Z. et al. Interaction of primary mast cells with *Borrelia burgdorferi* (sensu stricto): role in transmission and dissemination in C57BL/6 mice // *Parasites & Vectors*. - 2017. - 10:313.
2. CDC. Lyme Disease // <https://www.cdc.gov/lyme/index.html>.
3. Cerar T., Strle F., Stupica D. et al. Differences in Genotype, Clinical Features, and Inflammatory Potential of *Borrelia burgdorferi* sensu stricto Strains from Europe and the United States // *Emerging Infectious Diseases*. - 2016. - Vol. 22(5). - P. 818-827.
4. Embers M. E., Hasenkampf N. R. et al. Dynamic Longitudinal Antibody Responses during *Borrelia burgdorferi* Infection and Antibiotic Treatment of Rhesus Macaques // *Clinical & Vaccine Immunology*. – 2012. – Vol. 19, No. 8. – P. 1218-1226.
5. Lantos P. M., Auwaerter P. G., Wormser G. P. A Systematic Review of *Borrelia burgdorferi* Morphologic Variants Does Not Support a Role in Chronic Lyme Disease // *Clinical Infectious Diseases*. - 2014. - Vol. 58(5). - P. 663–671.
6. Lyme Borreliosis (Lyme disease). In: *International travel and health*. Geneva: World Health Organization; 2014 (<http://www.who.int/ith/diseases/lyme/en/>).
7. Tilly K., Rosa P. A. and Stewart P. E. Biology of Infection with *Borrelia burgdorferi* // *Infectious Disease Clinics of North America*. - 2008. - Vol. 22(2). - P. 217–234.
8. Shapiro E. D. *Borrelia burgdorferi* (Lyme Disease) // *Pediatrics in Review*. - 2014. - Vol. 35(12). - P. 500–509.
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.
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.



Manufacturer



In vitro diagnostic medical device



Catalogue number



Date of manufacture



Use by date



Batch code



Temperature limit



Contains sufficient for <n> tests



Caution



Consult instructions for use



Keep away from sunlight



Mark of compliance with technical regulations

Edition 7, 14.11.2022

For questions and suggestions regarding the ELISA kit contact:



Ekvittestlab LLC

Velyka Vasylkivska St. 114, Kyiv, Ukraine, 03150

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

e-mail: info@equitest.com.ua, www.equitest.com.ua

ASSAY PROCEDURE SCHEME

Keep all reagents for 30 min at temperature 18-25°C before use

Dispense 90 µl [DIL][SAMPLE] into the wells
(brown)

Add to 10 µl of controls and samples into the wells:
A1 – [CONTROL][+], B1, C1, D1 – [CONTROL][-],
other wells – examined samples
(change of colour from brown to blue)

Cover strips with an adhesive film, incubate for **30 min at 37°C**

Rinse the wells 5 times with prepared 1:20 (1+19) washing solution TWEEN
(300 µl per well)

Add 100 µl of [SOLN][CONJ] into all wells
(green)

Cover strips with an adhesive film, incubate for **30 min at 37°C**

Rinse the wells 5 times with prepared 1:20 (1+19) washing solution TWEEN
(300 µl per well)

Add 100 µl of [SOLN][TMB] into all wells

Incubate for **30 min** in the dark at **18-25°C**

Add 100 µl of [SOLN][STOP] into all wells
(change of colour from blue to yellow)

Measure the optical density (OD) with an ELISA microplate reader at
450/620-695 nm

CALCULATION OF RESULTS

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

$$CO = \overline{Nc} + 0,25;$$

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

Nc - the average value of OD 3-x [CONTROL][-]

CO - Cut off

IP_{sample} - sample positivity index

INTERPRETATION OF RESULTS

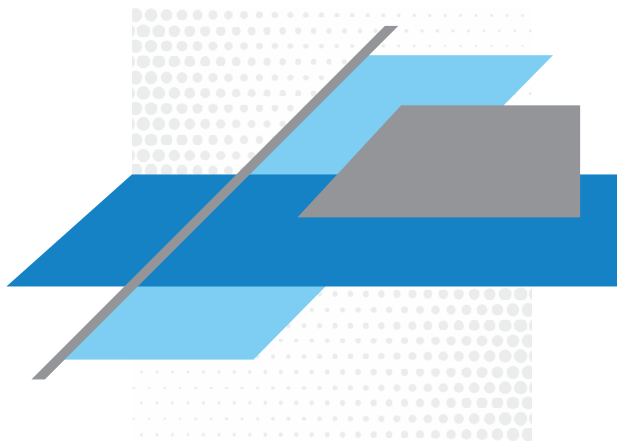
$IP_{sample} > 1,1$	POSITIVE
$0,9 \leq IP_{sample} \leq 1,1$	BORDERLINE
$IP_{sample} < 0,9$	NEGATIVE



Chlamydia trachomatis IgA

ИФА-набор для качественного и полуколичественного
обнаружения антител класса IgA к *Chlamydia trachomatis*

Инструкция по применению



IVD

REF
EI-103

Σ 96
анализов


UA.TR.061

EQUI *Chlamydia trachomatis* IgA

ИФА-набор для качественного и полуколичественного обнаружения антител класса IgA к *Chlamydia trachomatis*

1. НАЗНАЧЕНИЕ

ИФА-набор «EQUI *Chlamydia trachomatis* IgA» предназначен для качественного и полуколичественного обнаружения антител класса IgA к *Chlamydia trachomatis* в сыворотке или плазме крови человека методом иммуноферментного анализа (ИФА) с целью диагностики урогенитального хламидиоза. Процедура анализа рассчитана как для ручной постановки с автоматическими пипетками и стандартным оборудованием, так и для автоматического иммуноферментного анализатора «открытого» типа.

Целевая группа: женщины и мужчины репродуктивного возраста, бесплодные пары, пациенты с заболеваниями мочеполовой системы.

Применение: ИФА-набор применяется в клинических диагностических лабораториях и других учреждениях, работающих в области *in vitro* диагностики.

2. КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Среди бактериальных заболеваний, передающихся половым путем, наиболее распространенным в мире называют урогенитальный хламидиоз. Этиологическим агентом урогенитального хламидиоза являются *Chlamydia trachomatis* – мелкие (250-300 nm) грамотрицательные коковидные бактерии, паразитирующие внутри клеток. Особенностью хламидий является их жизненный цикл, заключающийся в поочередном изменении неинфекционных внутриклеточных форм (больших ретикулярных телец) и инфекционных внеклеточных (мелких элементарных телец).

Из-за особенностей жизненного цикла *Chlamydia trachomatis* для лабораторной диагностики хламидиоза чаще всего используют метод ПЦР (для прямого обнаружения возбудителя) и серологический метод (особенно ИФА для выявления специфических антител к хламидиям). Другие методы имеют более низкую информативность (например, чувствительность микроскопического анализа мазка/соскреба и реакции иммунофлюоресценции оценивают в 15–50%) или большую трудоемкость (как культуральный метод, дополнительно позволяет определить чувствительность бактерий к антибиотикам). Наиболее чувствительный и специфический (до 100%) при обнаружении инфекции, вызванной *Chlamydia trachomatis*, метод ПЦР, но его результат зависит от способа забора и хранения материала для анализа. Благодаря выявлению специфических иммуноглобулинов IgM, IgA и IgG можно дифференцировать первичный, острый, хронический и перенесенный хламидиоз. Однако следует иметь в виду, что некоторые методы не могут исключать перекрестные реакции с антителами к другим видам хламидий, способным инфицировать человека (*Chlamydia psittaci* и *Chlamydia pneumoniae*).

На первой-второй неделе после инфицирования начинают синтезироваться и выявляться IgM и IgA антитела к антигенам хламидий в крови или секретах организма. Они свидетельствуют об остром заболевании при первичной инфекции, а IgA также обнаруживаются при реинфекции или реактивации хламидиоза. Еще через неделю начинают проявляться антитела IgG, специфичные к *Chlamydia trachomatis*; высокие титры этих антител могут являться признаком хронической хламидийной инфекции. Снижение уровня специфических IgA в два-три раза считается свидетельством эффективной терапии. Антитела к хламидийному hsp60 могут являться признаком наличия длительной инфекции и развития аутоиммунных процессов. Специфические к *Chlamydia trachomatis* иммуноглобулины IgG даже после лечения сохраняются в крови и могут проявляться в невысоких титрах годами, поэтому их нельзя рассматривать как показания хламидийной инфекции без оценки других маркеров. Вместе с тем наличие специфических антител не обеспечивает защиты против повторного инфицирования *Chlamydia trachomatis*.

3. ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Выявление антител класса IgA, специфичных к *Chlamydia trachomatis*, в ИФА-наборе «EQUI Chlamydia trachomatis IgA» основано на принципе «непрямого» твердофазного ИФА в двухэтапной инкубации. В лунках планшета засорбированы рекомбинантные антигены *Chlamydia trachomatis*. Во время первого этапа инкубации исследуемых образцов в лунках планшета ИФА специфичны к *Chlamydia trachomatis* 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 конъюгат антивидовых анти-IgA моноклональных антител с пероксидазой хрена, которые связываются с иммунными комплексами на твердой фазе. Несвязанные компоненты удаляются при отмывании. Комплексы антиген-антитело 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 антител в образце.

4. МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

4.1. Состав набора

STRIPS

1 x 96
лунок

Планшет ИФА

В каждой лунке планшета засорбированы рекомбинантные антигены *Chlamydia trachomatis*. Лунки можно отделять. После первого открытия храните неиспользованные стрипы в упаковке при температуре 2-8°C не более 6 месяцев

CONTROL IgA +	1 x 0,8 ml	Позитивный контроль IgA Раствор конъюгированных специфических моноклональных антител с консервантом (розовый). Хранить при температуре 2-8°C
CONTROL -	1 x 1,9 ml	Негативный контроль Негативная сыворотка крови человека с консервантом (желтый). Хранить при температуре 2-8°C
DIL SAMPLE	1 x 11 ml	Раствор для разведения сывороток Буферный раствор с экстрактом молока, детергентом и консервантом (коричневый). Хранить при температуре 2-8°C
SOLN CONJ IgA	1 x 13 ml	Раствор конъюгата анти-IgA (готов к использованию) Буферный раствор моноклональных антител к IgA человека, конъюгированный с пероксидазой хрена, со стабилизаторами и консервантом (оранжевый). Хранить при температуре 2-8°C
SOLN TMB	1 x 13 ml	Раствор ТМБ (готов к использованию) Раствор ТМБ, H ₂ O ₂ , стабилизатор, консервант (бесцветный). Хранить при температуре 2-8°C
TRITON WASH 20x	1 x 50 ml	Раствор для промывки TRITON (20x концентрат) 20-кратный концентрат фосфатного буфера с Тритоном X-100 (бесцветный). Развести раствор для промывки TRITON (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
SOLN STOP	1 x 13 ml	Стоп-раствор (готов к использованию) Раствор 0,5 mol H ₂ SO ₄ (бесцветный). Хранить при температуре 2-8°C

В состав набора 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, 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 Chlamydia trachomatis IgA»;
- 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;
- и в коем случае не используйте одну и ту же посуду для [SOLN|CONJ|IgA] 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 Chlamydia trachomatis IgA» протестированы и признаны негативными на HBsAg и антитела к ВИЧ1/2, ВГС, *Treponema pallidum*, однако обращаться с контролями 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 [SOLN|CONJ|IgA] 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, затем вытереть досуха фильтровальной бумагой. В противном случае кислоту сначала нужно 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 промывочного раствора разведите **TRITON|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 40 µl контролей и исследуемых образцов:

CONTROL|IgA|+ – в лунку A1,

CONTROL|– – в лунки B1, C1, D1,

в остальные лунки – исследуемые образцы.

При внесении 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 пять раз;
- после последней аспирации избавьтесь от лишней влаги, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге.

9.8. Внесите в лунки по 100 µl **SOLN|CONJ|IgA**. Стрипы накройте новой клейкой пленкой и инкубируйте в течение 30 минут при 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 µl **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 µl **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 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) и индекс позитивности образца (IP_{sample}).

$$\bar{Nc} = (Nc1 + Nc2 + Nc3)/3; \quad CO = \bar{Nc} + 0,25$$

$$IP_{sample} = OD_{sample}/CO, \text{ где } OD_{sample} - \text{ОП образца}$$

10.2. Контроль достоверности результатов анализа

Данные теста считаются достоверными, если они отвечают следующим требованиям:

$$\boxed{\text{CONTROL}} | \boxed{\text{IgA}} | + \quad \text{ОП} \geq 1,5$$

$$\boxed{\text{CONTROL}} | - \quad \text{ОП} \leq 0,150$$

$$\boxed{\text{CONTROL}} | - \quad \bar{Nc} \times 0,5 \leq Ncn \leq \bar{Nc} \times 2,0 \quad \text{где } Ncn - \text{ОП каждого повтора } Nc$$

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

$$\begin{array}{ll} IP_{sample} > 1,1 & \text{ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ} \\ 0,9 \leq IP_{sample} \leq 1,1 & \text{НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ*} \\ IP_{sample} < 0,9 & \text{ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ} \end{array}$$

* Неопределенные образцы рекомендуется исследовать повторно в двух лунках набора ИФА. Если результаты снова будут в пределах неопределенных, следует провести отбор и анализ нового образца через 2-4 недели. В случае повторного получения неопределенных результатов такие образцы считать отрицательными.

Использование индекса позитивности позволяет проводить полуколичественный сравнительный анализ уровня специфических антител в динамике в парных образцах, полученных от пациентов с интервалом в 2-4 недели. При этом следует учитывать, что IP_{sample} в пределах 1,1 – 7,0 пропорционален содержанию специфических антител. Если IP_{sample} составляет выше 7,0, для корректной оценки содержания специфических антител рекомендуется провести повторный анализ образца предварительно разбавленного в 10 раз $\boxed{\text{DIL}} | \boxed{\text{SAMPLE}} |$. При определении конечного результата в таком случае следует умножить полученное значение IP_{sample} на степень разведения ($\times 10$).

Интерпретация результатов обнаружения антител к *Chlamydia trachomatis*

Наличие специфических антител к <i>Chlamydia trachomatis</i>			Интерпретация результата
IgG	IgA	IgM	
Отсутствуют	Отсутствуют	Отсутствуют	Образец не содержит специфических антител или их концентрация ниже предела чувствительности анализа
Отсутствуют	Определяются	Определяются	Вероятна ранняя стадия инфекции
Определяются	Отсутствуют	Отсутствуют	Вероятная перенесенная инфекция
Определяются	Определяются	Определяются	Острая инфекция
Определяются	Определяются	Отсутствуют	Острая или хроническая инфекция

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 разным уровнем специфических антител и разным индексом позитивности оценивали в 16 повторах одной серии ИФА-наборов.

№ сыворотки	ОП _{ср}	IP _{ср}	CV, %
283	0,848	2,7	4,4
262	1,380	4,5	4,8

Воспроизводимость результатов между разными постановками анализа (Inter assay reproducibility)

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

№ сыворотки	ОП _{ср}	IP _{ср}	CV, %
283	0,854	2,8	5,4
262	1,416	4,6	5,4

Аналитическая специфичность

На результат анализа не влияет наличие 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).

В результате проведенных исследований не выявлено перекрестных реакций с антителами класса IgG к *Chlamydia pneumoniae*, *Helicobacter pylori*, *Toxoplasma gondii*, вирусам краснухи, Эпштейну-Барр, простому герпесу 1 и 2 типа и цитомегаловируса. Также не выявлено влияния на результат анализа ревматоидного фактора в образцах до концентрации 1390 IU/мл (МЕ/мл). Результат анализа, полученный для каждого образца, сравнивали с результатом, полученным в коммерческом наборе, имеющем СЕ-

маркировку, и рассчитывали относительную специфичность ИФА-наборов «EQUI Chlamydia trachomatis IgG».

11.2. Диагностические характеристики

Для определения клинической чувствительности и специфичности ИФА-наборов «EQUI Chlamydia trachomatis IgA» использовали 37 образцов сывороток, полученных от пациентов с клиническими симптомами, характерными для урогенитального хламидиоза, и 43 образца сывороток клинически здоровых пациентов. Также были проверены Стандартные панели сывороток, содержащие и не содержащие видоспецифические IgA к *Chlamydia trachomatis* «Стандарт АТ-А(+/-) *C. trachomatis* (ОСО 42-28-344-01)» серий 005 и 1216/1 (производства ЗАО «МБС») – по 12 положительных и 18 отрицательных сывороток в каждом наборе. Клиническая чувствительность ИФА-наборов «EQUI Chlamydia trachomatis IgA» составляла 90,2%, клиническая специфичность – 98,7%.

Исследование характеристик метода по сравнению с аналогичной коммерческой тест-системой проводилось на целевой группе беременных женщин (202 образца) и выборке доноров (270 образцов). Для выборки беременных относительная специфичность ИФА-наборов «EQUI Chlamydia trachomatis IgA» составляла 97,42%, а процент совпадения – 97,5%. Для выборки доноров эти показатели составили 98,4% и 97,68% соответственно. Распространенность в популяции данного серологического маркера хламидийной инфекции составила 3% для выборки беременных и 3,47% для выборки доноров, что полностью соответствует литературным данным.

Позитивная прогностическая ценность (PPV) ИФА-набора «EQUI Chlamydia trachomatis IgA» составляет 98,2%, негативная прогностическая ценность (NPV) – 92,9%.

12. ОГРАНИЧЕНИЕ АНАЛИЗА

Положительный результат в ИФА-наборе «EQUI Chlamydia trachomatis IgA» является свидетельством наличия у пациента антител класса IgA, специфичных к *Chlamydia trachomatis*, продуцируемых организмом при инфицировании возбудителем урогенитального хламидиоза.

Следует заметить, что в случае ранней хламидийной инфекции результат ИФА может быть отрицательным из-за отсутствия антител на начальной стадии болезни. При наличии клинических проявлений заболевания рекомендуется провести повторное тестирование не менее чем через две недели, а также исследовать образец пациента на специфические антитела класса IgM (например, с использованием набора ИФА «EQUI Chlamydia trachomatis IgM»).

Для корректной диагностики хламидиоза также следует определить уровень специфических к *Chlamydia trachomatis* антител в парных сыворотках, полученных с интервалом забора крови не менее двух недель. Двух-трехкратное повышение уровня антител свидетельствует об активности инфекционного процесса. Кроме того, рекомендуется провести исследования по выявлению хламидий культуральным методом

(посев), с помощью ПЦР, РИФ или микроскопического анализа мазка/соскоба. Для постановки диагноза следует учитывать как результаты лабораторных исследований, так и клинические проявления заболевания.

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. Byrne G.I. Chlamydia trachomatis Strains and Virulence: Rethinking Links to Infection Prevalence and Disease Severity // The Journal of Infectious Diseases. - 2010. - Vol.201 (2). - P. S126–S133.
2. CDC. Screening tests to detect Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae infections // Morbidity and Mortality Weekly Report. - 2002. - Vol.51, No.RR-15. - 38 p.
3. Domeika K., Brade L. et al. Characterization of serum antibody response to chlamydiae in patients with sexually acquired reactive arthritis // Pathogens and Disease. - 1997. - Vol. 19(3). - P. 191–202.
4. Idahl A., Boman J., Kumlin U., Olofsson J.I. Demonstration of Chlamydia trachomatis IgG antibodies in the male partner of the infertile couple is correlated with a reduced likelihood of achieving pregnancy // Human Reproduction. - 2004. - Vol.19 (5). - P. 1121–1126.
5. Ismail M.K. and Ali A.S. Evaluation of Chlamydia Trachomatis Antibodies In Women with Infertility // Al-Mustansiriyah Journal of Science. - 2012. - Vol. 23, No 3. - P. 21–28.
6. Keegan M.B., Diedrich J.T. and Peipert J.F. Chlamydia trachomatis Infection: Screening and Management // Journal of Clinical Outcomes Management. - 2014. - Vol.21 (1). - P. 30–38.
7. Vasilevsky S., Greub G., Nardelli-Haeffliger D. and Bauda D. Genital Chlamydia trachomatis: Understanding the Roles of Innate and Adaptive Immunity in Vaccine Research // Clinical Microbiology Reviews. - 2014. - Vol. 27, No. 2. - P. 346–370.
8. Witkin S.S. Immunological aspects of genital chlamydia infections // Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology - 2002. - Vol. 16. - P. 865–874.
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.
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 13.12.2021г.

С вопросами и пожеланиями по работе набора обращайтесь к производителю:



ООО «Эквипестлаб»

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, 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 40 µl контролей и исследуемых образцов в лунки:
A1 – **[CONTROL|IgA|+]**, 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) промывным раствором TRITON (300 µl в лунку)

В лунки стрипов внести по 100 µl **[SOLN|CONJ|IgA]**
(оранжевый цвет)

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

Промыть лунки 5 раз приготовленным 1:20 (1+19) промывным раствором TRITON (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)

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

УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

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

$$CO = \overline{Nc} + 0,25;$$

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

Nc - Среднее значение ОП 3-х **[CONTROL|–]**

CO - Уровень граничного значения (Cut off)

IP_{sample} - Индекс позитивности образца

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

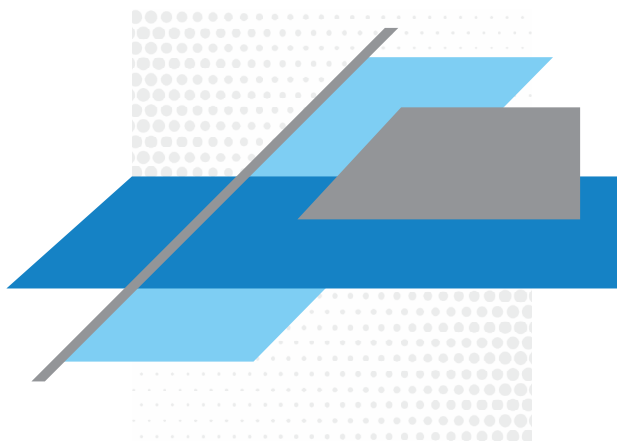
$IP_{sample} > 1,1$	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ
$0,9 \leq IP_{sample} \leq 1,1$	НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ
$IP_{sample} < 0,9$	ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ



Chlamydia trachomatis IgG

ELISA kit for the qualitative and semiquantitative detection
of IgG antibodies to *Chlamydia trachomatis*

Instructions for use



IVD

REF

EI-102



96

tests



UA.TR.061

EQUI *Chlamydia trachomatis* IgG

ELISA kit for the qualitative and semiquantitative detection of IgG antibodies to *Chlamydia trachomatis*

1. INTENDED USE

EQUI *Chlamydia trachomatis* IgG ELISA is a kit intended to qualitatively and semi-quantitatively detect anti-*Chlamydia trachomatis* IgG in human serum or plasma by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in order to diagnose urogenital chlamydiosis. The testing procedure is designed for both manual arrangement with automatic pipettes and standard equipment, and for automated open immunoassay analysers.

Testing population: females and males of reproductive age, infertile couples, patients with genitourinary disorders.

Usage: ELISA kit is used in clinical diagnostic laboratories and other institutions engaged in *in vitro* diagnostics.

2. CLINICAL SIGNIFICANCE

Among sexually transmitted bacterial diseases, urogenital chlamydiosis is considered as the most common all over the world. Aetiological agent of urogenital chlamydiosis is *Chlamydia trachomatis* — small (250–300 nm) Gram-negative bacteria parasitizing in the cell. Special trait of chlamydia is their life cycle which involves alternate rotation of non-infectious intracellular forms (large reticular bodies) and infectious extracellular forms (small elementary bodies).

Due to the peculiarities of the life cycle of *C. trachomatis*, laboratory diagnosis often involves PCR method (for direct detection of the causative agent) and serological method (especially ELISA to detect specific anti-chlamydia antibodies). Other methods are less informative (e.g. sensitivity of microscopic assay of the smear/scraping and immunofluorescence test is evaluated as 15–50 %) or trickier (such as cultural method which allows further measurement of bacterial sensitivity to antibiotics). PCR is the most sensitive and specific (up to 100 %) when detecting *C. trachomatis*-induced infection. However, its result depends on the method of sampling and storage of the material for the test. Due to the detection of specific IgM, IgA and IgG, it is possible to differentiate primary, acute, chronic and previous chlamydiosis. However, it should be considered that some methods may not exclude cross-reactions with antibodies to other species of chlamydia that can infect a man (*Chlamydia psittaci* and *Chlamydia pneumoniae*).

Anti-chlamydia IgM and IgA starts to synthesise, and can be detected at the 1 to 2 week after infection in the blood or body secretions. They confirm acute disease in primary infection, and IgA is detected in re-infection or reactivation of chlamydiosis. A week later, anti-*C. trachomatis* specific IgG antibodies can be detected; high titres of these antibodies may be a sign of chronic chlamydial infection. Two- to three-fold reduction in the level of specific IgA confirms treatment efficacy. Antibodies to chlamydial hsp60 may be the sign of long-term infection and development of autoimmune processes. Even after treatment, anti-*C. trachomatis* specific IgG persist in the blood and their low titres may be detected for years. Thus, they cannot be considered as chlamydial infection without evaluation of other markers. At the same time, presence of these specific antibodies does not provide protection against *C. trachomatis* re-infection.

3. PRINCIPLE OF THE TEST

The procedure of testing for anti-*Chlamydia trachomatis* specific IgG in EQUI *Chlamydia trachomatis* IgG ELISA kit is based on "indirect" solid-phase ELISA with a two-stage incubation. Recombinant antigens of *Chlamydia trachomatis* are entrapped in the wells. During the first step of incubation of ELISA plate wells with test samples, specific anti-*Chlamydia trachomatis* antibodies (if present in the samples) bind to the solid-phase antigens. The wells are washed to remove unbound antibodies and have only specific antigen-antibody complexes left. Then, a conjugate of anti-species IgG monoclonal antibodies with horseradish peroxidase is

added, which binds to solid-phase immune complexes. Unbound components are removed by washing. Antigen-antibody complexes are detected by adding a solution of chromogen 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB) with hydrogen peroxide. After 30-minute incubation, the reaction is stopped by adding the stop solution. The optical density (OD) in the wells is determined using a spectrophotometer at 450/620-695 nm. The intensity of the yellow colour is proportional to the level of antibodies in the sample.

4. MATERIALS AND EQUIPMENT

4.1. Contents of the ELISA kit

STRIPS	1 x 96 wells	Microplate
		Each plate well is coated with <i>Chlamydia trachomatis</i> recombinant antigens. The wells are detachable. After the first opening, store unused strips in the package at 2-8 °C for a maximum of 6 months
CONTROL IgG +	1 x 0,8 ml	Positive control IgG
		Conjugated specific monoclonal antibody solution with preservative (pink). Store at 2-8 °C
CONTROL -	1 x 1,9 ml	Negative control
		Negative human serum with a preservative (yellow). Store at 2-8 °C
DIL SAMPLE	1 x 11 ml	Serum dilution solution
		Buffer solution with a milk extract, a detergent and a preservative (brown). Store at 2-8 °C
SOLN CONJ IgG	1 x 13 ml	Conjugate solution anti-IgG (ready to use)
		Buffer solution of monoclonal antibodies to human IgG, conjugated with horseradish peroxidase, with stabilizers and preservative (green). Store at 2-8 °C
SOLN TMB	1 x 13 ml	TMB solution (ready to use)
		TMB solution, H ₂ O ₂ , a stabilizer, a preservative (colourless). Store at 2-8 °C
TRITON WASH 20x	1 x 50 ml	Washing solution TRITON (20x concentrated)
		20-fold phosphate buffer concentrate with Triton X-100 (colourless). Dilute TRITON detergent (20x) at 1:20 with distilled or deionized water (e. g., 5 mL of concentrate + 95 mL of water for 8 wells) before use. Store the diluted solution at 2-8 °C for a maximum of 7 days
SOLN STOP	1 x 13 ml	Stop Solution (ready to use)
		0.5 mol H ₂ SO ₄ solution (colourless). Store at 2-8 °C

The ELISA kit also includes adhesive films (2 items), sample application plan (1 item), checklist, and instruction for use.

4.2. Optional reagents, materials and equipment

Automatic single and multichannel pipettes 10–1000 µL, tips, volumetric laboratory glassware (10–1,000 mL), deionized or distilled water, thermostat at 37 °C, automatic or semi-automatic plate washer, spectrophotometer (reader) for microplates at 450/620-695 nm, appropriate containers for potentially contaminated waste, timer, filter paper, disposable powder-free gloves, disinfectants.

5. PRECAUTIONS AND SAFETY

5.1. Precautions

Be sure to read the instructions for use carefully before the test. The validity of the test results depends on strict following of the test procedure.

- do not use the ELISA kit components after the expiry date;
- do not use for analysis or mix components of different batches, components of kits for different nosologies, or reagents from other manufacturers with the EQUI Chlamydia trachomatis IgG ELISA kit;
- do not freeze the ELISA kit or its contents;
- after using a reagent, close each vial with its cap;
- when washing, control filling and complete aspiration of solution from the wells;
- use a new pipette tip each time you add samples or reagents;
- prevent direct sunlight from reaching the reagents from the ELISA kit;
- [SOLN|TMB] solution must be colourless before use. Do not use the solution if its colour is blue or yellow. Avoid contact of [SOLN|TMB] with metals or metal ions. Use only clean glassware thoroughly rinsed with distilled water;
- do not use reagents with colour not in line with para. 4.1;
- under no circumstances should the same glassware be used for [SOLN|CONJ|IgG] and [SOLN|TMB].
- do not evaluate the test results visually (without a reader);
- any optional equipment that is in direct contact with biological material or kit components should be considered contaminated and requires cleaning and decontamination;
- the ELISA kit includes materials for 96 tests. Dispose of the used components as well as any remaining unused components.

5.2. Safety requirements

- all reagents in the ELISA kit are for laboratory professional use for *in vitro* diagnosis only and may only be used by qualified personnel;
- conduct the tests in disposable powder-free gloves and goggles only;
- do not eat, drink, smoke, or apply make-up in the test room;
- do not mouth-pipette the solutions;
- controls from the EQUI Chlamydia trachomatis IgG ELISA kit have been tested and found to be for anti-HIV1/2, anti-HCV and anti-*Treponema pallidum* antibodies and HBsAg negative; however, controls and test samples should be handled as potentially hazardous infectious materials;
- some of the kit components contain low concentrations of harmful substances and can damage skin or mucosa. In case of contact of [SOLN|TMB], [SOLN|STOP] and [SOLN|CONJ|IgG] with mucous membranes or skin, immediately wash the affected area with plenty of water;
- in case of spillage of acid-free solutions, e. g. sera, treat the surface with a disinfectant solution and then wipe dry with filter paper. Otherwise first neutralize acid with sodium bicarbonate solution and then wipe the surface dry as described above.

5.3. Waste inactivation and disposal

- the liquid waste must be inactivated, for example, with hydrogen peroxide solution at the final concentration of 6% for 3 hours at room temperature, or with sodium hypochlorite at the final concentration of 5% for 30 minutes, or with other approved disinfectants;

- the solid waste must be inactivated by autoclaving at a temperature not less than 132°C;
- do not autoclave the solutions that contain sodium azide or sodium hypochlorite;
- disposal of inactivated waste must be conducted due to national laws and regulations.

6. STORAGE AND STABILITY

ELISA kit is stable up to the expiry date stated on the label when stored at 2-8°C. The kit should be transported at 2-8°C. Single transportation at a temperature up to 23°C for two days is possible.

7. SAMPLE COLLECTION, TRANSPORTATION AND STORAGE GUIDELINES

Collect blood from the vein into the sterile test tube. Test tube must be marked with patient ID and date of sample collecting. Blood before serum separation can be stored at 2-8 °C for 24 hours, avoiding freezing.

Serum or plasma can be stored at 2-8 °C for maximum 3 days. Frozen serum can be stored for longer periods of time at -20 °C or -70 °C. Thaw frozen samples and keep them at room temperature for 30 minutes before use. After thawing, the stir samples to achieve homogeneity. Avoid repeated freezing-thawing cycles for test samples. If serum (or plasma) is turbid, remove insoluble inclusions by centrifugation at 3000 rpm for 10-15 minutes. Do not use serum samples with hyperlipidemia, hemolysis, and bacterial growth.

Transport serum samples in insulated containers. To do that, put closed labelled tubes in a plastic bag, tightly seal it and place in the centre of an insulated container. Put the frozen cold packs on the bottom, along the side walls of the insulated container and on top of the serum samples.

8. REAGENT PREPARATION

NOTE! It is very important to keep all ELISA kit components for at least 30 min at room temperature 18-25 °C before the assay!

8.1. Microplate preparation

To prevent water condensation in the wells, keep the **STRIPS** for 30 minutes at a room temperature before opening. Open the vacuum pack, detach the appropriate number of wells, and carefully pack the remaining wells with a desiccant and store tightly zip-locked at 2-8 °C. Storing the packed plate this way ensures its stability for 6 months.

8.2. Washing solution preparation

To prepare detergent, dilute **TRITON|WASH|20x** at 1:20 (1+19) with distilled or deionized water and stir. E. g., 5 mL of concentrate + 95 mL of water, which is enough for 8 wells. If there are crystals present in the detergent concentrate, heat the vial at 37 °C until the crystals dissolve completely (15–20 minutes). Store the diluted solution at 2-8 °C for a maximum of 7 days.

9. ASSAY PROCEDURE

- 9.1. Prepare the necessary number of wells (four wells for controls and a necessary number of wells for test samples) and insert them into the ELISA plate frame. Be sure to add control wells in every test run.
- 9.2. Fill in the sample application plan.
- 9.3. Prepare the detergent as per para. 8.2.
- 9.4. Add 80 µL of **DIL|SAMPLE** into each plate well.
- 9.5. Add 40 µL of controls and test samples into the wells:

CONTROL|IgG|+ – into well A1,

CONTROL|– – into wells B1, C1 and D1,

and test samples into the remaining wells.

At the time of adding, the solution changes its colour from brown to blue. Pipette the mix in the wells carefully to avoid foaming.

- 9.6. Stick the strips up with adhesive film and incubate for **30 minutes at 37 °C**.
- 9.7. Remove and discard the adhesive film and wash all wells 5 times with automatic washer or 8-channel pipette as follows:
- aspirate the content of all wells into a liquid waste container;
 - add a minimum of 300 µl of diluted washing solution to each well, soak each well for 30 seconds;
 - aspirate the content of all wells again. The residual volume after every aspiration should be less than 5 µl;
 - repeat the washing step 4 more times;
 - after the final aspiration, eliminate extra moisture by tapping the plate against a piece of filter paper.
- 9.8. Add 100 µL of **SOLN|CONJ|IgG** into each well. Cover the strips with a new piece of adhesive film and incubate for **30 minutes at 37°C**.
- 9.9. Following incubation, remove the film carefully and wash the wells five times as described in para. 9.7.
- 9.10. Add 100 µL of **SOLN|TMB** into the wells; do not touch the bottom and the walls of the plate wells.
- 9.11. Incubate the strips for **30 minutes** in a dark place at a room temperature of 18-25 °C. Do not use adhesive film at this stage.
- 9.12. Add 100 µL of **SOLN|STOP** into each strip well to stop the enzymatic reaction; adhere to the same sequence of actions as when adding **SOLN|TMB**. At the time of adding, the solution colour changes from blue to yellow, and clear solution slightly changes its shade.
- 9.13. Measure the optical density (OD) of the wells at 450/620-695 nm wavelength using an ELISA microplate reader within 5 minutes after stopping the reaction. Pay attention to the cleanness of the plate bottom and the absence of bubbles in the wells before reading.

*Measurement at the single wavelength of 450 nm is possible, in that case, it is needed to leave one well for blank (only **SOLN|TMB** and **SOLN|STOP** must be added in blank well).*

10. CALCULATION AND INTERPRETATION OF RESULTS

10.1. Calculation of results

Calculate the average OD for the negative control ($\overline{NC}$), Cut off (CO) and a sample positivity index (IP_{sample}).

$$\overline{NC} = (NC_1 + NC_2 + NC_3)/3; \quad CO = \overline{NC} + 0,25$$

$$IP_{sample} = OD_{sample} / CO, \text{ where } OD_{sample} \text{ is the OD sample.}$$

10.2. Quality control (assay validation)

The test results are considered valid if they meet the following requirements:

$$\text{CONTROL|IgG|+} \quad OD \geq 1,5$$

$$\text{CONTROL|–} \quad OD \leq 0,150$$

$$\text{CONTROL|–} \quad \overline{NC} \times 0,5 \leq NC_n \leq \overline{NC} \times 2,0 \quad \text{where } NC_n \text{ is the OD for each } NC \text{ run}$$

If any of the OD values for the negative control is beyond the above interval, it should be discarded, and $\overline{NC}$ is calculated based on the remaining OD values for the negative control. If several OD values for the negative control fail to meet the above requirements, the test is considered invalid and requires a new run.

10.3. Interpretation of results

$IP_{sample} > 1,1$	POSITIVE
$0,9 \leq IP_{sample} \leq 1,1$	BORDERLINE*
$IP_{sample} < 0,9$	NEGATIVE

* Uncertain samples are recommended to be re-examined in two wells of the ELISA kit. If the results are again uncertain, a new sample should be selected and analyzed in 2-4 weeks. In case of repeated indeterminate results, such samples shall be considered negative.

Use of the positivity index allows for a semi-quantitative comparative analysis of the level of specific antibodies in the dynamics of paired samples obtained from patients with an interval of 2-4 weeks. It should be borne in mind that IP_{sample} within 1,1 – 7,0 proportional to the content of specific antibodies. If IP_{sample} is higher 7,0, to correctly assess the content of specific antibodies, it is recommended to re-analyze the sample previously diluted 10 times [DIL SAMPLE]. When determining the final result in this case, multiply the value obtained IP_{sample} on the degree of dilution (x10).

Interpretation of antibody detection results to *Chlamydia trachomatis*

The presence of specific antibodies to <i>Chlamydia trachomatis</i>			Interpretation of the result
IgG	IgA	IgM	
Missing	Missing	Missing	Sample does not contain specific antibodies or their concentration is below the sensitivity limit of the analysis
Missing	It turns out	It turns out	Probable early stage of infection
It turns out	Missing	Missing	Probable infection
It turns out	It turns out	It turns out	Acute infection
It turns out	It turns out	Missing	Acute or chronic infection

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical performance characteristics

Precision of measurement

Intra assay repeatability

The coefficient of variation (CV) for three sera with different levels of specific antibodies was evaluated in 32 replicates on one series of ELISA kits.

Sample No.	OD _{av}	IP _{av}	CV, %
25	0,843	3,1	2,8
662	1,885	6,9	3,1
274	2,331	8,5	3,2

Inter assay reproducibility

The coefficient of variation (CV) for three sera with different levels of specific antibodies was evaluated for 4 days in 4 sets of analysis, 8 replicates in each analysis.

Sample No.	OD _{av}	IP _{av}	CV, %
25	0,864	3,1	5,2
662	1,840	6,7	4,8
274	2,394	8,7	4,1

Analytical specificity

The test results are not affected by bilirubin at up to 0.21 mg/mL (361.8 µmol/L), haemoglobin at up to 10 mg/mL and triglycerides at up to 10 mg/mL (11.3 mmol/l) present in the sample.

The studies did not reveal cross-reactions with IgG antibodies to *Chlamydia pneumoniae*, *Helicobacter pylori*, *Toxoplasma gondii*, rubella, Epstein-Barr, HSV type 1 and 2 viruses and cytomegalovirus. There was also no effect on the result of the analysis of rheumatoid factor in the samples to the concentration 1390 IU/ml. The result of the analysis obtained for each sample was compared with the result obtained in a commercial kit with CE marking and calculated the relative specificity of EQUI *Chlamydia trachomatis* IgG ELISA kit.

11.2. Clinical performance characteristics

To evaluate clinical sensitivity and specificity of EQUI *Chlamydia trachomatis* IgG ELISA kits, 38 serum samples from patients with clinical symptoms typical for urogenital chlamydiosis and 55 serum samples from clinically healthy patients were used. Standard serum panels with and without species specific anti-*Chlamydia trachomatis* IgG: Reference standard Ab-G(+/-) *C.trachomatis* (OCO 42-28-313-00), batch 006 and 1216/3 (Manufactured by CJSC "MBS") — 16 positive and 20 negative sera in every kit were also tested. Clinical sensitivity of EQUI *Chlamydia trachomatis* IgG ELISA kits was 92.9 %, clinical specificity — 96.8 %.

Method characteristics in comparison with equal commercial ELISA kit was studied in target population of pregnant females (202 samples) and population of donors (270 samples). For a population of pregnant females, relative sensitivity of EQUI *Chlamydia trachomatis* IgG ELISA kits was 96.77 %, relative specificity — 93.98 %, percent agreement — 94.42 %. For a population of donors, relative sensitivity of EQUI *Chlamydia trachomatis* IgG ELISA kits was 94.74 %, relative specificity — 95.74 %, percent agreement — 95.67 %. Prevalence of this serological marker of chlamydial infection in the population was 15.74 % for the population of pregnant females and 7.48 % for the population of donors which is completely in line with literature data.

The positive prognostic value (PPV) of the EQUI *Chlamydia trachomatis* IgG ELISA kit is 95.6 %, and negative prognostic value (NPV) is 94.8 %.

12. LIMITATIONS OF ASSAY

Positive result in EQUI *Chlamydia trachomatis* IgG ELISA kit supports presence of anti-*Chlamydia trachomatis* specific IgG antibodies that are produced in the body upon contamination with urogenital chlamydiosis causative agent.

It should be noted that in case of early chlamydial infection, ELISA results may be negative due to the lack of antibodies at the initial stage of the disease. When clinical symptoms exist, re-testing is recommended at least in two weeks. Also testing of patient's sample for specific IgA and IgG (e.g. using EQUI *Chlamydia trachomatis* IgA and EQUI *Chlamydia trachomatis* IgG ELISA kits) is recommended.

For the correct diagnosis of chlamydia should also determine the level of specific to *Chlamydia trachomatis* antibodies in paired sera obtained with a sampling interval blood for at least two weeks. A two-to-three-fold increase in antibody levels indicates activity of the infectious process. In addition, it is recommended to conduct research with detection of chlamydia by culture (seeding), by PCR, RIF or microscopic furnace analysis of smear / scraping. To make a diagnosis should be considered as results laboratory tests and clinical manifestations of the disease.

13. DIFFICULTIES THAT CAN OCCUR DURING THE ASSAY PROCEDURE

High background in all wells can occur because of:

- contaminated washer;
- poor quality or contaminated water;
- use of poorly washed glassware;
- use of chlorinated disinfectants;
- use of contaminated tips;
- increased incubation times or change in the temperature conditions.

High background in a row of wells can occur because of:

- repeat application of TMB solution;
- contamination of the automatic pipette nozzle with conjugate solution;
- contamination of one of the washer's channel.

Received OD of the positive control is below the border value, if:

- one of the reagents (conjugate solution or TMB solution) was not prepared in a correct way or was not added;
- reduced incubation times at any stage.

The colour density of the wells fails to meet the obtained optical density value.

This may suggest that the optical beam has been displaced.

REFERENCES

1. Byrne G.I. Chlamydia trachomatis Strains and Virulence: Rethinking Links to Infection Prevalence and Disease Severity // The Journal of Infectious Diseases. - 2010. - Vol.201 (2). - P. S126–S133.
2. CDC. Screening tests to detect Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae infections // Morbidity and Mortality Weekly Report. - 2002. - Vol.51, No.RR-15. - 38 p.
3. Domeika K., Brade L. et al. Characterization of serum antibody response to chlamydiae in patients with sexually acquired reactive arthritis // Pathogens and Disease. - 1997. - Vol. 19(3). - P. 191–202.
4. Idahl A., Boman J., Kumlin U., Olofsson J.I. Demonstration of Chlamydia trachomatis IgG antibodies in the male partner of the infertile couple is correlated with a reduced likelihood of achieving pregnancy // Human Reproduction. - 2004. - Vol.19 (5). - P. 1121–1126.
5. Ismail M.K. and Ali A.S. Evaluation of Chlamydia Trachomatis Antibodies In Women with Infertility // Al-Mustansiriyah Journal of Science. - 2012. - Vol. 23, No 3. - P. 21–28.
6. Keegan M.B., Diedrich J.T. and Peipert J.F. Chlamydia trachomatis Infection: Screening and Management // Journal of Clinical Outcomes Management. - 2014. - Vol.21 (1). - P. 30–38.
7. Vasilevsky S., Greub G., Nardelli-Haeffliger D. and Bauda D. Genital Chlamydia trachomatis: Understanding the Roles of Innate and Adaptive Immunity in Vaccine Research // Clinical Microbiology Reviews. - 2014. - Vol. 27, No. 2. - P. 346–370.
8. Witkin S.S. Immunological aspects of genital chlamydia infections // Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology - 2002. - Vol. 16. - P. 865–874.
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.
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.



Manufacturer



In vitro diagnostic medical device



Catalogue number



Date of manufacture



Use by date



Batch code



Temperature limit



Contains sufficient for <n> tests



Caution



Consult instructions for use



Keep away from sunlight



Sign of compliance with technical regulations

Edition 7, 20.07.2021

For questions and suggestions regarding the ELISA kit contact:



Ekvittestlab LLC

Velyka Vasylkivska St. 114, Kyiv, Ukraine, 03150

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

e-mail: info@equitest.com.ua, www.equitest.com.ua

ASSAY PROCEDURE SCHEME

Keep all reagents for 30 min at temperature 18-25°C before use

Dispense 80 µl [DIL][SAMPLE] into the wells (brown)

Add to 40 µl of controls and samples into the wells:
A1 – [CONTROL][IgG +], B1, C1, D1 – [CONTROL] -,
other wells – examined samples
(change of colour from brown to blue)

Cover strips with an adhesive film, incubate for **30 min at 37°C**

Rinse the wells 5 times with prepared 1:20 (1+19) washing solution TRITON (300 µl per well)

Add to 100 µl of [SOLN][CONJ][IgG] into all wells (green)

Cover strips with an adhesive film, incubate for **30 min at 37°C**

Rinse the wells 5 times with prepared 1:20 (1+19) washing solution TRITON (300 µl per well)

Add 100 µl of [SOLN][TMB] into all wells

Incubate for **30 min** in the dark at **18-25°C**

Add 100 µl of [SOLN][STOP] into all wells
(change of colour from blue to yellow)

Measure the optical density (OD) with an ELISA microplate reader at 450/620-695 nm

CALCULATION OF RESULTS

$$\overline{Nc} = (Nc_1 + Nc_2 + Nc_3)/3;$$

$$CO = \quad + 0,3;$$

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

$\overline{Nc}$ - the average value of OD 3-x [CONTROL] -

CO - Cut off

IP_{sample} - sample positivity index

INTERPRETATION OF RESULTS

$IP_{sample} > 1,1$	POSITIVE
$0,9 \leq IP_{sample} \leq 1,1$	BORDERLINE
$IP_{sample} < 0,9$	NEGATIVE



HBsAg

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

Инструкция по применению



IVD

REF
EI-011

Σ 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 *Hepadnaviridae* 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 HBsAg, 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 ₂ O ₂ , 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 ₂ SO ₄ (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 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 [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 μl [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 μl [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 ($\bar{Nc}$) уровень граничного значения (Cut off - CO).

$$\bar{Nc} = (Nc1 + Nc2 + Nc3)/3; \quad CO = \bar{Nc} + 0,07$$

10.2. Контроль достоверности результатов анализа

Данные теста считаются достоверными, если они соответствуют следующим требованиям:

$$[CONTROL|+] \quad ОП \geq 1,5$$

$$[CONTROL|-] \quad ОП \leq 0,100$$

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

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 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_{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 _{ср}	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 _{ср}	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 μ 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 (серонегативных 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
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, ознакомиться 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, 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

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

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

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

CO - Уровень граничного значения (Cut off)

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

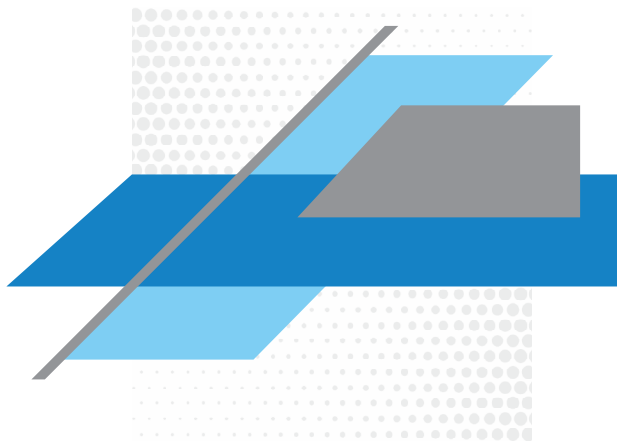
$OD_{sample} \geq CO$	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ
$OD_{sample} < CO$	ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ



Helicobacter IgA

ELISA kit for the qualitative and semiquantitative
detection of IgA antibodies to CagA protein of
Helicobacter pylori

Instructions for use



IVD

REF
EI-503

Σ 96
tests



EQUI *Helicobacter* IgA

ELISA kit for the qualitative and semiquantitative detection of IgA antibodies to CagA protein of *Helicobacter pylori*

1. INTENDED USE

The «EQUI *Helicobacter* IgA» is ELISA kit intended to qualitatively and semi-quantitatively detect anti-CagA protein *Helicobacter pylori* IgA in human serum or plasma by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in order to diagnose helicobacteriosis. The testing procedure is designed for both manual arrangement with automatic pipettes and standard equipment, and for automated «open» immunoassay analysers.

Target group: patients with involvement of upper digestive tract, children, young people.

Usage: ELISA kit is used in clinical diagnostic laboratories and other institutions engaged in *in vitro* diagnostics.

2. CLINICAL SIGNIFICANCE

Helicobacter pylori is the most important bacteria which colonises gastric mucosa in human. Helicobacteriosis is associated with the development of gastric and duodenal ulcers, duodenitis, gastritis, as well as gastric malignancies.

Helicobacter pylori is a mobile helicoid Gram-negative bacterium, 3 µm in length, which may have 4 to 8 filaments. In addition to lytic enzymes, which lyse mucus and damage the cells of gastric mucosa, *Helicobacter pylori* may produce exotoxins (e.g., VacA, which results in vacuolization, damage and death of the host cells). Although, the most important are effector proteins CagA, which are secreted directly in the mucosal cell and may induce inflammation, overgrowth of cells and impairment of their apoptosis. Namely this protein is associated with gastric lymphoma and carcinoma. *Helicobacter pylori* strains are very heterogeneous, the degree of their virulence and aggressive effect on the human body are associated with the ability to secrete VacA and CagA.

Helicobacter pylori colonization may last for long without clinical manifestations and without detection of parasite with the immune system. However, aggravation of *Helicobacter* infection may be accompanied by typical signs of gastroduodenitis: abdominal discomfort and pain, indigestion, heartburn, etc. Development of gastritis, duodenitis, gastric and duodenal ulcers, as well as gastric MALT lymphoma and adenocarcinoma is associated with *Helicobacter pylori*. These diseases may develop decades away after infection: the risk of peptic ulcer in *Helicobacter*-positive patients reached 20 %, gastric cancer — 1–2 %. At the same time, severity of digestive tract involvement correlates with spread and virulence of *Helicobacter pylori* strains. For example, strains that express VacA exotoxins are isolated in gastritis patients more commonly than in asymptomatic carriers. *Helicobacter pylori* strains, which secrete CagA are more biochemically aggressive. They are isolated in the vast majority of patients with gastric and duodenal ulcer and in patients with gastric cancer. Those strains that do not express VacA and CagA are not associated with severe involvement of hepatobiliary system.

Timely detection and treatment of helicobacteriosis simultaneously results in elimination of inflammatory processes in the stomach, reduces the possibility of re-occurrence of duodenal ulcers and malignancies. Histological detection of the causative agent in patient tissues is considered as the gold standard in diagnosis of *Helicobacter* infection, and alternative variant is its isolation in the culture. Among non-invasive methods, breathing urease test and detection of anti-*Helicobacter pylori* antibodies are the most essential. CagA antigen is the most immunogenic. Anti-CagA antibodies are detected in the vast majority (up to 100 %) of patients with peptic ulcer and in 95 % patients with gastric cancer.

IgM antibodies are considered the sign of acute infection and are detected in 10 % of patients with clinical manifestations of helicobacteriosis or in 1–2 % of asymptomatic carriers. Specific IgA antibodies may serve as the marker of active and chronic infection: they are detected in about 5 % of patients at the background of the lack of other antibodies and in up to 70 % of IgG seropositive patients. Detection of anti-*Helicobacter pylori* IgG is commonly used for screening of asymptomatic carriers and for evaluation of treatment efficacy. Decrease in the titre of specific IgG antibodies by 40 to 50 % is reported in half a year after the successful treatment and eradication of *Helicobacter pylori*.

3. ANALYSIS PRINCIPLE

The procedure of testing for anti-CagA *Helicobacter pylori* IgA in «EQUI *Helicobacter* IgA» ELISA kit is based on «indirect» solid-phase ELISA with a two-stage incubation. CagA *Helicobacter pylori* recombinant antigen is entrapped in the wells. During the first step of incubation of ELISA plate wells with test samples, specific anti-*Helicobacter pylori* antibodies (if present in the samples) bind to the solid-phase antigens. The wells are washed to remove unbound antibodies and have only specific antigen-antibody complexes left. Then, a conjugate of anti-species IgA monoclonal antibodies with horseradish peroxidase is added, which binds to solid-phase immune complexes. Unbound components are removed by washing. Antigen-antibody complexes are detected by adding a solution of chromogen 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB) with hydrogen peroxide. After 30-minute incubation, the reaction is stopped by adding the stop solution. The optical density (OD) in the wells is determined using a spectrophotometer at 450/620–695 nm. The intensity of the yellow colour is proportional to the level of antibodies in the sample.

4. MATERIALS AND EQUIPMENT

4.1. Contents of the ELISA kit

STRIPS

1 x 96
wells

Microplate

Each plate well is coated with CagA *Helicobacter pylori* recombinant antigen. The wells are detachable. After the first opening, store unused strips in the package at 2–8 °C for a maximum of 6 months

CONTROL +	1 x 0,25 ml	Positive control Solution of conjugate specific monoclonal antibodies with preservative (pink). Store at 2-8 °C
CONTROL -	1 x 0,6 ml	Negative control Negative human serum with a preservative (yellow). Store at 2-8 °C
DIL SAMPLE	1 x 13 ml	Serum dilution solution Buffer solution with a milk extract, a detergent and a preservative (brown). Store at 2-8 °C
SOLN CONJ	1 x 13 ml	Conjugate solution (ready to use) Buffer solution of monoclonal antibodies to human IgA, conjugated with horseradish peroxidase, with stabilizers and preservative (orange). Store at 2-8 °C
SOLN TMB	1 x 13 ml	TMB solution (ready to use) TMB solution, H ₂ O ₂ , a stabilizer, a preservative (colourless). Store at 2-8 °C
TWEEN WASH 20x	1 x 50 ml	Washing solution TWEEN (20x concentrated) 20-fold phosphate buffer concentrate with Tween-20 (colourless). Dilute TWEEN detergent (20x) at 1:20 with distilled or deionized water (e. g., 5 mL of concentrate + 95 mL of water for 8 wells) before use. Store the diluted solution at 2-8 °C for a maximum of 7 days
SOLN STOP	1 x 13 ml	Stop Solution (ready to use) 0.5 mol H ₂ SO ₄ solution (colourless). Store at 2-8 °C

The ELISA kit also includes adhesive films (2 items), sample application plan (1 item), checklist, and instruction for use.

4.2. Optional reagents, materials and equipment

Automatic single and multichannel pipettes 10–1000 µL, tips, volumetric laboratory glassware (10–1,000 mL), deionized or distilled water, thermostat at 37 °C, automatic or semi-automatic plate washer, spectrophotometer (reader) for microplates at 450/620-695 nm, appropriate containers for potentially contaminated waste, timer, filter paper, disposable powder-free gloves, disinfectants.

5. PRECAUTIONS AND SAFETY

5.1. Precautions

Be sure to read the instructions for use carefully before the test. The validity of the test results depends on strict following of the test procedure.

- do not use the ELISA kit components after the expiry date;
- do not use for analysis or mix components of different batches, components of kits for different nosologies, or reagents from other manufacturers with the «EQUI Helicobacter IgA» ELISA kit;
- do not freeze the ELISA kit or its contents;
- after using a reagent, close each vial with its cap;

- when washing, control filling and complete aspiration of solution from the wells;
- use a new pipette tip each time you add samples or reagents;
- prevent direct sunlight from reaching the reagents from the ELISA kit;
- [SOLN|TMB] solution must be colourless before use. Do not use the solution if its colour is blue or yellow. Avoid contact of [SOLN|TMB] with metals or metal ions. Use only clean glassware thoroughly rinsed with distilled water;
- do not use reagents with colour not in line with para. 4.1;
- under no circumstances should the same glassware be used for [SOLN|CONJ] and [SOLN|TMB];
- do not evaluate the test results visually (without a reader);
- any optional equipment that is in direct contact with biological material or kit components should be considered contaminated and requires cleaning and decontamination;
- the ELISA kit includes materials for 96 tests. Dispose of the used components as well as any remaining unused components.

5.2. Safety requirements

- all reagents in the ELISA kit are for laboratory professional use for *in vitro* diagnosis only and may only be used by qualified personnel;
- conduct the tests in disposable powder-free gloves and goggles only;
- do not eat, drink, smoke, or apply make-up in the test room;
- do not mouth-pipette the solutions;
- controls from the «EQUI Helicobacter IgA» ELISA kit have been tested and found to be for anti-HIV1/2, anti-HCV and anti-*Treponema pallidum* antibodies and HBsAg negative; however, controls and test samples should be handled as potentially hazardous infectious materials;
- some of the kit components contain low concentrations of harmful substances and can damage skin or mucosa. In case of contact of [SOLN|TMB], [SOLN|STOP] and [SOLN|CONJ] with mucous membranes or skin, immediately wash the affected area with plenty of water;
- in case of spillage of acid-free solutions, e. g. sera, treat the surface with a disinfectant solution and then wipe dry with filter paper. Otherwise first neutralize acid with sodium bicarbonate solution and then wipe the surface dry as described above.

5.3. Waste inactivation and disposal

- the liquid waste must be inactivated, for example, with hydrogen peroxide solution at the final concentration of 6% for 3 hours at room temperature, or with sodium hypochlorite at the final concentration of 5% for 30 minutes, or with other approved disinfectants;
- the solid waste must be inactivated by autoclaving at a temperature not less than 132°C;

- do not autoclave the solutions that contain sodium azide or sodium hypochlorite;
- disposal of inactivated waste must be conducted due to national laws and regulations.

6. STORAGE AND STABILITY

ELISA kit is stable up to the expiry date stated on the label when stored at 2-8°C. The kit should be transported at 2-8°C. Single transportation at a temperature up to 23°C for two days is possible.

7. SAMPLE COLLECTION, TRANSPORTATION AND STORAGE GUIDELINES

Collect blood from the vein into the sterile test tube. Test tube must be marked with patient ID and date of sample collecting. Blood before serum separation can be stored at 2-8 °C for 24 hours, avoiding freezing.

Serum or plasma can be stored at 2-8 °C for maximum 3 days. Frozen serum can be stored for longer periods of time at -20 °C or -70 °C. Thaw frozen samples and keep them at room temperature for 30 minutes before use. After thawing, the stir samples to achieve homogeneity. Avoid repeated freezing-thawing cycles for test samples. If serum (or plasma) is turbid, remove insoluble inclusions by centrifugation at 3000 rpm for 10-15 minutes. Do not use serum samples with hyperlipidemia, hemolysis, and bacterial growth.

Transport serum samples in insulated containers. To do that, put closed labelled tubes in a plastic bag, tightly seal it and place in the centre of an insulated container. Put the frozen cold packs on the bottom, along the side walls of the insulated container and on top of the serum samples.

8. REAGENT PREPARATION

NOTE! It is very important to keep all ELISA kit components for at least 30 min at room temperature 18-25 °C before the assay!

8.1. Microplate preparation

To prevent water condensation in the wells, keep the **STRIPS** for 30 minutes at a room temperature before opening. Open the vacuum pack, detach the appropriate number of wells, and carefully pack the remaining wells with a desiccant and store tightly zip-locked at 2-8 °C. Storing the packed plate this way ensures its stability for 6 months.

8.2. Washing solution preparation

To prepare detergent, dilute **TWEEN|WASH|20x** at 1:20 (1+19) with distilled or deionized water and stir. E. g., 5 mL of concentrate + 95 mL of water, which is enough for 8 wells. If there are crystals present in the detergent concentrate, heat the vial at 37 °C until the crystals dissolve completely (15–20 minutes). Store the diluted solution at 2-8 °C for a maximum of 7 days.

9. ASSAY PROCEDURE

- 9.1. Prepare the necessary number of wells (four wells for controls and a necessary number of wells for test samples) and insert them into the ELISA plate frame. Be sure to add control wells in every test run.
- 9.2. Fill in the sample application plan.
- 9.3. Prepare the detergent as per para. 8.2.
- 9.4. Add 90 µL of [DIL|SAMPLE] into each plate well.
- 9.5. Add 10 µL of controls and test samples into the wells:
[CONTROL|+] – into well A1,
[CONTROL|-] – into wells B1, C1 and D1,
and test samples into the remaining wells.
At the time of adding, the solution changes its colour from brown to blue. Pipette the mix in the wells carefully to avoid foaming.
- 9.6. Cover the strips up with adhesive film and incubate for **30 minutes at 37 °C**.
- 9.7. Remove and discard the adhesive film and wash all wells 5 times with automatic washer or 8-channel pipette as follows:
– aspirate the content of all wells into a liquid waste container;
– add a minimum of 300 µl of diluted washing solution to each well, soak each well for 30 seconds;
– aspirate the content of all wells again. The residual volume after every aspiration should be less than 5 µl;
– repeat the washing step 4 more times;
– after the final aspiration, eliminate extra moisture by tapping the plate against a piece of filter paper.
- 9.8. Add 100 µL of [SOLN|CONJ] into each well. Cover the strips with a new piece of adhesive film and incubate for **30 minutes at 37 °C**.
- 9.9. Following incubation, remove the film carefully and wash the wells five times as described in para. 9.7.
- 9.10. Add 100 µL of [SOLN|TMB] into the wells; do not touch the bottom and the walls of the plate wells.
- 9.11. Incubate the strips for **30 minutes** in a dark place at a room temperature of 18-25 °C. Do not use adhesive film at this stage.
- 9.12. Add 100 µL of [SOLN|STOP] into each strip well to stop the enzymatic reaction; adhere to the same sequence of actions as when adding [SOLN|TMB]. At the time of adding, the solution colour changes from blue to yellow, and clear solution slightly changes its shade.
- 9.13. Measure the optical density (OD) of the wells at 450/620-695 nm wavelength using an ELISA microplate reader within 5 minutes after stopping the reaction. Pay attention to the cleanness of the plate bottom and the absence of bubbles in the wells before reading.

Measurement at the single wavelength of 450 nm is possible, in that case, it is needed to leave one well for blank (only [SOLN|TMB] and [SOLN|STOP] must be added

in blank well).

10. CALCULATION AND INTERPRETATION OF RESULTS

10.1. Calculation of results

Calculate the average OD for the negative control ($\overline{Nc}$), Cut off (CO) and a sample positivity index (IP_{sample}).

$$\overline{Nc} = (Nc1 + Nc2 + Nc3)/3; \quad CO = \overline{Nc} + 0,25$$

$$IP_{sample} = OD_{sample} / CO, \text{ where } OD_{sample} \text{ is the OD sample}$$

10.2. Quality control (assay validation)

The test results are considered valid if they meet the following requirements:

$$\boxed{\text{CONTROL} +} \quad OD \geq 1,0$$

$$\boxed{\text{CONTROL} -} \quad OD \leq 0,150$$

$$\boxed{\text{CONTROL} -} \quad \overline{Nc} \times 0,5 \leq Ncn \leq \overline{Nc} \times 2,0 \quad \text{where } Ncn \text{ is the OD for each } Nc \text{ run}$$

If any of the OD values for the negative control is beyond the above interval, it should be discarded, and $\overline{Nc}$ is calculated based on the remaining OD values for the negative control. If several OD values for the negative control fail to meet the above requirements, the test is considered invalid and requires a new run.

10.3. Interpretation of results

Children	Adults	Interpretation
$IP_{sample} > 0,9$	$IP_{sample} > 1,1$	POSITIVE
$0,8 \leq IP_{sample} \leq 0,9$	$0,9 \leq IP_{sample} \leq 1,1$	BORDERLINE*
$IP_{sample} < 0,8$	$IP_{sample} < 0,9$	NEGATIVE

* Uncertain samples are recommended to be re-examined in two wells of the ELISA kit. If the results are again uncertain, a new sample should be selected and analyzed in 2-4 weeks. In case of repeated indeterminate results, such samples shall be considered negative.

Use of the positivity index allows for a semi-quantitative comparative analysis of the level of specific antibodies in the dynamics of paired samples obtained from patients with an interval of 2-4 weeks. It should be borne in mind that IP_{sample} within 1,1 – 7,0 proportional to the content of specific antibodies. If IP_{sample} is higher 7,0, to correctly assess the content of specific antibodies, it is recommended to re-analyze the sample previously diluted 10 times $\boxed{\text{DIL SAMPLE}}$. When determining the final result in this case, multiply the value obtained IP_{sample} on the degree of dilution (x10).

Interpretation of antibody detection results to CagA protein *Helicobacter pylori*

The presence of specific antibodies to CagA protein <i>Helicobacter pylori</i>			Interpretation of the result
IgG	IgA	IgM	
Missing	Missing	Missing	Sample does not contain specific antibodies or their concentration is below the sensitivity limit of the analysis
Missing	It turns out	It turns out	Probable early stage of infection, it is recommended to repeat the study in 2-3 weeks
It turns out	It turns out	Missing	
Missing	Missing	It turns out	
It turns out	Missing	Missing	Probable acute or transferred infection, it is recommended to carry out a complex of additional inspections: bacteriological, endoscopic, urease test
It turns out	It turns out	It turns out	
It turns out	It turns out	Missing	

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical performance characteristics

Precision of measurement

Intra assay repeatability

The coefficient of variation (CV) for two sera with different levels of specific antibodies was evaluated in 32 replicates on one series of ELISA kits.

Sample No.	OD _{av}	IP _{av}	CV, %
680	0,458	1,6	11,3
696	1,776	6,4	9,2

Inter assay reproducibility

The coefficient of variation (CV) for two sera with different levels of specific antibodies was evaluated for 3 days in 3 sets of analysis, 8 replicates in each analysis.

Sample No.	OD _{av}	IP _{av}	CV, %
680	0,470	1,7	15,4
696	1,779	6,4	7,4

Analytical specificity

The test results are not affected by bilirubin at up to 0.21 mg/mL (361.8 µmol/L), haemoglobin at up to 10 mg/mL and triglycerides at up to 10 mg/mL (11.3 mmol/l) present in the sample.

11.2. Diagnostic characteristics

To measure sensitivity and specificity of «EQUI *Helicobacter* IgA» ELISA kits, serum samples from donors and pregnant females (383 samples in total) were used. The «EQUI *Helicobacter* IgA» kits have found that is a random set of serum samples, 23 % of samples contained anti-CagA *Helicobacter pylori* IgA. In 93.2 % IgA positive samples, anti-*Helicobacter pylori* IgG were also found. Alternatively, among all anti-*Helicobacter pylori* IgG positive donors, 31.0 % had specific anti-

Helicobacter IgA. Prevalence of the marker in the population calculated from the results of «EQUI *Helicobacter* IgA» ELISA kit is comparable with the study results from scientific literature.

When studying comparative characteristics of the method, the results of detection of anti-CagA *Helicobacter pylori* IgA with «EQUI *Helicobacter* IgA» ELISA kits are comparable with the results using analogous commercial CE labelled ELISA kit. A relative specificity of «EQUI *Helicobacter* IgA» ELISA kit was 92.0 %.

12. LIMITATIONS OF ASSAY

Positive result in «EQUI *Helicobacter* IgA» ELISA kit supports presence of anti-CagA *Helicobacter pylori* specific IgA antibodies. These antibodies are produced in the body when a man is infected with *Helicobacter pylori* strains which express CagA.

Negative result of «EQUI *Helicobacter* IgA» ELISA kit suggests the absence of anti-CagA *Helicobacter pylori* specific IgA in the serum. These antibodies are also not detected in patients infected with *Helicobacter pylori* strains which do not express CagA. It should be noted that in case of early *Helicobacter pylori* infection, ELISA results may be negative due to the lack of antibodies. If clinical signs of the disease appears, re-test is recommended in at least two weeks.

For comprehensive serological diagnosis of *Helicobacter pylori*, it is also recommended to test for specific anti-CagA IgG and IgM using «EQUI *Helicobacter* IgG» and «EQUI *Helicobacter* IgM» ELISA kits, respectively.

The results of serological test only are not the basis for final diagnosis. When establishing the diagnosis, the results of complex laboratory and instrumental tests, as well as clinical manifestations should be considered.

13. DIFFICULTIES THAT CAN OCCUR DURING THE ASSAY PROCEDURE

Possible reasons	Solution
High background in all wells	
Contaminated washer	Clean the washer head and rinse according to the instructions for use
Poor quality or contaminated water	Use purified water with specific resistance $\geq 10 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$
Use of poorly washed glassware	Use chemically clean utensils
Use of chlorinated disinfectants	Do not use chlorine disinfectants
Use of contaminated tips	Use new tips
Increased incubation times or change in the temperature conditions	Adhere to the incubation regime according to the instructions for use
High background in a row of wells	
Repeat application of TMB solution	TMB solution should be applied once

Contamination of the automatic pipette nozzle with conjugate solution	Clean the pipette and dial carefully liquid
Contamination of one of the washer's channel	Clean the flush channel, rinse washer
<i>Received OD of the positive control is below the border value</i>	
One of the reagents (conjugate solution or TMB solution) was not prepared in a correct way or was not added	Re-conduct ELISA, pay attention to the correctness of the introduction of these reagents
Reduced incubation times at any stage	Incubate according to instructions for use
<i>The colour density of the wells fails to meet the obtained optical density value</i>	
This may suggest that the optical beam has been displaced	Check the correct operation of the reader

14. TECHNICAL ASSISTANCE AND CUSTOMER SERVICE

In case of technical problems, you can obtain assistance by contacting the manufacturer.

REFERENCES

1. Alem M., Alem N. et al. Diagnostic value of detection of IgM antibodies to *Helicobacter pylori* // Experimental and Molecular Pathology. - 2002. - Vol. 72. - P. 77–83.
2. Andersen L. P., Rosenstock S. J. et al. Seroprevalence of Immunoglobulin G, M, and A Antibodies to *Helicobacter pylori* in an Unselected Danish Population // American Journal of Epidemiology. – 1996. - Vol. 143, No. 11. - P. 1157–1164.
3. Bauer B. and Meyer T. F. The Human Gastric Pathogen *Helicobacter pylori* and Its Association with Gastric Cancer and Ulcer Disease // Ulcers. - 2011. - Article ID 340157.- 23 p.
4. Blaser M. J. and Atherton J. C. *Helicobacter pylori* persistence: biology and disease // Journal of Clinical Investigation. - 2004. - Vol. 113(3). - P. 321–333.
5. Chaput C., Ecobichon C. et al. Role of AmiA in the Morphological Transition of *Helicobacter pylori* and in Immune Escape // PLoS Pathogens. – 2006. – Vol. 2, No. 9, e97. – P.0844–0852.
6. Hunt R.H., Xiao S. D. et al. *Helicobacter Pylori* in developing countries. World Gastroenterology Organisation Global Guideline. // Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases. - 2011. - Vol. 20, No 3. - P. 299–304.
7. Hussein N. R., Mohammadi M. et al. Differences in Virulence Markers between *Helicobacter pylori* Strains from Iraq and Those from Iran: Potential Importance of Regional Differences in H. pylori-Associated Disease // Journal of Clinical Microbiology. – 2008. – Vol. 46, No. 5. – P. 1774–1779.
8. Kusters J. G., Van Vliet A. H. M. and Kuipers E. J. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* Infection // Clinical Microbiology Reviews. – 2006. – Vol. 19 (3). - P. 449–490.
9. López-Vidal Y., Ponce-de-León S. et al. High Diversity of *vacA* and *cagA* *Helicobacter pylori* Genotypes in Patients with and without Gastric Cancer // PLoS ONE. – 2008. – Vol. 3, No. 12. — P. e3849.
10. 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.
11. Закон України «Про відходи» // Відомості Верховної Ради України. - 1998. - №36-37.
12. Наказ МОЗ України №325 від 08.06.2015 «Про затвердження Державних санітарно-протиепідемічних правил і норм щодо поводження з медичними відходами».
13. Постанова КМУ від 02 жовтня 2013р. №754 «Про затвердження технічного регламенту щодо медичних виробів для діагностики *in vitro*».
14. 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
15. 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.



Manufacturer



In vitro diagnostic medical device



Catalogue number



Date of manufacture



Use by date



Batch code



Temperature limit



Contains sufficient for <n> tests



Caution



Consult instructions for use



Keep away from sunlight



Mark of compliance with technical regulations

Edition 6, 12.10.2021

For questions and suggestions regarding the ELISA kit contact:



Ekvittestlab LLC

Velyka Vasylkivska St. 114, Kyiv, Ukraine, 03150

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

e-mail: info@equitest.com.ua, www.equitest.com.ua

ASSAY PROCEDURE SCHEME

Keep all reagents for 30 min at temperature 18-25°C before use

Dispense 90 µl [DIL|SAMPLE] into the wells (brown)

Add to 10 µl of controls and samples into the wells:
A1 – [CONTROL|+], B1, C1, D1 – [CONTROL|-],
other wells – examined samples
(change of colour from brown to blue)

Cover strips with an adhesive film, incubate for **30 min at 37°C**

Rinse the wells 5 times with prepared 1:20 (1+19) washing solution TWEEN (300 µl per well)

Add 100 µl of [SOLN|CONJ] into all wells (orange)

Cover strips with an adhesive film, incubate for **30 min at 37°C**

Rinse the wells 5 times with prepared 1:20 (1+19) washing solution TWEEN (300 µl per well)

Add 100 µl of [SOLN|TMB] into all wells

Incubate for **30 min** in the dark at **18-25°C**

Add 100 µl of [SOLN|STOP] into all wells (change of colour from blue to yellow)

Measure the optical density (OD) with an ELISA microplate reader at 450/620-695 nm

CALCULATION OF RESULTS

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

$$CO = \overline{Nc} + 0,3;$$

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

Nc - the average value of OD 3-x [CONTROL|-]

CO - Cut off

IP_{sample} - sample positivity index

INTERPRETATION OF RESULTS

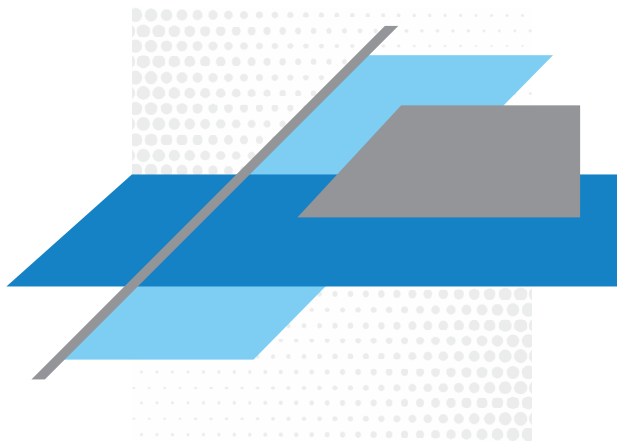
Children	Adults	Interpretation
$IP_{sample} > 0,9$	$IP_{sample} > 1,1$	POSITIVE
$0,8 \leq IP_{sample} \leq 0,9$	$0,9 \leq IP_{sample} \leq 1,1$	BORDERLINE
$IP_{sample} < 0,8$	$IP_{sample} < 0,9$	NEGATIVE



Helicobacter IgG

**ELISA kit for the qualitative and semiquantitative
detection of IgG antibodies to CagA protein of
*Helicobacter pylori***

Instructions for use



IVD

REF
EI-502

Σ 96
tests

CE

EQUI *Helicobacter* IgG

ELISA kit for the qualitative and semiquantitative detection of IgG antibodies to CagA protein of *Helicobacter pylori*

1. INTENDED USE

The «EQUI *Helicobacter* IgG» is ELISA kit intended to qualitatively and semi-quantitatively detect anti-CagA protein *Helicobacter pylori* IgG in human serum or plasma by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in order to diagnose helicobacteriosis. Using a set «EQUI *Helicobacter* IgG Calibrators» with «EQUI *Helicobacter* IgG» kit allows quantification of anti-CagA *Helicobacter pylori* IgG.

Target group: patients with involvement of upper digestive tract, children, young people.

Usage: ELISA kit is used in clinical diagnostic laboratories and other institutions engaged in *in vitro* diagnostics.

2. CLINICAL SIGNIFICANCE

Helicobacter pylori is the most important bacteria which colonises gastric mucosa in human. Helicobacteriosis is associated with the development of gastric and duodenal ulcers, duodenitis, gastritis, as well as gastric malignancies.

Helicobacter pylori is a mobile helicoid Gram-negative bacterium, 3 µm in length, which may have 4 to 8 filaments. In addition to lytic enzymes, which lyse mucus and damage the cells of gastric mucosa, *Helicobacter pylori* may produce exotoxins (e.g., VacA, which results in vacuolization, damage and death of the host cells). Although, the most important are effector proteins CagA, which are secreted directly in the mucosal cell and may induce inflammation, overgrowth of cells and impairment of their apoptosis. Namely this protein is associated with gastric lymphoma and carcinoma. *Helicobacter pylori* strains are very heterogeneous, the degree of their virulence and aggressive effect on the human body are associated with the ability to secrete VacA and CagA.

Helicobacter pylori colonization may last for long without clinical manifestations and without detection of parasite with the immune system. However, aggravation of *Helicobacter* infection may be accompanied by typical signs of gastroduodenitis: abdominal discomfort and pain, indigestion, heartburn, etc. Development of gastritis, duodenitis, gastric and duodenal ulcers, as well as gastric MALT lymphoma and adenocarcinoma is associated with *Helicobacter pylori*. These diseases may develop decades away after infection: the risk of peptic ulcer in *Helicobacter*-positive patients reached 20 %, gastric cancer — 1–2 %. At the same time, severity of digestive tract involvement correlates with spread and virulence of *Helicobacter pylori* strains. For example, strains that express VacA exotoxins are isolated in gastritis patients more commonly than in asymptomatic carriers. *Helicobacter pylori* strains, which secrete CagA are more biochemically aggressive. They are isolated in the vast majority of patients with gastric and duodenal ulcer and in patients with gastric cancer. Those strains that do not express VacA and CagA are not associated with severe involvement of hepatobiliary system.

Timely detection and treatment of helicobacteriosis simultaneously results in elimination of inflammatory processes in the stomach, reduces the possibility of re-occurrence of duodenal ulcers and malignancies. Histological detection of the causative agent in patient tissues is considered as the gold standard in diagnosis of *Helicobacter* infection, and alternative variant is its isolation in the culture. Among non-invasive methods, breathing urease test and detection of anti-*Helicobacter pylori* antibodies are the most essential. CagA antigen is the most immunogenic. Anti-CagA antibodies are detected in the vast majority (up to 100 %) of patients with peptic ulcer and in 95 % patients with gastric cancer.

IgM antibodies are considered the sign of acute infection and are detected in 10 % of patients with clinical manifestations of helicobacteriosis or in 1–2 % of asymptomatic carriers. Specific IgA antibodies may serve as the marker of active and chronic infection: they are detected in about 5 % of patients at the background of the lack of other antibodies and in up to 70 % of IgG seropositive patients. Detection of anti-*Helicobacter pylori* IgG is commonly used for screening of asymptomatic carriers and for evaluation of treatment efficacy. Decrease in the titre of specific IgG antibodies by 40 to 50 % is reported in half a year after the successful treatment and eradication of *Helicobacter pylori*.

3. ANALYSIS PRINCIPLE

The procedure of testing for anti-CagA *Helicobacter pylori* IgG in «EQUI *Helicobacter* IgG» ELISA kit is based on «indirect» solid-phase ELISA with a two-stage incubation. CagA *Helicobacter pylori* recombinant antigen is entrapped in the wells. During the first step of incubation of ELISA plate wells with test samples, specific anti-*Helicobacter pylori* antibodies (if present in the samples) bind to the solid-phase antigens. The wells are washed to remove unbound antibodies and have only specific antigen-antibody complexes left. Then, a conjugate of anti-species IgG monoclonal antibodies with horseradish peroxidase is added, which binds to solid-phase immune complexes. Unbound components are removed by washing. Antigen-antibody complexes are detected by adding a solution of chromogen 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB) with hydrogen peroxide. After 30-minute incubation, the reaction is stopped by adding the stop solution. The optical density (OD) in the wells is determined using a spectrophotometer at 450/620–695 nm. The intensity of the yellow colour is proportional to the level of antibodies in the sample.

4. MATERIALS AND EQUIPMENT

4.1. Contents of the ELISA kit

STRIPS

1 x 96
wells

Microplate

Each plate well is coated with CagA *Helicobacter pylori* recombinant antigen. The wells are detachable. After the first opening, store unused strips in the package at 2–8 °C for a maximum of 6 months

Positive control		
CONTROL +	1 x 0,25 ml	Solution of conjugate specific monoclonal antibodies with preservative (pink). Store at 2-8 °C
Negative control		
CONTROL -	1 x 0,6 ml	Negative human serum with a preservative (yellow). Store at 2-8 °C
Serum dilution solution		
DIL SAMPLE	1 x 13 ml	Buffer solution with a milk extract, a detergent and a preservative (brown). Store at 2-8 °C
Conjugate solution (ready to use)		
SOLN CONJ	1 x 13 ml	Buffer solution of monoclonal antibodies to human IgG, conjugated with horseradish peroxidase, with stabilizers and preservative (green). Store at 2-8 °C
TMB solution (ready to use)		
SOLN TMB	1 x 13 ml	TMB solution, H ₂ O ₂ , a stabilizer, a preservative (colourless). Store at 2-8 °C
Washing solution TWEEN (20x concentrated)		
TWEEN WASH 20x	1 x 50 ml	20-fold phosphate buffer concentrate with Tween-20 (colourless). Dilute TWEEN detergent (20x) at 1:20 with distilled or deionized water (e. g., 5 mL of concentrate + 95 mL of water for 8 wells) before use. Store the diluted solution at 2-8 °C for a maximum of 7 days
Stop Solution (ready to use)		
SOLN STOP	1 x 13 ml	0.5 mol H ₂ SO ₄ solution (colourless). Store at 2-8 °C

The ELISA kit also includes adhesive films (2 items), sample application plan (1 item), checklist, and instruction for use.

4.2. Optional reagents, materials and equipment

Automatic single and multichannel pipettes 10–1000 µL, tips, volumetric laboratory glassware (10–1,000 mL), deionized or distilled water, thermostat at 37 °C, automatic or semi-automatic plate washer, spectrophotometer (reader) for microplates at 450/620-695 nm, appropriate containers for potentially contaminated waste, timer, filter paper, disposable powder-free gloves, disinfectants.

5. PRECAUTIONS AND SAFETY

5.1. Precautions

Be sure to read the instructions for use carefully before the test. The validity of the test results depends on strict following of the test procedure.

- do not use the ELISA kit components after the expiry date;
- do not use for analysis or mix components of different batches, components of kits for different nosologies, or reagents from other manufacturers with the «EQUI Helicobacter IgG» ELISA kit;
- do not freeze the ELISA kit or its contents;
- after using a reagent, close each vial with its cap;

- when washing, control filling and complete aspiration of solution from the wells;
- use a new pipette tip each time you add samples or reagents;
- prevent direct sunlight from reaching the reagents from the ELISA kit;
- [SOLN|TMB] solution must be colourless before use. Do not use the solution if its colour is blue or yellow. Avoid contact of [SOLN|TMB] with metals or metal ions. Use only clean glassware thoroughly rinsed with distilled water;
- do not use reagents with colour not in line with para. 4.1;
- under no circumstances should the same glassware be used for [SOLN|CONJ] and [SOLN|TMB];
- do not evaluate the test results visually (without a reader);
- any optional equipment that is in direct contact with biological material or kit components should be considered contaminated and requires cleaning and decontamination;
- the ELISA kit includes materials for 96 tests. Dispose of the used components as well as any remaining unused components.

5.2. Safety requirements

- all reagents in the ELISA kit are for laboratory professional use for *in vitro* diagnosis only and may only be used by qualified personnel;
- conduct the tests in disposable powder-free gloves and goggles only;
- do not eat, drink, smoke, or apply make-up in the test room;
- do not mouth-pipette the solutions;
- controls from the «EQUI Helicobacter IgG» ELISA kit have been tested and found to be for anti-HIV1/2, anti-HCV and anti-*Treponema pallidum* antibodies and HBsAg negative; however, controls and test samples should be handled as potentially hazardous infectious materials;
- some of the kit components contain low concentrations of harmful substances and can damage skin or mucosa. In case of contact of [SOLN|TMB], [SOLN|STOP] and [SOLN|CONJ] with mucous membranes or skin, immediately wash the affected area with plenty of water;
- in case of spillage of acid-free solutions, e. g. sera, treat the surface with a disinfectant solution and then wipe dry with filter paper. Otherwise first neutralize acid with sodium bicarbonate solution and then wipe the surface dry as described above.

5.3. Waste inactivation and disposal

- the liquid waste must be inactivated, for example, with hydrogen peroxide solution at the final concentration of 6% for 3 hours at room temperature, or with sodium hypochlorite at the final concentration of 5% for 30 minutes, or with other approved disinfectants;
- the solid waste must be inactivated by autoclaving at a temperature not less than 132°C;

- do not autoclave the solutions that contain sodium azide or sodium hypochlorite;
- disposal of inactivated waste must be conducted due to national laws and regulations.

6. STORAGE AND STABILITY

ELISA kit is stable up to the expiry date stated on the label when stored at 2-8°C. The kit should be transported at 2-8°C. Single transportation at a temperature up to 23°C for two days is possible.

7. SAMPLE COLLECTION, TRANSPORTATION AND STORAGE GUIDELINES

Collect blood from the vein into the sterile test tube. Test tube must be marked with patient ID and date of sample collecting. Blood before serum separation can be stored at 2-8 °C for 24 hours, avoiding freezing.

Serum or plasma can be stored at 2-8 °C for maximum 3 days. Frozen serum can be stored for longer periods of time at -20 °C or -70 °C. Thaw frozen samples and keep them at room temperature for 30 minutes before use. After thawing, the stir samples to achieve homogeneity. Avoid repeated freezing-thawing cycles for test samples. If serum (or plasma) is turbid, remove insoluble inclusions by centrifugation at 3000 rpm for 10-15 minutes. Do not use serum samples with hyperlipidemia, hemolysis, and bacterial growth.

Transport serum samples in insulated containers. To do that, put closed labelled tubes in a plastic bag, tightly seal it and place in the centre of an insulated container. Put the frozen cold packs on the bottom, along the side walls of the insulated container and on top of the serum samples.

8. REAGENT PREPARATION

NOTE! It is very important to keep all ELISA kit components for at least 30 min at room temperature 18-25 °C before the assay!

8.1. Microplate preparation

To prevent water condensation in the wells, keep the **STRIPS** for 30 minutes at a room temperature before opening. Open the vacuum pack, detach the appropriate number of wells, and carefully pack the remaining wells with a desiccant and store tightly zip-locked at 2-8 °C. Storing the packed plate this way ensures its stability for 6 months.

8.2. Washing solution preparation

To prepare detergent, dilute **TWEEN|WASH|20x** at 1:20 (1+19) with distilled or deionized water and stir. E. g., 5 mL of concentrate + 95 mL of water, which is enough for 8 wells. If there are crystals present in the detergent concentrate, heat the vial at 37 °C until the crystals dissolve completely (15–20 minutes). Store the diluted solution at 2-8 °C for a maximum of 7 days.

9. ASSAY PROCEDURE

- 9.1. Prepare the necessary number of wells (four wells for controls and a necessary number of wells for test samples) and insert them into the ELISA plate frame. Be sure to add control wells in every test run.
- 9.2. Fill in the sample application plan.
- 9.3. Prepare the detergent as per para. 8.2.
- 9.4. Add 90 µL of [DIL|SAMPLE] into each plate well.
- 9.5. Add 10 µL of controls and test samples into the wells:
[CONTROL|+] – into well A1,
[CONTROL|-] – into wells B1, C1 and D1,
and test samples into the remaining wells.
At the time of adding, the solution changes its colour from brown to blue. Pipette the mix in the wells carefully to avoid foaming.
- 9.6. Cover the strips up with adhesive film and incubate for **30 minutes at 37 °C**.
- 9.7. Remove and discard the adhesive film and wash all wells 5 times with automatic washer or 8-channel pipette as follows:
– aspirate the content of all wells into a liquid waste container;
– add a minimum of 300 µl of diluted washing solution to each well, soak each well for 30 seconds;
– aspirate the content of all wells again. The residual volume after every aspiration should be less than 5 µl;
– repeat the washing step 4 more times;
– after the final aspiration, eliminate extra moisture by tapping the plate against a piece of filter paper.
- 9.8. Add 100 µL of [SOLN|CONJ] into each well. Cover the strips with a new piece of adhesive film and incubate for **30 minutes at 37 °C**.
- 9.9. Following incubation, remove the film carefully and wash the wells five times as described in para. 9.7.
- 9.10. Add 100 µL of [SOLN|TMB] into the wells; do not touch the bottom and the walls of the plate wells.
- 9.11. Incubate the strips for **30 minutes** in a dark place at a room temperature of 18-25°C. Do not use adhesive film at this stage.
- 9.12. Add 100 µL of [SOLN|STOP] into each strip well to stop the enzymatic reaction; adhere to the same sequence of actions as when adding [SOLN|TMB]. At the time of adding, the solution colour changes from blue to yellow, and clear solution slightly changes its shade.
- 9.13. Measure the optical density (OD) of the wells at 450/620-695 nm wavelength using an ELISA microplate reader within 5 minutes after stopping the reaction. Pay attention to the cleanness of the plate bottom and the absence of bubbles in the wells before reading.

Measurement at the single wavelength of 450 nm is possible, in that case, it is needed to leave one well for blank (only [SOLN|TMB] and [SOLN|STOP] must be added

in blank well).

10. CALCULATION AND INTERPRETATION OF RESULTS

10.1. Calculation of results

Calculate the average OD for the negative control ($\overline{Nc}$), Cut off (CO) and a sample positivity index (IP_{sample}).

$$\overline{Nc} = (Nc1 + Nc2 + Nc3)/3; \quad CO = \overline{Nc} + 0,25$$

$$IP_{sample} = OD_{sample} / CO, \text{ where } OD_{sample} \text{ is the OD sample}$$

10.2. Quality control (assay validation)

The test results are considered valid if they meet the following requirements:

$$\boxed{\text{CONTROL} +} \quad OD \geq 1,2$$

$$\boxed{\text{CONTROL} -} \quad OD \leq 0,150$$

$$\boxed{\text{CONTROL} -} \quad \overline{Nc} \times 0,5 \leq Ncn \leq \overline{Nc} \times 2,0 \quad \text{where } Ncn \text{ is the OD for each } Nc \text{ run}$$

If any of the OD values for the negative control is beyond the above interval, it should be discarded, and $\overline{Nc}$ is calculated based on the remaining OD values for the negative control. If several OD values for the negative control fail to meet the above requirements, the test is considered invalid and requires a new run.

10.3. Interpretation of results

Children	Adults	Interpretation
$IP_{sample} > 0,9$	$IP_{sample} > 1,1$	POSITIVE
$0,8 \leq IP_{sample} \leq 0,9$	$0,9 \leq IP_{sample} \leq 1,1$	BORDERLINE*
$IP_{sample} < 0,8$	$IP_{sample} < 0,9$	NEGATIVE

* Uncertain samples are recommended to be re-examined in two wells of the ELISA kit. If the results are again uncertain, a new sample should be selected and analyzed in 2-4 weeks. In case of repeated indeterminate results, such samples shall be considered negative.

Use of the positivity index allows for a semi-quantitative comparative analysis of the level of specific antibodies in the dynamics of paired samples obtained from patients with an interval of 2-4 weeks. It should be borne in mind that IP_{sample} within 1,1 – 7,0 proportional to the content of specific antibodies. If IP_{sample} is higher 7,0, to correctly assess the content of specific antibodies, it is recommended to re-analyze the sample previously diluted 10 times $\boxed{\text{DIL SAMPLE}}$. When determining the final result in this case, multiply the value obtained IP_{sample} on the degree of dilution (x10).

To quantify IgG antibodies specific for the CagA Helicobacter pylori protein, it is recommended to test samples for specific antibodies in the «EQUI Helicobacter IgG» ELISA kit together with the «EQUI Helicobacter IgG Calibrators» kit according to the instructions in the calibrator kit.

**Interpretation of antibody detection results to
CagA protein *Helicobacter pylori***

The presence of specific antibodies to CagA protein <i>Helicobacter pylori</i>			Interpretation of the result
IgG	IgA	IgM	
Missing	Missing	Missing	Sample does not contain specific antibodies or their concentration is below the sensitivity limit of the analysis
Missing	It turns out	It turns out	Probable early stage of infection, it is recommended to repeat the study in 2-3 weeks
It turns out	It turns out	Missing	
Missing	Missing	It turns out	
It turns out	Missing	Missing	Probable acute or transferred infection, it is recommended to carry out a complex of additional inspections: bacteriological, endoscopic, urease test
It turns out	It turns out	It turns out	
It turns out	It turns out	Missing	

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical performance characteristics

Precision of measurement

Intra assay repeatability

The coefficient of variation (CV) for two sera with different levels of specific antibodies was evaluated in 32 replicates on one series of ELISA kits.

Sample No.	OD _{av}	IP _{av}	CV, %
719	2,196	7,9	6,8
225	1,074	3,9	7,8

Inter assay reproducibility

The coefficient of variation (CV) for three sera with different levels of specific antibodies was evaluated for 3 days in 3 sets of analysis, 8 replicates in each analysis.

Sample No.	OD _{av}	IP _{av}	CV, %
719	2,229	8,1	8,1
225	1,025	3,7	10,0

Analytical specificity

The test results are not affected by bilirubin at up to 0.21 mg/mL (361.8 μmol/L), haemoglobin at up to 10 mg/mL and triglycerides at up to 10 mg/mL (11.3 mmol/l) present in the sample.

11.2. Diagnostic characteristics

To measure sensitivity and specificity of «EQUI *Helicobacter* IgG» ELISA kits in comparison with analogous commercial ELISA kit, 99 serum samples from pregnant females and 284 serum samples from donors (383 samples in total) were used. The results of detection of anti-CagA *Helicobacter pylori* IgG with «EQUI

Helicobacter IgG» ELISA kits are comparable with the results using analogous commercial CE labelled ELISA kits. A relative sensitivity of «EQUI *Helicobacter* IgG» ELISA kits was 99.1 %, relative specificity — 95.9 %, percent agreement — 97.96 %. Total prevalence in the population was 64.13 % that is completely in line with literature data.

12. LIMITATIONS OF ASSAY

Positive result in «EQUI *Helicobacter* IgG» ELISA kit supports presence of anti-CagA *Helicobacter pylori* specific IgG antibodies. These antibodies are produced in the body when a man is infected with *Helicobacter pylori* strains which express CagA.

Negative result of «EQUI *Helicobacter* IgG» ELISA kit suggests the absence of anti-CagA *Helicobacter pylori* specific IgG in the serum. These antibodies are also not detected in patients infected with *Helicobacter pylori* strains which do not express CagA. It should be noted that in case of early *Helicobacter pylori* infection, ELISA results may be negative due to the lack of antibodies. If clinical signs of the disease appears, re-test is recommended in at least two weeks.

For comprehensive serological diagnosis of *Helicobacter pylori*, it is also recommended to test for specific anti-CagA IgA and IgM using «EQUI *Helicobacter* IgA» and «EQUI *Helicobacter* IgM» ELISA kits, respectively.

The results of serological test only are not the basis for final diagnosis. When establishing the diagnosis, the results of complex laboratory and instrumental tests, as well as clinical manifestations should be considered.

To monitor the effectiveness of the therapy and eradication of the pathogen, it is recommended to conduct a study for the presence of specific antibodies in samples obtained 6-12 months after therapy.

13. DIFFICULTIES THAT CAN OCCUR DURING THE ASSAY PROCEDURE

Possible reasons	Solution
High background in all wells	
Contaminated washer	Clean the washer head and rinse according to the instructions for use
Poor quality or contaminated water	Use purified water with specific resistance $\geq 10 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$
Use of poorly washed glassware	Use chemically clean utensils
Use of chlorinated disinfectants	Do not use chlorine disinfectants
Use of contaminated tips	Use new tips
Increased incubation times or change in the temperature conditions	Adhere to the incubation regime according to the instructions for use
High background in a row of wells	

Repeat application of TMB solution	TMB solution should be applied once
Contamination of the automatic pipette nozzle with conjugate solution	Clean the pipette and dial carefully liquid
Contamination of one of the washer's channel	Clean the flush channel, rinse washer
<i>Received OD of the positive control is below the border value</i>	
One of the reagents (conjugate solution or TMB solution) was not prepared in a correct way or was not added	Re-conduct ELISA, pay attention to the correctness of the introduction of these reagents
Reduced incubation times at any stage	Incubate according to instructions for use
<i>The colour density of the wells fails to meet the obtained optical density value</i>	
This may suggest that the optical beam has been displaced	Check the correct operation of the reader

14. TECHNICAL ASSISTANCE AND CUSTOMER SERVICE

In case of technical problems, you can obtain assistance by contacting the manufacturer.

REFERENCES

1. Alem M., Alem N. et al. Diagnostic value of detection of IgM antibodies to *Helicobacter pylori* // Experimental and Molecular Pathology. - 2002. - Vol. 72. - P. 77–83.
2. Andersen L. P., Rosenstock S. J. et al. Seroprevalence of Immunoglobulin G, M, and A Antibodies to *Helicobacter pylori* in an Unselected Danish Population // American Journal of Epidemiology. – 1996. - Vol. 143, No. 11. - P. 1157–1164.
3. Bauer B. and Meyer T. F. The Human Gastric Pathogen *Helicobacter pylori* and Its Association with Gastric Cancer and Ulcer Disease // Ulcers. - 2011. - Article ID 340157.- 23 p.
4. Blaser M. J. and Atherton J. C. *Helicobacter pylori* persistence: biology and disease // Journal of Clinical Investigation. - 2004. - Vol. 113(3). - P. 321–333.
5. Chaput C., Ecobichon C. et al. Role of AmiA in the Morphological Transition of *Helicobacter pylori* and in Immune Escape // PLoS Pathogens. – 2006. – Vol. 2, No. 9, e97. – P.0844–0852.
6. Hunt R.H., Xiao S. D. et al. *Helicobacter Pylori* in developing countries. World Gastroenterology Organisation Global Guideline. // Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases. - 2011. - Vol. 20, No 3. - P. 299–304.
7. Hussein N. R., Mohammadi M. et al. Differences in Virulence Markers between *Helicobacter pylori* Strains from Iraq and Those from Iran: Potential Importance of Regional Differences in H. pylori-Associated Disease // Journal of Clinical Microbiology. – 2008. – Vol. 46, No. 5. – P. 1774–1779.
8. Kusters J. G., Van Vliet A. H. M. and Kuipers E. J. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* Infection // Clinical Microbiology Reviews. – 2006. – Vol. 19 (3). - P. 449–490.
9. López-Vidal Y., Ponce-de-León S. et al. High Diversity of *vacA* and *cagA* *Helicobacter pylori* Genotypes in Patients with and without Gastric Cancer // PLoS ONE. – 2008. – Vol. 3, No. 12. — P. e3849.
10. 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.
11. Закон України «Про відходи» // Відомості Верховної Ради України. - 1998. - №36-37.
12. Наказ МОЗ України №325 від 08.06.2015 «Про затвердження Державних санітарно-протиепідемічних правил і норм щодо поводження з медичними відходами».
13. Постанова КМУ від 02 жовтня 2013р. №754 «Про затвердження технічного регламенту щодо медичних виробів для діагностики *in vitro*».
14. 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
15. 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.



Manufacturer



Authorized Representative in the European Community



In vitro diagnostic medical device



Catalogue number



Date of manufacture



Use by date



Batch code



Temperature limit



Contains sufficient for <n> tests



Caution



Non-Sterile



Consult instructions for use



Keep away from sunlight



Keep dry



Compliance with EU safety requirements

Edition 7, 23.06.2022

For questions and suggestions regarding the ELISA kit contact:

Obelis s.a.



Bd Général Wahis 53

1030 Brussels

Belgium

Tel: +(32)2 732-59-54

Fax: +(32)2 732-60-03

mail@obelis.net



Ekvittestlab LLC

Velyka Vasytkivska St. 114, Kyiv, Ukraine, 03150

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

e-mail: info@equitest.com.ua, www.equitest.com.ua

ASSAY PROCEDURE SCHEME

Keep all reagents for 30 min at temperature 18-25°C before use

Dispense 90 µl [DIL|SAMPLE] into the wells (brown)

Add to 10 µl of controls and samples into the wells:
A1 – [CONTROL|+], B1, C1, D1 – [CONTROL|-],
other wells – examined samples
(change of colour from brown to blue)

Cover strips with an adhesive film, incubate for **30 min at 37°C**

Rinse the wells 5 times with prepared 1:20 (1+19) washing solution TWEEN (300 µl per well)

Add 100 µl of [SOLN|CONJ] into all wells (green)

Cover strips with an adhesive film, incubate for **30 min at 37°C**

Rinse the wells 5 times with prepared 1:20 (1+19) washing solution TWEEN (300 µl per well)

Add 100 µl of [SOLN|TMB] into all wells

Incubate for **30 min** in the dark at **18-25°C**

Add 100 µl of [SOLN|STOP] into all wells (change of colour from blue to yellow)

Measure the optical density (OD) with an ELISA microplate reader at 450/620-695 nm

CALCULATION OF RESULTS

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

$$CO = \overline{Nc} + 0,3;$$

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

$\overline{Nc}$ - the average value of OD 3-x [CONTROL|-]

CO - Cut off

IP_{sample} - sample positivity index

INTERPRETATION OF RESULTS

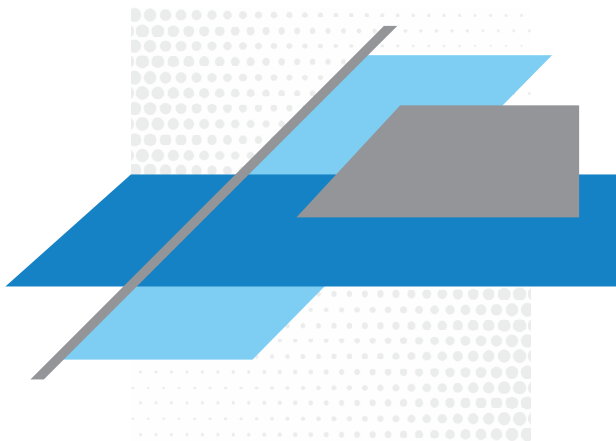
Children	Adults	Interpretation
$IP_{sample} > 0,9$	$IP_{sample} > 1,1$	POSITIVE
$0,8 \leq IP_{sample} \leq 0,9$	$0,9 \leq IP_{sample} \leq 1,1$	BORDERLINE
$IP_{sample} < 0,8$	$IP_{sample} < 0,9$	NEGATIVE



HSV1+2 IgG

**ELISA kit for the qualitative and semi-quantitative
detection of IgG antibodies to herpes simplex virus
types 1 and 2**

Instructions for use



IVD

REF
EI-071

Σ 96
tests



EQUI HSV1+2 IgG

ELISA kit for the qualitative and semi-quantitative detection of IgG antibodies to herpes simplex virus types 1 and 2

1. INTENDED USE

The «EQUI HSV1+2 IgG» ELISA kit is intended to qualitatively and semi-quantitatively detect IgG antibodies to Herpes simplex virus Type 1 and 2 (HSV-1/2) in human serum or plasma by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in order to diagnose herpes virus infection. The testing procedure is designed for both manual arrangements with automatic pipettes and standard equipment, and for automated «open» immunoassay analyzers.

Target group: women of childbearing age and pregnant women.

Usage: ELISA kit is used in clinical diagnostic laboratories and other institutions engaged in *in vitro* diagnostics.

2. CLINICAL SIGNIFICANCE

Herpes simplex virus (HSV) causes chronic, lifelong infection with recurrences in humans that occurs worldwide. The herpes simplex virus (HSV) is categorized into 2 types: HSV-1 and HSV-2. HSV-1 is causing oral herpes, HSV-2 causes genital herpes.

HSV belongs to the big *Herpesviridae* family, whose representatives are enveloped, double-stranded DNA viruses. HSV-1 and HSV-2 are similar to each other at the genetic level but differ in antigenic properties (especially in proteins of the outer membrane). An important characteristic of herpesviruses is their ability to persist in cells of the infected organism throughout life. Antibodies to HSV are detected in high concentrations during the whole life, however, they cannot prevent recurrences but only hinder the spread of HSV.

Infection with HSV type 1 (HSV-1) is typically transmitted via oral contact and HSV-2 is mainly sexually transmitted.

Herpes, even asymptomatic, can be detected by virus isolation in cell culture or by PCR testing of viral DNA in body fluids: whole blood, plasma, serum, saliva, cerebrospinal fluid, tears, semen, urine, breast milk etc. Another common method of diagnosis is the detection of specific antibodies to HSV-1/2 antigens. IgM antibodies appear within 7-10 days after primary infection, their titers rise during 1-2 months and then decreases. In some people, specific IgM antibodies can be detected for several months, sometimes up to a year, their titers increase slightly when the virus is reactivated. IgG antibodies begin to appear 3-4 weeks after infection, their titers increase rapidly and remain high throughout life. During reactivation, there may be a slight increase in the titers of specific IgG antibodies. The signs of primary herpes infection are detection of specific IgM antibodies and a fourfold increase in the titers of specific IgG antibodies in paired samples taken with interval of 14-20 days and studied in one analysis.

3. ANALYSIS PRINCIPLE

The procedure of testing for IgG specific antibodies to HSV1/2 in «EQUI HSV1+2 IgG» ELISA kit is based on «indirect» solid-phase ELISA with a two-stage incubation. Mixture of inactivated herpes simplex virus type 1 and 2 antigens is entrapped in the wells. During the first step of incubation of ELISA plate wells with test samples, specific anti-HSV 1/2 antibodies (if present in the samples), bind to the solid phase antigens. The wells are washed to remove unbound antibodies and have only specific antigen-antibody complexes left. Then, a conjugate of anti-species anti-IgG monoclonal antibodies with horseradish peroxidase is added, which binds to solid-phase immune complexes. Unbound components are removed by washing. Antigen-antibody complexes are detected by adding a solution of chromogen 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB) with hydrogen peroxide. After 30-minute incubation, the reaction is stopped by adding the stop solution. The optical density (OD) in the wells is determined using a spectrophotometer at 450/620-695 nm. The intensity of the yellow color is proportional to the level of antibodies in the sample.

4. MATERIALS AND EQUIPMENT

4.1. Contents of the ELISA kit

STRIPS	1 x 96 wells	Microplate Each plate well is coated with a mixture of inactivated herpes simplex virus type 1 and 2 antigens. The wells are detachable. After the first opening, store unused strips in the package at 2-8°C for a maximum of 6 months
PREDIL PLATE	1 x 96 wells	Plate for pre-dilution of sera
CONTROL +	1 x 0,25 ml	Positive control Solution of specific immunoglobulins with preservative (pink). Store at 2-8°C
CONTROL -	1 x 0,6 ml	Negative control Negative human serum with preservative (yellow). Store at 2-8°C
PREDIL SAMPLE	1 x 21 ml	Solution for pre-dilution of sera Buffer solution with detergent and preservative (brown). Store at 2-8 °C
DIL SAMPLE	1 x 13 ml	Serum dilution solution Buffer solution with milk extract, detergent and preservative (yellow). Store at 2-8°C
SOLN CONJ	1 x 13 ml	Conjugate solution (ready to use) Buffer solution of monoclonal antibodies to human IgG, conjugated with horseradish peroxidase, with stabilizers and preservative (violet). Store at 2-8 °C
SOLN TMB	1 x 13 ml	TMB solution (ready to use) TMB solution, H ₂ O ₂ , a stabilizer, a preservative (colourless). Store at 2-8 °C

Washing solution TRITON (20x concentrated)

TRITON|WASH|20X 1 x 50 ml

20-fold phosphate buffer concentrate with Triton X-100 (colourless). Dilute TRITON detergent (20x) at 1:20 with distilled or deionized water (e. g., 5 mL of concentrate + 95 mL of water for 8 wells) before use. Store the diluted solution at 2-8 °C for a maximum of 7 days

Stop Solution (ready to use)

SOLN|STOP 1 x 13 ml

0.5 mol H₂SO₄ solution (colourless). Store at 2-8 °C

The ELISA kit also includes adhesive films (2 items), sample application plan (1 item), checklist, and instruction for use.

4.2. Optional reagents, materials and equipment

Automatic single and multichannel pipettes 10–1000 µL, tips, volumetric laboratory glassware (10–1,000 mL), deionized or distilled water, thermostat at 37 °C, automatic or semi-automatic plate washer, spectrophotometer (reader) for microplates at 450/620–695 nm, appropriate containers for potentially contaminated waste, timer, filter paper, disposable powder-free gloves, disinfectants.

5. PRECAUTIONS AND SAFETY

5.1. Precautions

Be sure to read the instructions for use carefully before the test. The validity of the test results depends on strict following of the test procedure.

- do not use the ELISA kit components after the expiry date;
- do not use for analysis or mix components of different batches, components of kits for different nosologies, or reagents from other manufacturers with the «EQUI HSV1+2 IgG» ELISA kit;
- do not freeze the ELISA kit or its contents;
- after using a reagent, close each vial with its cap;
- when washing, control filling and complete aspiration of solution from the wells;
- use a new pipette tip each time you add samples or reagents;
- prevent direct sunlight from reaching the reagents from the ELISA kit;
- **SOLN|TMB** solution must be colourless before use. Do not use the solution if its colour is blue or yellow. Avoid contact of **SOLN|TMB** with metals or metal ions. Use only clean glassware thoroughly rinsed with distilled water;
- do not use reagents with colour not in line with para. 4.1;
- under no circumstances should the same glassware be used for **SOLN|CONJ** and **SOLN|TMB**;
- do not evaluate the test results visually (without a reader);
- any optional equipment that is in direct contact with biological material or kit components should be considered contaminated and requires cleaning and decontamination;
- the ELISA kit includes materials for 96 tests. Dispose of the used components as well as any remaining unused components.

5.2. Safety requirements

- all reagents in the ELISA kit are for laboratory professional use for *in vitro* diagnosis only and may only be used by qualified personnel;
- conduct the tests in disposable powder-free gloves and goggles only;
- do not eat, drink, smoke, or apply make-up in the test room;
- do not mouth-pipette the solutions;
- controls from the «EQUI HSV1+2 IgG» ELISA kit have been tested and found to be for anti-HIV1/2, anti-HCV and anti-*Treponema pallidum* antibodies and HBsAg negative; however, controls and test samples should be handled as potentially hazardous infectious materials;
- some of the kit components contain low concentrations of harmful substances and can damage skin or mucosa. In case of contact of [SOLN|TMB], [SOLN|STOP] and [SOLN|CONJ] with mucous membranes or skin, immediately wash the affected area with plenty of water;
- in case of spillage of acid-free solutions, e. g. sera, treat the surface with a disinfectant solution and then wipe dry with filter paper. Otherwise first neutralize acid with sodium bicarbonate solution and then wipe the surface dry as described above.

5.3. Waste inactivation and disposal

- the liquid waste must be inactivated, for example, with hydrogen peroxide solution at the final concentration of 6% for 3 hours at room temperature, or with sodium hypochlorite at the final concentration of 5% for 30 minutes, or with other approved disinfectants;
- the solid waste must be inactivated by autoclaving at a temperature not less than 132°C;
- do not autoclave the solutions that contain sodium azide or sodium hypochlorite;
- disposal of inactivated waste must be conducted due to national laws and regulations.

6. STORAGE AND STABILITY

ELISA kit is stable up to the expiry date stated on the label when stored at 2-8°C. The kit should be transported at 2-8°C. Single transportation at a temperature up to 23°C for two days is possible.

7. SAMPLE COLLECTION, TRANSPORTATION AND STORAGE GUIDELINES

Collect blood from the vein into the sterile test tube. Test tube must be marked with patient ID and date of sample collecting. Blood before serum separation can be stored at 2-8 °C for 24 hours, avoiding freezing.

Serum or plasma can be stored at 2-8 °C for maximum 3 days. Frozen serum can be stored for longer periods of time at -20 °C or -70 °C. Thaw frozen samples and keep them at room temperature for 30 minutes before use. After thawing, the stir samples to achieve homogeneity. Avoid repeated freezing-thawing cycles

for test samples. If serum (or plasma) is turbid, remove insoluble inclusions by centrifugation at 3000 rpm for 10-15 minutes. Do not use serum samples with hyperlipidemia, hemolysis, and bacterial growth.

Transport serum samples in insulated containers. To do that, put closed labelled tubes in a plastic bag, tightly seal it and place in the centre of an insulated container. Put the frozen cold packs on the bottom, along the side walls of the insulated container and on top of the serum samples.

8. REAGENT PREPARATION

NOTE! It is very important to keep all ELISA kit components for at least 30 min at room temperature 18-25 °C before the assay!

8.1. Microplate preparation

To prevent water condensation in the wells, keep the **STRIPS** for 30 minutes at a room temperature before opening. Open the vacuum pack, detach the appropriate number of wells, and carefully pack the remaining wells with a desiccant and store tightly zip-locked at 2-8 °C. Storing the packed plate this way ensures its stability for 6 months.

8.2. Washing solution preparation

To prepare detergent, dilute **TRITON WASH 20x** at 1:20 (1+19) with distilled or deionized water and stir. E. g., 5 mL of concentrate + 95 mL of water, which is enough for 8 wells. If there are crystals present in the detergent concentrate, heat the vial at 37 °C until the crystals dissolve completely (15–20 minutes). Store the diluted solution at 2-8 °C for a maximum of 7 days.

8.3. Pre-dilution of samples and controls

Dilute test samples and calibrators 10 times with **PREDIL SAMPLE**. To do this, add 90 µl of **PREDIL SAMPLE** to the required number of **PREDIL PLATE** wells (supplied) and add 10 µl of samples and controls. Carefully pipette the mixture when applying samples and calibrators, the color of the solution in the wells should change from brown to blue. The procedure for dilution of samples and controls should be performed immediately before analysis.

9. ASSAY PROCEDURE

9.1. Prepare the required number of wells for analysis (five wells for calibrators and the required number for test samples), insert them into the frame of the ELISA plate. Be sure to include calibrator wells in each test run.

9.2. Fill in the sample application plan.

9.3. Prepare the detergent as per para. 8.2.

9.4. Prepare a pre-dilution of samples and controls per para. 8.3.

9.5. Add 90 µl of **DIL SAMPLE** into each plate well.

9.6. Add 10 µl of pre-diluted 1:10 controls and test samples into the wells:

CONTROL + – into well A1,

CONTROL - – into wells B1, C1, D1,
into wells B1, C1, D1.

Thus, the final dilution of the samples in the wells should be 1:100. During the application time, the color of the solution changes from yellow to green. Carefully pipette the mixture into the wells to prevent foaming.

- 9.7. Cover the strips up with adhesive film and incubate for **30 minutes at 37 °C**.
- 9.8. Remove and discard the adhesive film and wash all wells 5 times with automatic washer or 8-channel pipette as follows:
 - aspirate the content of all wells into a liquid waste container;
 - add a minimum of 300 µl of diluted washing solution to each well, soak each well for 30 seconds;
 - aspirate the content of all wells again. The residual volume after every aspiration should be less than 5 µl;
 - repeat the washing step 4 more times;
 - after the final aspiration, eliminate extra moisture by tapping the plate against a piece of filter paper.
- 9.9. Add 100 µL of [SOLN|CONJ] into each well. Cover the strips with a new piece of adhesive film and incubate for **30 minutes at 37°C**.
- 9.10. Following incubation, remove the film carefully and wash the wells five times as described in para. 9.8.
- 9.11. Add 100 µL of [SOLN|TMB] into the wells, do not touch the bottom and the walls of the plate wells.
- 9.12. Incubate the strips for **30 minutes** in a dark place at **a room temperature of 18-25 °C**. Do not use adhesive film at this stage.
- 9.13. Add 100 µL of [SOLN|STOP] into each strip well to stop the enzymatic reaction; adhere to the same sequence of actions as when adding [SOLN|TMB]. At the time of adding, the solution colour changes from blue to yellow, and clear solution slightly changes its shade.
- 9.14. Measure the optical density (OD) of the wells at 450/620-695 nm wavelength using an ELISA microplate reader within 5 minutes after stopping the reaction. Pay attention to the cleanness of the plate bottom and the absence of bubbles in the wells before reading.

Measurement at the single wavelength of 450 nm is possible, in that case, it is needed to leave one well for blank (only [SOLN|TMB] and [SOLN|STOP] must be added in blank well).

10. CALCULATION AND INTERPRETATION OF RESULTS

10.1. Calculation of results

Calculate the average OD for the negative control ($\overline{Nc}$), Cut off (CO) and a sample positivity index (IP_{sample}).

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

$$IP_{\text{sample}} = OD_{\text{sample}} / CO, \text{ where } OD_{\text{sample}} \text{ is the OD sample}$$

10.2. Quality control (assay validation)

The test results are considered valid if they meet the following requirements:

CONTROL + $OD \geq 1,2$

CONTROL - $OD \leq 0,150$

CONTROL - $\bar{Nc} \times 0,5 \leq Ncn \leq \bar{Nc} \times 2,0$ where Ncn is the OD for each Nc run

If any of the OD values for the negative control is beyond the above interval, it should be discarded, and $\bar{Nc}$ is calculated based on the remaining OD values for the negative control. If several OD values for the negative control fail to meet the above requirements, the test is considered invalid and requires a new run.

10.3. Interpretation of results

$IP_{sample} > 1,1$	POSITIVE
$0,9 \leq IP_{sample} \leq 1,1$	BORDERLINE*
$IP_{sample} < 0,9$	NEGATIVE

* Borderline samples are recommended to be re-examined in two wells of the ELISA kit. If the results are again uncertain, a new sample should be selected and analyzed in 2-4 weeks. In case of repeated indeterminate results, such samples shall be considered negative.

Use of the positivity index allows for a semi-quantitative comparative analysis of the level of specific antibodies in the dynamics of paired samples obtained from patients with an interval of 2-4 weeks. It should be borne in mind that IP_{sample} within 1,1 – 7,0 proportional to the content of specific antibodies. If IP_{sample} is higher 7,0, to correctly assess the content of specific antibodies, it is recommended to re-analyze the sample previously diluted 10 times **DIL SAMPLE**. When determining the final result in this case, multiply the value obtained IP_{sample} on the degree of dilution (x10).

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical performance characteristics

Precision of measurement

Intra assay repeatability

The coefficient of variation (CV) for two sera with different levels of specific antibodies was evaluated with 32 repeats on one series of ELISA kits.

Sample No.	OD _{av}	IP _{av}	CV, %
385	1,102	5,1	13,0
381	2,517	11,8	9,1

Inter assay reproducibility

The coefficient of variation (CV) for two sera with different levels of specific antibodies was evaluated for four days in four sets of analysis of 8 repeats in each analysis.

Sample No.	OD _{av}	IP _{av}	CV, %
385	1,126	5,2	14,7
381	2,714	12,1	12,0

Analytical specificity

The test results are not affected by bilirubin at up to 0,21 mg/mL (361,8 µmol/L), haemoglobin at up to 10 mg/mL and triglycerides at up to 10 mg/mL (11,3 mmol/l) present in the sample.

11.2. Diagnostic characteristics

To evaluate clinical sensitivity and specificity of «EQUI HSV1+2 IgG» EKISA kits, commercial sera control panel «Anti-Herpes Simplex Virus Type 1&2 Mixed Titer Performance Panel PTH201» (SeraCare Life Sciences, USA), which consists of 25 characterized samples of serum and human blood plasma was used. In «EQUI HSV1+2 IgG» ELISA kit 20 panel samples were determined as positive and 1 sample was determined as uncertain. Obtained results correspond with the passport data.

Method characteristics in comparison with equal CE marked commercial ELISA kit was studied in target group of pregnant women and donor samples (total 305 samples). For these samples relative sensitivity of «EQUI HSV1+2 IgG» ELISA kit was 99,3%, percent agreement – 97,6%, total prevalence in population – 91,5%, which corresponds to the literature data. Relative specificity studies were performed on 44 sera that did not contain IgG antibodies to Herpes simplex virus Type 1 and 2 (according to the results obtained in a commercial comparison test system). For these samples relative specificity of «EQUI HSV1+2 IgG» ELISA kit was 97,7%.

12. LIMITATIONS OF ASSAY

Positive result in «EQUI HSV1+2 IgG» ELISA kit support presence of specific IgG antibodies to Herpes simplex virus Type 1 and/or 2 that are produced when infected with HSV-1 and/or HSV-2.

For the correct diagnosis of herpes virus infection, it is recommended to conduct a study for the presence of IgG antibodies in paired samples obtained with a blood drive interval of at least two weeks. Detection of specific IgM antibodies (e.g. in «EQUI HSV1+2 IgM» ELISA kit) should also be performed. Interpretation of results should be based on results of complex laboratory tests and clinical manifestations of the disease.

13. DIFFICULTIES THAT CAN OCCUR DURING THE ASSAY PROCEDURE

Possible reasons	Solution
<i>High background in all wells</i>	
Contaminated washer	Clean the washer head and rinse according to the instructions for use

Poor quality or contaminated water	Use purified water with specific resistance $\geq 10 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$
Use of poorly washed glassware	Use chemically clean utensils
Use of chlorinated disinfectants	Do not use chlorine disinfectants
Use of contaminated tips	Use new tips
Increased incubation times or change in the temperature conditions	Adhere to the incubation regime according to the instructions for use
<i>High background in a row of wells</i>	
Repeat application of TMB solution	TMB solution should be applied once
Contamination of the automatic pipette nozzle with conjugate solution	Clean the pipette and dial carefully liquid
Contamination of one of the washer's channel	Clean the flush channel, rinse washer
<i>Received OD of the positive control is below the border value</i>	
One of the reagents (conjugate solution or TMB solution) was not prepared in a correct way or was not added	Re-conduct ELISA, pay attention to the correctness of the introduction of these reagents
Reduced incubation times at any stage	Incubate according to instructions for use
<i>The colour density of the wells fails to meet the obtained optical density value</i>	
This may suggest that the optical beam has been displaced	Check the correct operation of the reader

14. TECHNICAL ASSISTANCE AND CUSTOMER SERVICE

In case of technical problems, you can obtain assistance by contacting the manufacturer.

REFERENCES

1. CDC Fact Sheet - Genital Herpes // <https://www.cdc.gov/std/herpes/stdfact-herpes.htm>.
2. Johnston C. and Corey L. Current Concepts for Genital Herpes Simplex Virus Infection: Diagnostics and Pathogenesis of Genital Tract Shedding // *Clinical Microbiology Reviews*. - 2016. - Vol. 29, No. 1. - P. 149-161.
3. Ho D.W. Field P.R. et al. Detection of immunoglobulin M antibodies to glycoprotein G-2 by western blot (immunoblot) for diagnosis of initial herpes simplex virus type 2 genital infections // *Journal of Clinical Microbiology*. - 1993. - Vol. 31, No. 12. - P. 3157-3164.
4. Nicoll M.P., Proença J.T. and Efsthathiou S. The molecular basis of herpes simplex virus latency // *FEMS Microbiology Reviews*. - 2012. - Vol. 36, No. 3. - P. 684–705.
5. Page J., Taylor J. et al. Is HSV serology useful for the management of first episode genital herpes? // *Sexually Transmitted Infections*. - 2003. - Vol.79. - P. 276-279.
6. Simmons A. Clinical Manifestations and Treatment Considerations of Herpes Simplex Virus Infection // *The Journal of Infectious Diseases*. - 2002. - Vol.186(1). - P. S71–S77.
7. Waggoner-Fountain L. A. and Grossman L. B. Herpes Simplex Virus // *Pediatrics in Review*. - 2004. - Vol. 25, No. 3. - P. 86–93.
8. WHO. Herpes simplex virus // <http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/herpes-simplex-virus>.
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.
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.



Manufacturer



In vitro diagnostic medical device



Catalogue number



Date of manufacture



Use by date



Batch code



Temperature limit



Contains sufficient for <n> tests



Caution



Consult instructions for use



Keep away from sunlight



Mark of compliance with technical regulations

Edition 6, 23.12.2021

For questions and suggestions regarding the ELISA kit contact:



Ekvittestlab LLC

Velyka Vasylkivska St. 114, Kyiv, Ukraine, 03150

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

e-mail: info@equitest.com.ua, www.equitest.com.ua

ASSAY PROCEDURE SCHEME

Keep all reagents for 30 min at temperature 18-25°C before use

Add 90 µl of [PREDIL][SAMPLE] into [PREDIL][PLATE] and 10 µl each of the tested samples and controls
(the color changes from brown to blue)

Add 90 µl of [DIL][SAMPLE] into all wells [STRIPS] plate
(yellow)

Add 10 µl of pre-diluted controls and test samples into the wells:
A1 – [CONTROL][+], B1, C1, D1 – [CONTROL][-],
E1 and other wells – test samples
(change of colour from yellow to green)

Cover strips with an adhesive film, incubate for **30 min at 37°C**

Rinse the wells 5 times with prepared 1:20 (1+19) washing solution TRITON
(300 µl per well)

Add 100 µl of [SOLN][CONJ] into all wells
(violet)

Cover strips with an adhesive film, incubate for **30 min at 37°C**

Rinse the wells 5 times with prepared 1:20 (1+19) washing solution TRITON
(300 µl per well)

Add 100 µl of [SOLN][TMB] into all wells

Incubate for **30 min** in the dark at **18-25°C**

Add 100 µl of [SOLN][STOP] into all wells
(change of colour from blue to yellow)

Measure the optical density (OD) with an ELISA microplate reader at
450/620-695 nm

CALCULATION OF RESULTS

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

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

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

$\overline{Nc}$ - the average value of OD 3x [CONTROL][-]

CO - cut off

IP_{sample} - sample positivity index

INTERPRETATION OF RESULTS

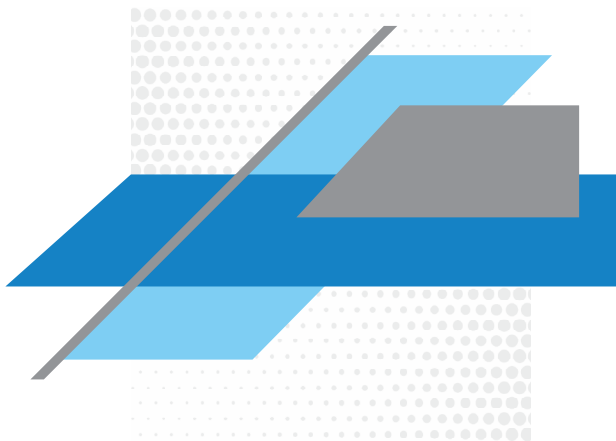
$IP_{sample} > 1,1$	POSITIVE
$0,9 \leq IP_{sample} \leq 1,1$	BORDERLINE
$IP_{sample} < 0,9$	NEGATIVE



HSV1+2 IgM

**ELISA kit for the qualitative detection of IgM
antibodies to herpes simplex virus types 1 and 2**

Instructions for use



IVD

REF
EI-072

Σ 96
tests



EQUI HSV1+2 IgM

ELISA kit for the qualitative detection of IgM antibodies
to herpes simplex virus types 1 and 2

1. INTENDED USE

The «EQUI HSV1+2 IgM» ELISA kit is intended to qualitatively detect IgM antibodies to Herpes simplex virus Type 1 and 2 (HSV-1/2) in human serum or plasma by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in order to diagnose acute herpes virus infection. The testing procedure is designed for both manual arrangements with automatic pipettes and standard equipment, and for automated «open» immunoassay analysers.

Target group: women of childbearing age and pregnant women.

Usage: ELISA kit is used in clinical diagnostic laboratories and other institutions engaged in *in vitro* diagnostics.

2. CLINICAL SIGNIFICANCE

Herpes simplex virus (HSV) causes chronic, lifelong infection with recurrences in humans that occurs worldwide. The herpes simplex virus (HSV) is categorized into 2 types: HSV-1 and HSV-2. HSV-1 is causing oral herpes, HSV-2 causes genital herpes.

HSV belongs to the big *Herpesviridae* family, whose representatives are enveloped, double-stranded DNA viruses. HSV-1 and HSV-2 are similar to each other at the genetic level but differ in antigenic properties (especially in proteins of the outer membrane). An important characteristic of herpesviruses is their ability to persist in cells of the infected organism throughout life. Antibodies to HSV are detected in high concentrations during the whole life, however, they cannot prevent recurrences but only hinder the spread of HSV.

Infection with HSV type 1 (HSV-1) is typically transmitted via oral contact and HSV-2 is mainly sexually transmitted.

Herpes, even asymptomatic, can be detected by virus isolation in cell culture or by PCR testing of viral DNA in body fluids: whole blood, plasma, serum, saliva, cerebrospinal fluid, tears, semen, urine, breast milk etc. Another common method of diagnosis is the detection of specific antibodies to HSV-1/2 antigens. IgM antibodies appear within 7-10 days after primary infection, their titers rise during 1-2 months and then decrease. In some people, specific IgM antibodies can be detected for several months, sometimes up to a year, their titers increase slightly when the virus is reactivated. IgG antibodies begin to appear 3-4 weeks after infection, their titers increase rapidly and remain high throughout life. During reactivation, there may be a slight increase in the titers of specific IgG antibodies. The signs of primary herpes infection are detection of specific IgM antibodies and a fourfold increase in the titers of specific IgG antibodies in paired samples taken with interval of 14-20 days and studied in one analysis.

3. ANALYSIS PRINCIPLE

The procedure of testing for IgM specific antibodies to HSV1/2 in «EQUI HSV1+2 IgM» ELISA kit is based on «IgM trapping» of solid-phase ELISA with a two-stage incubation. Monoclonal antibodies specific to IgM human immunoglobulins are entrapped in the wells. During the first step of incubation of ELISA plate wells with test samples, IgM immunoglobulins (if present in the samples) bind to the monoclonal antibodies on the solid phase. The wells are washed to remove unbound antibodies and have only specific antibody-antibody complexes left. Then, mix of peroxidase conjugates of gG1 and gG2 recombinant antigens (analogues of glycoproteins HSV-1 and HSV-2) is added, which binds to solid-phase immune complexes. Unbound components are removed by washing. Immune complexes are detected by adding a solution of chromogen 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB) with hydrogen peroxide. After 30-minute incubation, the reaction is stopped by adding the stop solution. The optical density (OD) in the wells is determined using a spectrophotometer at 450/620-695 nm. The intensity of the yellow color is proportional to the level of antibodies in the sample.

4. MATERIALS AND EQUIPMENT

4.1. Contents of the ELISA kit

		Microplate
STRIPS	1 x 96 wells	Each plate well is coated with monoclonal antibodies specific for human IgM immunoglobulins. The wells are detachable. After the first opening, store unused strips in the package at 2-8 °C for a maximum of 6 months
		Positive control
CONTROL +	1 x 0,25 ml	Solution of human IgM immunoglobulins crosslinked with monoclonal antibodies, specific for horseradish peroxidase with preservative (pink). Store at 2-8 °C
		Negative control
CONTROL -	1 x 0,6 ml	Negative human serum with a preservative (yellow). Store at 2-8 °C
		Serum dilution solution
DIL SAMPLE	1 x 13 ml	Buffer solution with a milk extract, a detergent and a preservative (violet). Store at 2-8 °C
		Conjugate (11x concentrate)
CONJ 11x	1 x 1,3 ml	11-fold concentrate of recombinant HSV-1 and HSV-2 (gG1 and gG2) antigens conjugate with horseradish peroxidase, with stabilizers (violet). Store at 2-8 °C Dilute the conjugate (11x) at 1:11 with a conjugate dilution solution before use (e. g., 100 µL of concentrate + 1 mL of conjugate dilution solution is enough for 8 wells). Store the diluted solution at 2-8 °C for a maximum of 24 hours

DIL CONJ	1 x 14 ml	Conjugate dilution solution Buffer solution with a detergent and a preservative (yellow). Store at 2-8 °C
SOLN TMB	1 x 13 ml	TMB solution (ready to use) TMB solution, H ₂ O ₂ , a stabilizer, a preservative (colourless). Store at 2-8 °C
TRITON WASH 20x	1 x 50 ml	Washing solution TRITON (20x concentrated) 20-fold phosphate buffer concentrate with Triton X-100 (colourless). Dilute TRITON detergent (20x) at 1:20 with distilled or deionized water (e. g., 5 mL of concentrate + 95 mL of water for 8 wells) before use. Store the diluted solution at 2-8 °C for a maximum of 7 days
SOLN STOP	1 x 13 ml	Stop Solution (ready to use) 0.5 mol H ₂ SO ₄ solution (colourless). Store at 2-8 °C

The ELISA kit also includes adhesive films (2 items), sample application plan (1 item), checklist, and instruction for use.

4.2. Optional reagents, materials and equipment

Automatic single and multichannel pipettes 10–1000 µL, tips, volumetric laboratory glassware (10–1,000 mL), deionized or distilled water, thermostat at 37 °C, automatic or semi-automatic plate washer, spectrophotometer (reader) for microplates at 450/620-695 nm, appropriate containers for potentially contaminated waste, timer, filter paper, disposable powder-free gloves, disinfectants.

5. PRECAUTIONS AND SAFETY

5.1. Precautions

Be sure to read the instructions for use carefully before the test. The validity of the test results depends on strict following of the test procedure.

- do not use the ELISA kit components after the expiry date;
- do not use for analysis or mix components of different batches, components of kits for different nosologies, or reagents from other manufacturers with the «EQUI HSV1+2 IgM» ELISA kit;
- do not freeze the ELISA kit or its contents;
- after using a reagent, close each vial with its cap;
- when washing, control filling and complete aspiration of solution from the wells;
- use a new pipette tip each time you add samples or reagents;
- prevent direct sunlight from reaching the reagents from the ELISA kit;
- **SOLN|TMB** solution must be colourless before use. Do not use the solution if its colour is blue or yellow. Avoid contact of **SOLN|TMB** with metals or metal ions. Use only clean glassware thoroughly rinsed with distilled water;
- do not use reagents with colour not in line with para. 4.1;
- under no circumstances should the same glassware be used for conjugate solution and **SOLN|TMB**;

- do not evaluate the test results visually (without a reader);
- any optional equipment that is in direct contact with biological material or kit components should be considered contaminated and requires cleaning and decontamination;
- the ELISA kit includes materials for 96 tests. Dispose of the used components as well as any remaining unused components.

5.2. Safety requirements

- all reagents in the ELISA kit are for laboratory professional use for *in vitro* diagnosis only and may only be used by qualified personnel;
- conduct the tests in disposable powder-free gloves and goggles only;
- do not eat, drink, smoke, or apply make-up in the test room;
- do not mouth-pipette the solutions;
- controls from the «EQUI HSV1+2 IgM» ELISA kit have been tested and found to be for anti-HIV1/2, anti-HCV and anti-*Treponema pallidum* antibodies and HBsAg negative; however, controls and test samples should be handled as potentially hazardous infectious materials;
- some of the kit components contain low concentrations of harmful substances and can damage skin or mucosa. In case of contact of [SOLN|TMB], [SOLN|STOP] and conjugate solution with mucous membranes or skin, immediately wash the affected area with plenty of water;
- in case of spillage of acid-free solutions, e. g. sera, treat the surface with a disinfectant solution and then wipe dry with filter paper. Otherwise first neutralize acid with sodium bicarbonate solution and then wipe the surface dry as described above.

5.3. Waste inactivation and disposal

- the liquid waste must be inactivated, for example, with hydrogen peroxide solution at the final concentration of 6% for 3 hours at room temperature, or with sodium hypochlorite at the final concentration of 5% for 30 minutes, or with other approved disinfectants;
- the solid waste must be inactivated by autoclaving at a temperature not less than 132°C;
- do not autoclave the solutions that contain sodium azide or sodium hypochlorite;
- disposal of inactivated waste must be conducted due to national laws and regulations.

6. STORAGE AND STABILITY

ELISA kit is stable up to the expiry date stated on the label when stored at 2-8°C. The kit should be transported at 2-8°C. Single transportation at a temperature up to 23°C for two days is possible.

7. SAMPLE COLLECTION, TRANSPORTATION AND STORAGE GUIDELINES

Collect blood from the vein into the sterile test tube. Test tube must be marked with

patient ID and date of sample collecting. Blood before serum separation can be stored at 2-8 °C for 24 hours, avoiding freezing.

Serum or plasma can be stored at 2-8 °C for maximum 3 days. Frozen serum can be stored for longer periods of time at -20 °C or -70 °C. Thaw frozen samples and keep them at room temperature for 30 minutes before use. After thawing, the stir samples to achieve homogeneity. Avoid repeated freezing-thawing cycles for test samples. If serum (or plasma) is turbid, remove insoluble inclusions by centrifugation at 3000 rpm for 10-15 minutes. Do not use serum samples with hyperlipidemia, hemolysis, and bacterial growth.

Transport serum samples in insulated containers. To do that, put closed labelled tubes in a plastic bag, tightly seal it and place in the centre of an insulated container. Put the frozen cold packs on the bottom, along the side walls of the insulated container and on top of the serum samples.

8. REAGENT PREPARATION

NOTE! It is very important to keep all ELISA kit components for at least 30 min at room temperature 18-25 °C before the assay!

8.1. Microplate preparation

To prevent water condensation in the wells, keep the **STRIPS** for 30 minutes at a room temperature before opening. Open the vacuum pack, detach the appropriate number of wells, and carefully pack the remaining wells with a desiccant and store tightly zip-locked at 2-8 °C. Storing the packed plate this way ensures its stability for 6 months.

8.2. Washing solution preparation

To prepare detergent, dilute **TRITON|WASH|20x** at 1:20 (1+19) with distilled or deionized water and stir. E. g., 5 mL of concentrate + 95 mL of water, which is enough for 8 wells. If there are crystals present in the detergent concentrate, heat the vial at 37 °C until the crystals dissolve completely (15–20 minutes). Store the diluted solution at 2-8 °C for a maximum of 7 days.

8.3. Conjugate solution preparation

Prepare conjugate working dilution as follows: dilute **CONJ|11x** (violet) in a clean vial with **DIL|CONJ** (yellow) solution at the ratio of 1:11 (i. e. 1+10); the solution turns green. For example, to fill 8 test wells, add 100 µL of **CONJ|11x**. The working dilution of conjugate solution remains stable for 24 hours if stored at 2-8 °C.

9. ASSAY PROCEDURE

9.1. Prepare the required number of wells for analysis (five wells for calibrators and the required number for test samples), insert them into the frame of the ELISA plate. Be sure to include calibrator wells in each test run.

9.2. Fill in the sample application plan.

9.3. Prepare the detergent as per para. 8.2.

9.4. Add 90 µL of **DIL|SAMPLE** into each plate well.

9.5. Add 10 µL of controls and test samples into the wells:

CONTROL+ – into well A1,
CONTROL- – into wells B1, C1, D1,

and test samples into the remaining wells.

At the time of adding, the solution changes its colour from violet to blue.
Pipette the mix in the wells carefully to avoid foaming.

- 9.6. Cover the strips up with adhesive film and incubate for **30 minutes at 37 °C**.
- 9.7. Remove and discard the adhesive film and wash all wells 5 times with automatic washer or 8-channel pipette as follows:
- aspirate the content of all wells into a liquid waste container;
 - add a minimum of 300 µl of diluted washing solution to each well, soak each well for 30 seconds;
 - aspirate the content of all wells again. The residual volume after every aspiration should be less than 5 µl;
 - repeat the washing step 4 more times;
 - after the final aspiration, eliminate extra moisture by tapping the plate against a piece of filter paper.
- 9.8. Prepare the conjugate solution as per para. 8.3.
- 9.9. Add 100 µL of conjugate solution into each well. Cover the strips with a new piece of adhesive film and incubate for **30 minutes** at a **room temperature 18-25°C**.
- 9.10. Following incubation, remove the film carefully and wash the wells five times as described in para. 9.7.
- 9.11. Add 100 µL of **SOLN|TMB** into the wells, do not touch the bottom and the walls of the plate wells.
- 9.12. Incubate the strips for **30 minutes** in a dark place at a **room temperature of 18-25 °C**. Do not use adhesive film at this stage.
- 9.13. Add 100 µL of **SOLN|STOP** into each strip well to stop the enzymatic reaction; adhere to the same sequence of actions as when adding **SOLN|TMB**. At the time of adding, the solution colour changes from blue to yellow, and clear solution slightly changes its shade.
- 9.14. Measure the optical density (OD) of the wells at 450/620-695 nm wavelength using an ELISA microplate reader within 5 minutes after stopping the reaction. Pay attention to the cleanness of the plate bottom and the absence of bubbles in the wells before reading.

*Measurement at the single wavelength of 450 nm is possible, in that case, it is needed to leave one well for blank (only **SOLN|TMB** and **SOLN|STOP** must be added in blank well).*

10. CALCULATION AND INTERPRETATION OF RESULTS

10.1. Calculation of results

Calculate the average OD for the negative control ($\bar{Nc}$), Cut off (CO) and a sample positivity index (IP_{sample}).

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

$$IP_{\text{sample}} = OD_{\text{sample}} / CO, \text{ where } OD_{\text{sample}} \text{ is the OD sample}$$

10.2. Quality control (assay validation)

The test results are considered valid if they meet the following requirements:

$$\boxed{\text{CONTROL}+} \quad OD \geq 1,2$$

$$\boxed{\text{CONTROL}-} \quad OD \leq 0,150$$

$$\boxed{\text{CONTROL}-} \quad \bar{Nc} \times 0,5 \leq Ncn \leq \bar{Nc} \times 2,0 \quad \text{where } Ncn \text{ is the OD for each } Nc \text{ run}$$

If any of the OD values for the negative control is beyond the above interval, it should be discarded, and $\bar{Nc}$ is calculated based on the remaining OD values for the negative control. If several OD values for the negative control fail to meet the above requirements, the test is considered invalid and requires a new run.

10.3. Interpretation of results

$$\begin{array}{ll} IP_{\text{sample}} > 1,1 & \text{POSITIVE} \\ 0,9 \leq IP_{\text{sample}} \leq 1,1 & \text{BORDERLINE*} \\ IP_{\text{sample}} < 0,9 & \text{NEGATIVE} \end{array}$$

* Borderline samples are recommended to be re-examined in two wells of the ELISA kit. If the results are again uncertain, a new sample should be selected and analyzed in 2-4 weeks. In case of repeated indeterminate results, such samples shall be considered negative.

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical performance characteristics

Precision of measurement

Intra assay repeatability

The coefficient of variation (CV) for two sera with different levels of specific antibodies was evaluated with 32 repeats on one series of ELISA kits.

Sample No.	OD _{av}	IP _{av}	CV, %
637	0,769	3,1	4,0
1487	1,258	5,1	4,8

Inter assay reproducibility

The coefficient of variation (CV) for two sera with different levels of specific antibodies was evaluated for four days in four sets of analysis of 8 repeats in each analysis.

Sample No.	OD _{av}	IP _{av}	CV, %
637	0,726	3,1	7,3
1487	1,180	5,0	7,5

Analytical specificity

The test results are not affected by bilirubin at up to 0.21 mg/mL (361.8 μmol/L), haemoglobin at up to 10 mg/mL and triglycerides at up to 10 mg/mL (11.3 mmol/l) present in the sample.

11.2. Diagnostic characteristics

To evaluate clinical sensitivity and specificity of «EQUI HSV1+2 IgM» EKISA kits, commercial sera control panel «Anti-Herpes Simplex Virus Type 1&2 Mixed Titer Performance Panel PTH201» (SeraCare Life Sciences, USA), which consists of 25 characterized samples of serum and human blood plasma was used. In «EQUI HSV1+2 IgM» ELISA kit 7 panel samples were determined as positive. Obtained results correspond with the passport data.

Method characteristics in comparison with equal CE marked commercial ELISA kit was studied in target group of pregnant women (124 samples). For these samples relative specificity of «EQUI HSV1+2 IgM» ELISA kit was 97.4%, percent agreement – 97.4%. Relative sensitivity studies were performed on 35 sera that contained IgM antibodies to Herpes simplex virus Type 1 and 2 (according to the results obtained in a commercial comparison test system). For these samples relative sensitivity of «EQUI HSV1+2 IgM» ELISA kit was 94.3%.

12. LIMITATIONS OF ASSAY

Positive result in «EQUI HSV1+2 IgM» ELISA kit support presence of specific IgM antibodies to Herpes simplex virus Type 1 and/or Type 2.

HSV-specific IgM antibodies are present during acute herpes virus infection. Antibodies of this class are not always evidence of primary herpes virus infection. Specific IgM antibodies may also be synthesized upon relapse. To differentiate primary herpes virus infection and past infection, it is recommended to analyze sample for specific IgG antibodies (for example, in «EQUI HSV1+2 IgG» ELISA kit). If the sample is obtained after a short amounts of time after infection, IgM class antibodies may not be detected.

If the sample is obtained in a short time after infection, specific IgM antibodies may not be detected.

Results obtained from immunosuppressed individuals should be interpreted with caution.

Final diagnosis can't be established only based on the results of a serological test. Interpretation of results should be based on results of complex laboratory tests and clinical manifestations of the disease.

13. DIFFICULTIES THAT CAN OCCUR DURING THE ASSAY PROCEDURE

Possible reasons	Solution
<i>High background in all wells</i>	
Contaminated washer	Clean the washer head and rinse according to the instructions for use
Poor quality or contaminated water	Use purified water with specific resistance $\geq 10 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$
Use of poorly washed glassware	Use chemically clean utensils
Use of chlorinated disinfectants	Do not use chlorine disinfectants

Use of contaminated tips	Use new tips
Increased incubation times or change in the temperature conditions	Adhere to the incubation regime according to the instructions for use
<i>High background in a row of wells</i>	
Repeat application of TMB solution	TMB solution should be applied once
Contamination of the automatic pipette nozzle with conjugate solution	Clean the pipette and dial carefully liquid
Contamination of one of the washer's channel	Clean the flush channel, rinse washer
<i>Received OD of the positive control is below the border value</i>	
One of the reagents (conjugate solution or TMB solution) was not prepared in a correct way or was not added	Re-conduct ELISA, pay attention to the correctness of the introduction of these reagents
Reduced incubation times at any stage	Incubate according to instructions for use
<i>The colour density of the wells fails to meet the obtained optical density value</i>	
This may suggest that the optical beam has been displaced	Check the correct operation of the reader

14. TECHNICAL ASSISTANCE AND CUSTOMER SERVICE

In case of technical problems, you can obtain assistance by contacting the manufacturer.

REFERENCES

1. CDC Fact Sheet - Genital Herpes // <https://www.cdc.gov/std/herpes/stdfact-herpes.htm>.
2. Johnston C. and Corey L. Current Concepts for Genital Herpes Simplex Virus Infection: Diagnostics and Pathogenesis of Genital Tract Shedding // *Clinical Microbiology Reviews*. - 2016. - Vol. 29, No. 1. - P. 149-161.
3. Ho D.W. Field P.R. et al. Detection of immunoglobulin M antibodies to glycoprotein G-2 by western blot (immunoblot) for diagnosis of initial herpes simplex virus type 2 genital infections // *Journal of Clinical Microbiology*. - 1993. - Vol. 31, No. 12. - P. 3157-3164.
4. Nicoll M.P., Proença J.T. and Efsthathiou S. The molecular basis of herpes simplex virus latency // *FEMS Microbiology Reviews*. - 2012. - Vol. 36, No. 3. - P. 684–705.
5. Page J., Taylor J. et al. Is HSV serology useful for the management of first episode genital herpes? // *Sexually Transmitted Infections*. - 2003. - Vol.79. - P. 276-279.
6. Simmons A. Clinical Manifestations and Treatment Considerations of Herpes Simplex Virus Infection // *The Journal of Infectious Diseases*. - 2002. - Vol.186(1). - P. S71–S77.
7. Waggoner-Fountain L. A. and Grossman L. B. Herpes Simplex Virus // *Pediatrics in Review*. - 2004. - Vol. 25, No. 3. - P. 86–93.
8. WHO. Herpes simplex virus // <http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/herpes-simplex-virus>.
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.
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.



Manufacturer



In vitro diagnostic medical device



Catalogue number



Date of manufacture



Use by date



Batch code



Temperature limit



Contains sufficient for <n> tests



Caution



Consult instructions for use



Keep away from sunlight



Mark of compliance with technical regulations

Edition 6, 08.12.2021

For questions and suggestions regarding the ELISA kit contact:



Ekvittestlab LLC

Velyka Vasylkivska St. 114, Kyiv, Ukraine, 03150

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

e-mail: info@equitest.com.ua, www.equitest.com.ua

ASSAY PROCEDURE SCHEME

Keep all reagents for 30 min at temperature 18-25°C before use

Add 90 µl of [DIL|SAMPLE] into all wells [STRIPS] plate (violet)

Add 10 µl of controls and samples into the wells:
A1 – [CONTROL|+], B1, C1, D1 – [CONTROL|-],
E1 and other wells – test samples
(change of colour from violet to blue)

Cover strips with an adhesive film, incubate for **30 min at 37°C**

Rinse the wells 5 times with prepared 1:20 (1+19) washing solution TRITON (300 µl per well)

Add 100 µl of the prepared 1:11 (1+10) conjugate solution to the wells of the strips (green)

Cover strips with an adhesive film, incubate for **30 min at 18-25°C**

Rinse the wells 5 times with prepared 1:20 (1+19) washing solution TRITON (300 µl per well)

Add 100 µl of [SOLN|TMB] into all wells

Incubate for **30 min** in the dark at **18-25°C**

Add 100 µl of [SOLN|STOP] into all wells
(change of colour from blue to yellow)

Measure the optical density (OD) with an ELISA microplate reader at 450/620-695 nm

CALCULATION OF RESULTS

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

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

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

$\bar{Nc}$ - the average value of OD 3-x [CONTROL|-]

CO - Cut off

IP_{sample} - sample positivity index

INTERPRETATION OF RESULTS

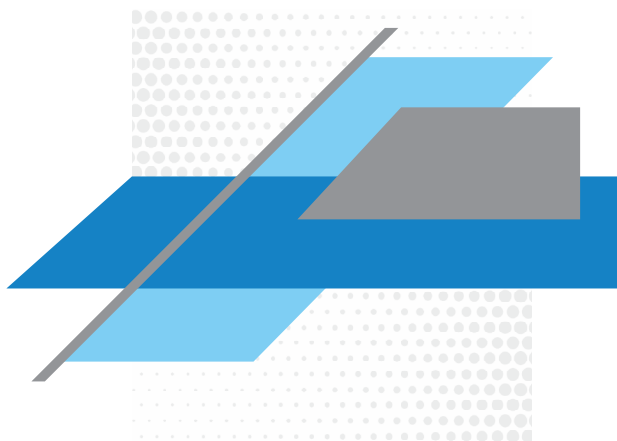
$IP_{sample} > 1,1$	POSITIVE
$0,9 \leq IP_{sample} \leq 1,1$	BORDERLINE
$IP_{sample} < 0,9$	NEGATIVE



Toxocara canis IgG

ИФА-набор для качественного обнаружения
антител класса IgG к *Toxocara canis*

Инструкция по применению



IVD

REF
EI-603

Σ 96
анализов



CE

EQUI *Toxocara canis* IgG

ИФА-набор для качественного обнаружения антител
класса IgG к *Toxocara canis*

1. НАЗНАЧЕНИЕ

ИФА-набор «EQUI *Toxocara canis* IgG» предназначен для качественного обнаружения антител класса IgG к *Toxocara canis* в сыворотке или плазме крови человека методом иммуноферментного анализа (ИФА) с целью диагностики токсокароза. Процедура анализа рассчитана как для ручной постановки с автоматическими пипетками и стандартным оборудованием, так и автоматического иммуноферментного анализатора «открытого» типа.

Целевая группа: дети, владельцы домашних животных, сельские жители, дачники, лесники, ветеринары.

Применение: ИФА-набор применяется в клинических диагностических лабораториях и других учреждениях, работающих в области *in vitro* диагностики.

2. КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Токсокароз – распространенное заболевание, вызываемое гельминтами рода *Toxocara* и передаваемое человеку от животных. Распространен токсокароз по всему земному шару, однако чаще встречается в неблагополучных регионах с плохими гигиеническими условиями. В некоторых районах до 90% щенков и до 10% взрослых домашних собак заражены токсокарами. Риск заражения выше для владельцев кошек и собак и детей через игры в песочницах и на площадках, загрязненных фекалиями животных.

Токсокары – это круглые черви, относящиеся к типу *Nematoda*. Патологии у человека вызывают в основном *Toxocara canis*, поражающие представителей семейства собачьих, реже – *Toxocara cati*, преимущественно паразитирующих у кошачьих. В организме инфицированных животных взрослые токсокары достигают размеров 5-15 см, здесь же происходит их половое размножение. Самки гельминтов откладывают около 200 тысяч яиц в сутки, которые выделяются во внешнюю среду с калом, где при благоприятных условиях через несколько недель созревания в почве становятся инвазионными – внутри них развивается личинка. В организмах паразитических хозяев (мыши, птицы, коровы, свиньи и т.п.) проходит развитие личинки без размножения, при неблагоприятных условиях личинки инкапсулируются и могут сохранять жизнеспособность длительное время (до 10 лет). Они также могут служить источником инвазии.

Заражение человека происходит фекально-оральным путем при проглатывании зрелых яиц *Toxocara canis* с загрязненными почвами овощами, фруктами, ягодами, грязными руками или потреблением мяса паразитических хозяев. В тонком кишечнике личинки выходят из оболочек и проникают через стенки кишок в кровеносное русло. С кровью личинки

мигрируют в другие органы и ткани: печени, легкие, мышцы, глаза, ЦНС и т.д. У большинства инфицированных токсокароз протекает бессимптомно. Клинические проявления этого заболевания связаны с местом миграции личинок и зависят от интенсивности инвазии и возраста хозяина. Выделяют висцеральный синдром *larva migrans* при поражении личинками *Toxocara canis* внутренних органов и глазного токсокароза, при котором происходит поражение глаза зрительного нерва. Симптомы висцерального токсокароза: лихорадка, усталость, боли в животе, анорексия, гепатомегалия, кашель и прочее. В тяжелых случаях может развиваться сердечная и дыхательная недостаточность. Из-за сильного иммунного ответа на антигены личинок развиваются реакции гиперчувствительности немедленного и замедленного типа. Грануломатоз при глазном токсокарозе может приводить к отслоению сетчатки и потере зрения.

Диагностика токсокароза осложнена отсутствием специфических проявлений заболевания даже при интенсивной инвазии. Кроме того, человек является промежуточным хозяином *Toxocara canis* и не выделяет паразитов во внешнюю среду, а локализацию личинок в отдельных органах сложно определить неинвазивными методами. В анализе крови может наблюдаться эозинофилия, однако для выявления токсокароза чаще всего используются серологические тесты (реакция иммунофлюоресценции, ИФА и иммуноблотинг). Выявление специфических антител класса IgG к антигенам личинок *Toxocara canis* может свидетельствовать об имеющейся или перенесенной инвазии. Высокий титр антител класса IgE также является признаком активного инвазионного процесса. Однако для постановки диагноза используют совокупность клинических проявлений и лабораторных показателей.

3. ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Выявление антител класса IgG к *Toxocara canis* в ИФА-наборе «EQUI Toxocara canis IgG» базируется на принципе «непрямого» твердофазного ИФА в двухэтапной инкубации. В лунках планшета засорбированы антигены личинок *Toxocara canis*. Во время первого этапа инкубации исследуемых образцов в лунках планшета ИФА специфические антитела к *Toxocara canis*, 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 конъюгат антивидовых анти-IgG моноклональных антител с пероксидазой хрена, который связывается с иммунными комплексами на твердой фазе. Несвязанные компоненты удаляются при отмывании. Комплексы антиген-антитело 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 антител в образце.

4. МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

4.1. Состав набора

		Планшет ИФА
STRIPS	1 x 96 лунок	В лунках планшета засорбированы антигены личинок <i>Toxocara canis</i> . 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 0,25 ml	Раствор конъюгированных специфических моноклональных антител с консервантом (розовый). Хранить при температуре 2-8°C
		Негативный контроль
CONTROL -	1 x 0,6 ml	Негативная сыворотка крови человека с консервантом (желтый). Хранить при температуре 2-8°C
		Раствор для разведения сывороток
DIL SAMPLE	1 x 13 ml	Буферный раствор с экстрактом молока, детергентом и консервантом (коричневый). Хранить при температуре 2-8°C
		Раствор конъюгата (готов к использованию)
SOLN CONJ	1 x 13 ml	Буферный раствор моноклональных антител к IgG человека, конъюгированный с пероксидазой хрена, со стабилизаторами и консервантом (зеленый). Хранить при температуре 2-8°C
		Раствор ТМБ (готов к использованию)
SOLN TMB	1 x 13 ml	Раствор ТМБ, H ₂ O ₂ , 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 мл концентрата + 95 мл 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 ₂ SO ₄ (бесцветный). Хранить при температуре 2-8°C

В состав набора 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, 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 Toxosara canis IgG»;
- 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 Toxocara canis IgG» протестированы и признаны негативными на HBsAg и антитела к ВИЧ1/2, ВГС, *Treponema pallidum*, однако обращаться с контролями 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 [SOLN|CONJ] 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, затем вытереть досуха фильтровальной бумагой. В противном случае кислоту сначала нужно 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 промывочного раствора 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 90 µl [DIL|SAMPLE].
- 9.5. Внесите в лунки по 10 µl контролей и исследуемых образцов:
[CONTROL|+] – в лунку A1,
[CONTROL|-] – в лунки B1, C1, D1,
в остальные лунки – исследуемые образцы.
При внесении 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 пять раз;
– после последней аспирации избавьтесь от лишней влаги, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге.
- 9.8. Внесите в лунки по 100 µl [SOLN|CONJ]. Стрипы накройте новой клейкой пленкой и инкубируйте в течение 30 минут при 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 µl [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 µl [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 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) и индекс позитивности образца (IP_{sample}).

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

$$IP_{sample} = OD_{sample}/CO, \text{ где } OD_{sample} - \text{ОП образца}$$

10.2. Контроль достоверности результатов анализа

Данные теста считаются достоверными, если они отвечают следующим требованиям:

$$[CONTROL|+] \quad ОП \geq 1,0$$

$$[CONTROL|-] \quad ОП \leq 0,150$$

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

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

$$\begin{array}{ll} IP_{sample} > 1,1 & \text{ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ} \\ 0,9 \leq IP_{sample} \leq 1,1 & \text{НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ*} \\ IP_{sample} < 0,9 & \text{ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ} \end{array}$$

* Неопределенные образцы рекомендуется исследовать повторно в двух лунках набора ИФА. Если результаты снова будут в пределах неопределенных, следует провести отбор и анализ нового образца через 2-4 недели. В случае повторного получения неопределенных результатов такие образцы считать отрицательными.

11. ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

11.1. Аналитические характеристики

Прецизионность

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

Коэффициент вариации (CV) для троих сывороток с разным уровнем специфических антител оценивали в 24 повторах одной серии ИФА-наборов.

№ сыворотки	ОП _{ср}	IP _{ср}	CV, %
669	0,927	2,81	4,8
544	1,503	4,56	1,4
666	1,694	5,14	4,5

Воспроизводимость результатов между разными постановками анализа (Inter assay reproducibility)

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

№ сыворотки	ОП _{ср}	IP _{ср}	CV, %
669	1,016	3,04	4,7
544	1,516	4,54	1,9
666	1,683	5,04	4,1

Аналитическая специфичность

На результат анализа не влияет наличие в образце билирубина в концентрации до 0,21 mg/ml (361,8 μ 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 оценки диагностических характеристик ИФА-наборов «EQUI *Toxocara canis* IgG» использовали 78 образцов сывороток, полученных от пациентов с клиническими симптомами, характерными для токсокароза, и 60 образцов сывороток пациентов без клинических проявлений (сероотрицательных относительно *Toxocara canis*). Клиническая чувствительность ИФА-наборов «EQUI *Toxocara canis* IgG» составила 98,7%, клиническая специфичность – 96,7%.

Исследования характеристик метода по сравнению с аналогичным коммерческим ИФА-набором проводили на целевой группе детей (160 образцов) и выборке доноров (298 образцов). Для выборки сывороток детей относительная специфичность ИФА-наборов «EQUI *Toxocara canis* IgG» была определена на уровне 99,28%, а процент совпадения составил 97,45%. Для выборки образцов сывороток крови доноров относительная чувствительность составляла 89,19%, относительная специфичность – 93,55%, а процент совпадения – 91,73%.

12. ОГРАНИЧЕНИЕ АНАЛИЗА

Положительный результат в ИФА-наборе «EQUI *Toxocara canis* IgG» является свидетельством наличия у пациента антител класса IgG, специфичных к *Toxocara canis*. Наличие антител этого класса у новорожденных не является подтверждением инвазии *Toxocara canis*.

Неопределенные результаты могут свидетельствовать об инвазии *Toxocara canis* в анамнезе.

Негативный результат в ИФА-наборе «EQUI *Toxocara canis* IgG» 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 исходя из результатов серологического теста. При определении 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. ТРУДНОСТИ, КОТОРЫЕ МОГУТ ВОЗНИКНУТЬ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ИФА

Возможные причины	Способы решения
<i>Высокий фон в лунках всего планшета</i>	
Загрязненного промывателя	Очистить промыватель и промойте его в соответствии с инструкцией
Низкое качество или загрязненная вода	Использовать очищенную воду с удельным сопротивлением $\geq 10 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$
Использование плохо помытой посуды	Использовать химически чистую посуду
Использование моющих средств, содержащих хлор	Не использовать дезинфицирующие средства, содержащие хлор
Использование загрязненных наконечников	Использовать только новые наконечники
Увеличение времени инкубации или изменение температурного режима	Соблюдать режим инкубации в соответствии с инструкцией по применению
<i>Высокий фон в отдельных рядах</i>	
Повторное внесение раствора ТМБ	Раствор ТМБ следует вносить один раз
Загрязнение конуса автоматической пипетки раствором конъюгата	Прочистить пипетку и осторожно набирать жидкость
Загрязнение одного из каналов промывателя	Прочистить канал промывателя, промыть вошер

<i>Полученное значение ОП положительного контроля ниже установленной границы</i>	
Неправильно приготовлен или не внесен один из реагентов (раствор конъюгата или раствор ТМБ)	Повторно провести ИФА анализ, обратить внимание на правильность внесения этих реагентов
Сокращено время инкубации на одном из этапов	Проводить инкубацию в соответствии с инструкцией по применению
<i>Интенсивность окраски лунок не соответствует полученной оптической плотности</i>	
Высокая вероятность смещения оптического луча	Проверить корректность работы ридера

14. ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОМОЩЬ И ОБСЛУЖИВАНИЕ КЛИЕНТОВ

В случае возникновения технических проблем необходимо обратиться к производителю.

ЛИТЕРАТУРА

1. Cobzaru R. G., Rîpă C. et al. Correlation between asthma and *Toxocara canis* infection // *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi*. - 2012. - Vol. 116(3). - P. 727–730.
2. Despommier D. Toxocariasis: Clinical Aspects, Epidemiology, Medical Ecology, and Molecular Aspects // *Clinical Microbiology Reviews*. - 2003. - Vol. 16, No. 2. - P. 265–272.
3. Havasiová-Reiterová K., Tomašovicová O. and Dubinský P. Effect of various doses of infective *Toxocara canis* and *Toxocara cati* eggs on the humoral response and distribution of larvae in mice // *Parasitology Research*. - 1995. - Vol. 81. - P. 13–17.
4. Iddawela D., Ehambaram K., and Bandara P. Prevalence of *Toxocara* antibodies among patients clinically suspected to have ocular toxocariasis: A retrospective descriptive study in Sri Lanka // *BMC Ophthalmology*. - 2017. - Vol. 17. - 6 p.
5. Maizels R. M. *Toxocara canis*: Molecular basis of immune recognition and evasion // *Veterinary Parasitology*. - 2013. - Vol. 193 (4). - P. 365–374.
6. Magnaval J.-F., Glickman L. T. et al. Highlights of human toxocariasis // *Korean Journal of Parasitology*. - 2001. - Vol. 39 (1). - P. 1–11.
7. McGuinness S. L., Leder K. Global Burden of Toxocariasis: A Common Neglected Infection of Poverty // *Current Tropical Medicine Reports*. - 2014. - Vol. 1 (1). - P. 52–61.
8. Núñez C. R., Mendoza Martínez G. D. et al. Prevalence and Risk Factors Associated with *Toxocara canis* Infection in Children // *The Scientific World Journal*. - Volume 2013. - Article ID 572089. - 4 p.
9. Okulewicz A., Perec-Matysiak A. et al. *Toxocara canis*, *Toxocara cati* and *Toxascaris leonina* in wild and domestic carnivores // *Helminthologia*. - 2012. - Vol. 49. - P. 3–10.
10. 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.
11. Закон України «Про відходи» // *Відомості Верховної Ради України*. - 1998. - №36-37.
12. Наказ МОЗ України №325 від 08.06.2015 «Про затвердження Державних санітарно-протиепідемічних правил і норм щодо поводження з медичними відходами».
13. Постанова КМУ від 02 жовтня 2013р. №754 «Про затвердження технічного регламенту щодо медичних виробів для діагностики in vitro».
14. 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
15. 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



Уполномоченный представитель на территории ЕС



Медицинское изделие для диагностики *in vitro*



Номер по каталогу



Дата изготовления



Использовать до



Код партии



Температурное ограничение



Содержит достаточно для (n-) испытаний



Предостережение, ознакомиться с сопроводительными документами



Нестерильно



Ознакомление с инструкцией по применению



Беречь от прямых солнечных лучей



Хранить в сухом месте



Знак соответствия техническим регламентам



Знак соответствия требованиям безопасности ЕС

Редакция 8 от 04.04.2022г.

С вопросами и пожеланиями по работе набора обращайтесь к производителю:



ООО «Эквипестлаб»

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, www.equitest.com.ua



Obelis s.a.

Bd Général Wahis 53
1030 Brussels
Belgium
Tel: +(32)2 732-59-54
Fax: +(32)2 732-60-03
mail@obelis.net

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 10 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) промывным раствором
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) 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)

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

УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

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

$$CO = \bar{Nc} + 0,3;$$

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

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

CO - Уровень граничного значения (Cut off)

IP_{sample} - Индекс позитивности образца

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

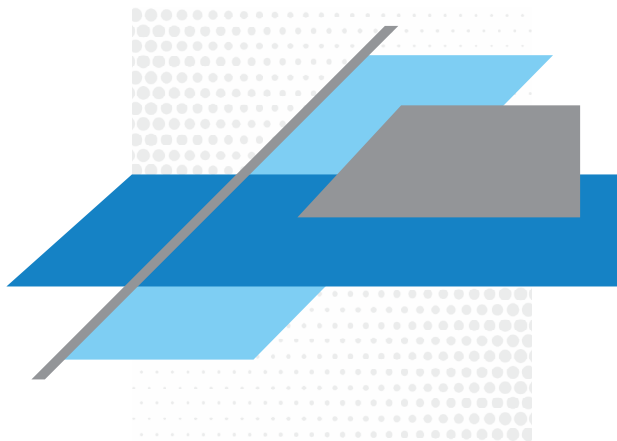
$IP_{sample} > 1,1$	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ
$0,9 \leq IP_{sample} \leq 1,1$	НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ
$IP_{sample} < 0,9$	ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ



Toxoplasma gondii IgG

ИФА-набор для качественного определения
антител класса IgG к *Toxoplasma gondii*

Инструкция по применению



IVD

REF
EI-041

Σ 96
анализов


UA.TR.130

EQUI *Toxoplasma gondii* IgG

ИФА-набор для количественного определения
антител класса IgG к *Toxoplasma gondii*

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор «EQUI *Toxoplasma gondii* IgG» предназначен для количественного определения антител класса IgG к *Toxoplasma gondii* в сыворотке или плазме крови человека методом иммуноферментного анализа (ИФА) с целью диагностики токсоплазмоза и оценки иммунного статуса. Процедура анализа рассчитана как для ручной постановки с автоматическими пипетками и стандартным оборудованием, так и для автоматического иммуноферментного анализатора открытого типа.

Целевая группа: женщины детородного возраста, беременные женщины и новорожденные.

Применение: ИФА-набор применяется в клинических диагностических лабораториях и других учреждениях, работающих в области *in vitro* диагностики.

2. КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Токсоплазмоз – это паразитарное заболевание человека и животных, которое особенно опасно для беременных из-за развития сильных поражений плода. Болезнь вызывают одноклеточные простейшие вида *Toxoplasma gondii*.

T. gondii – это внутриклеточный облигатный паразит, единственный описанный представитель рода *Toxoplasma*. Жизненный цикл токсоплазм является сложным, с чередованием бесполого и полового размножения в разных хозяевах. Токсоплазмоз может быть врожденным и приобретенным, который, в свою очередь, имеет острую и хроническую форму.

Из-за вероятности серьезных последствий для беременных и лиц с ослабленным иммунитетом, при отсутствии четких клинических проявлений заболевания для диагностики токсоплазмоза широко применяются лабораторные методы. Прямая микроскопия мазка, полимеразная цепная реакция (ПЦР) и другие методы, позволяющие выявить *T. gondii*, не дают четких представлений о давности инфицирования или стадии заболевания. Для диагностики и дифференциации острого и хронического токсоплазмоза оптимальным является исследование наличия и avidности специфических антител к *T. gondii* методом иммуноферментного анализа.

Специфические антитела класса IgM к *T. gondii* начинают выявляться в крови с пятого дня после инфицирования, их концентрация достигает своего максимума через 1-2 месяца, после чего постепенно снижается. Как правило, через 1-2 года после первого инфицирования антитела IgM к токсоплазмам перестают определяться. Специфические антитела класса IgG появляются на неделю позже специфических IgM и достигают пиковых концентраций через 3-6 месяцев от начала острой инфекции. Более чем двукратный рост титров специфических антител класса IgG за 2-4 недели может указывать

на первичную инфекцию или реактивацию хронического токсоплазмоза. Обычно антитела класса IgG к *T. gondii* обнаруживаются в крови в течение всей жизни и являются индикатором латентного токсоплазмоза. Исследование avidности (родства антител с антигеном) специфических IgG позволяет отличить первичный токсоплазмоз от паст-инфекции. После первого контакта с токсоплазмами антигенами производятся низкоавидные антитела IgG, со временем они заменяются высокоавидными. У больных с иммунодефицитными состояниями низкоавидные антитела могут проявляться в течение нескольких месяцев. У остальных пациентов наличие высокоавидных антител класса IgG к *T. gondii* позволяет исключить острый токсоплазмоз.

3. ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Определение антител класса IgG к *T. gondii* в ИФА-наборе «EQUI Toxoplasma gondii IgG» базируется на принципе «непрямого» твердофазного ИФА в двухэтапной инкубации. В лунках планшета засорбированы очищенные антигены *T. gondii*. Во время первого этапа инкубации исследуемых образцов в лунках ИФА-планшета специфичны к *T. gondii* 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 конъюгат антивидовых анти-IgG моноклональных антител с пероксидазой хрена, который связывается с иммунными комплексами на твердой фазе. Несвязанные компоненты удаляются при отмывании. Комплексы антиген-антитело 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 антител в образце.

4. МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

4.1. Состав набора

STRIPS	1 x 96 лунок	Планшет ИФА
		В каждой лунке планшета засорбированы очищенные антигены <i>T. gondii</i> . Лунки можно отделять. После первого открытия храните неиспользованные стрипы в упаковке при температуре 2-8°C не более 6 месяцев
PREDIL PLATE	1 x 96 лунок	Планшет для предварительного разведения сывороток
CAL 0	1 x 0,25 ml	Калибратор 0
		Негативная сыворотка крови человека с консервантом (желтый). Хранить при температуре 2-8°C

Калибратор 10

CAL 10

1 x 0,25 ml

Раствор иммуноглобулинов, специфичных к *T. gondii*, в концентрации 10 IU/ml (МЕ/мл) в буфере со стабилизаторами и консервантом (сине-зеленый). Хранить при температуре 2-8°C

Калибратор 50

CAL 50

1 x 0,25 ml

Раствор иммуноглобулинов, специфичных к *T. gondii*, в концентрации 50 IU/ml (МЕ/мл) в буфере со стабилизаторами и консервантом (оранжевый). Хранить при температуре 2-8°C

Калибратор 100

CAL 100

1 x 0,25 ml

Раствор иммуноглобулинов, специфичных к *T. gondii*, в концентрации 100 IU/ml (МЕ/мл) в буфере со стабилизаторами и консервантом (красный). Хранить при температуре 2-8°C

Калибратор 200

CAL 200

1 x 0,25 ml

Раствор иммуноглобулинов, специфичных к *T. gondii*, в концентрации 200 IU/ml (МЕ/мл) в буфере со стабилизаторами и консервантом (фиолетовый). Хранить при температуре 2-8°C

Раствор для предварительного разведения сывороток

PREDIL SAMPLE

1 x 21 ml

Буферный раствор с детергентом и консервантом (коричневый). Хранить при температуре 2-8°C

Раствор для разведения сывороток

DIL SAMPLE

1 x 13 ml

Буферный раствор с экстрактом молока, детергентом и консервантом (желтый). Хранить при температуре 2-8°C

Раствор конъюгата (готов к использованию)

SOLN CONJ

1 x 13 ml

Буферный раствор моноклональных антител к IgG человека, конъюгированный с пероксидазой хрена, со стабилизаторами и консервантом (фиолетовый). Хранить при температуре 2-8°C

Раствор ТМБ (готов к использованию)

SOLN TMB

1 x 13 ml

Раствор ТМБ, H₂O₂, 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 мл концентрата + 95 мл 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 H₂SO₄ (бесцветный). Хранить при температуре 2-8°C

В состав набора входят: клейкая пленка (2 шт.), схема внесения образцов (1 шт.), бланк для построения калибровочной кривой (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 *Toxoplasma gondii* IgG»;
- 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;
- калибраторы ИФА-набора «EQUI Toxoplasma gondii IgG» протестированы и признаны негативными на HBsAg и антитела к ВИЧ1/2, ВГС, *Treponema pallidum*, однако обращаться с контролями 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 [SOLN|CONJ] 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, затем вытереть досуха фильтровальной бумагой. В противном случае кислоту сначала нужно 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 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 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 промывочного раствора 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. Предварительное разведение образцов и калибраторов

Тестируемые образцы и калибраторы предварительно разведите в 10 раз [PREDIL|SAMPLE]. Для этого в необходимое количество лунок (комплектуются в наборе) внесите по 90 µl [PREDIL|SAMPLE] и добавьте по 10 µl образцов и калибраторов. При внесении образцов и калибраторов осторожно пипетируйте смесь, при этом цвет раствора в лунках должен измениться с коричневого на синий. Процедуру разведения образцов и контролей следует проводить непосредственно перед анализом.

Образцы пациентов с ожидаемой концентрацией специфических антител выше [CAL|200] (200 IU/ml (МЕ/мл)) рекомендуем исследовать в двух разведениях 1:100 и 1:1000. Чтобы исследовать образец в разведении 1:1000, приготовьте предварительное разведение образца 1:100, для этого добавьте 10 µl образца к 990 µl [PREDIL|SAMPLE].

Однако встречаются образцы с высоким содержанием специфических к *T. gondii* IgG (выше 1000 IU/ml (МЕ/мл)). Для таких образцов ОП, полученная при исследовании в разведении 1:1000, будет больше оптической плотности [CAL|200]. Поэтому для корректного определения концентрации специфических антител в таких образцах следует исследовать их в конечном разведении 1:3000, а для этого приготовить предварительное разведение этих образцов 1:300. К примеру: 2990 µl [PREDIL|SAMPLE] + 10 µl исследуемого образца.

9. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

9.1. Подготовьте необходимое количество лунок для анализа (пять лунок для калибраторов и необходимое количество для исследуемых образцов), вставьте их в рамку планшета ИФА. Лунки с калибраторами 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 предварительное разведение образцов и калибраторов, как описано в пункте 8.3.

9.5. Внесите во все лунки планшета по 90 µl [DIL|SAMPLE].

9.6. Внесите в лунки по 10 µl предварительно разведенных 1:10 калибраторов и исследуемых образцов:

[CAL|0] – в лунку A1, [CAL|10] – в лунку B1, [CAL|50] – в лунку C1, [CAL|100] – в лунку D1, [CAL|200] – в лунку E1, в остальные лунки – исследуемые образцы. Таким образом, конечное разведение образцов в лунках должно составлять 1:100. При внесении происходит изменение цвета раствора с желтого на зеленый. Осторожно пипетируйте смесь в лунках, не допуская пенообразования.

- 9.7. Заклейте стрипы клейкой пленкой и инкубируйте в течение 30 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 [SOLN|CONJ]. Стрипы накройте новой клейкой пленкой и инкубируйте в течение 30 минут при 37°C.
- 9.10. По окончании инкубации аккуратно снимите клейкую пленку и промойте лунки пять раз, как описано в пункте 9.8.
- 9.11. Внесите в лунки по 100 µl [SOLN|TMB], не касаясь дна и стенок лунок планшета.
- 9.12. Инкубируйте стрипы в течение 30 минут в темном месте при комнатной температуре 18-25°C. Не используйте клейкую пленку на данном этапе.
- 9.13. Внесите в лунки стрипов по 100 µl [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.
- 9.14. 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. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ И ИХ ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

10.1. Контроль достоверности результатов анализа

Данные теста считаются достоверными, если они отвечают следующим требованиям:

[CAL 0]	ОП < 0,120
[CAL 10]	ОП ≥ 0,150
[CAL 50]	ОП ≥ ОП [CAL 10] x 3

CAL 100

ОП ≥ ОПГ CAL 50 x 1,2

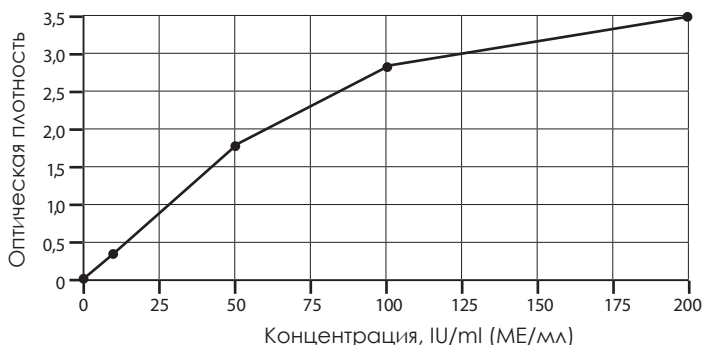
CAL 200

ОП ≥ 2,0

10.2. Учет результатов анализа

Для получения количественных результатов определения концентрации антител класса IgG в IU/ml (МЕ/мл) постройте калибровочную кривую: на оси ОУ отложите полученные значения ОП пяти калибраторов CAL 0, CAL 10, CAL 50, CAL 100 и CAL 200, а на оси ОХ – соответствующие им концентрации – 0, 10, 50, 100, 200 IU/ml (МЕ/мл) соответственно. С помощью калибровочного графика определите концентрацию IU/ml (МЕ/мл) специфических IgG в исследуемых образцах, соответствующую значению полученной ОП.

Пример калибровочного графика приведен на рисунок



Примечание: Не используйте этот график для определения концентрации специфических антител в анализе. Для каждой постановки анализа необходимо строить отдельную калибровочную кривую!

Для образцов, исследовавшихся в разведении 1:1000 и 1:3000, определенную по графику концентрацию специфических антител следует перемножить на степень разбавления, т.е.

конечная концентрация = концентрация по графику × 10 (или × 30)

Для удобства учета результатов реакции можно использовать компьютерные программы считывания и исчисления результатов исследований.

10.3. Интерпретация результатов

Концентрация IgG в образце

Интерпретация

> 10 IU/ml (МЕ/мл)

ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ

8-10 IU/ml (МЕ/мл)

НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ*

< 8 IU/ml (МЕ/мл)

ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ

* Неопределенные образцы рекомендуется исследовать повторно в двух лунках набора ИФА. Если результаты снова будут в пределах неопределенных, следует провести отбор и анализ нового образца через 2-4 недели. В случае повторного получения неопределенных результатов такие образцы считать отрицательными.

10.4. Метрологическая прослеживаемость калибраторов

Концентрации калибраторов ИФА-набора «EQUI Toxoplasma gondii IgG» соответствуют Третьему Международному Стандарту Anti-Toxoplasma serum, Human TOXM (NIBSC, WHO) в диапазоне 10–200 IU/ml (МЕ/мл) (slope = 1,015; $R^2 = 0,978$). Это свидетельствует о метрологической прослеживаемости калибраторов ИФА-набора «EQUI Toxoplasma gondii IgG» в международно согласованном калибровочном материале (Стандарт TOXM).

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 разным уровнем специфических антител оценивали в 32 повторях на одной серии ИФА-наборов.

№ сыворотки	ОП _{ср}	Концентрация IgG, IU/ml (МЕ/мл)	CV, %
291	1,002	32,7	5,9
292	1,453	48,7	12,9

Воспроизводимость результатов между разными постановками анализа (Inter assay reproducibility)

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

№ сыворотки	ОП _{ср}	Концентрация IgG, IU/ml (МЕ/мл)	CV, %
291	1,100	30,6	13,1
292	1,317	36,8	11,7

Аналитическая чувствительность

«Граница обнаружения» (LoD) – наименьшая концентрация анализируемого вещества в образце, выявляемом с заявленной вероятностью, для ИФА-набора «EQUI Toxoplasma gondii IgG» составляет 5,0 IU/ml (МЕ/мл).

«Граница количественного определения» (LoQ) – наименьшая концентрация аналита в образце, определяемая количественно с заявленной приемлемой точностью и правильностью, для ИФА-набора «EQUI Toxoplasma gondii IgG» составляет 5 IU/ml (МЕ/мл).

«Граница отрицательного значения» (LoB) составляет 0,4 IU/ml (МЕ/мл).

Диапазон линейности

Диапазон линейности ИФА-набора «EQUI Toxoplasma gondii IgG» находится в пределах 10–160 IU/ml (МЕ/мл). При исследовании образцов сывороток с высокой концентрацией IgG антител к *T. gondii* (более 200 IU/ml (МЕ/мл)) hook-эффект не обнаружен до концентрации 6000 IU/ml (МЕ/мл).

Аналитическая специфичность

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

В результате проведенных исследований не выявлено перекрестных реакций с антителами класса IgG к вирусам краснухи, Эпштейна-Барр, простому герпесу 1 и 2 типа и цитомегаловируса. Также не выявлено влияния на результат анализа ревматоидного фактора в образцах до концентрации 1390 IU/мл (МЕ/мл). Результат анализа, полученный для каждого образца, сравнивали с результатом, полученным в коммерческой тест-системе, имеющей СЕ-маркировку, и рассчитывали относительную специфичность ИФА-наборов «EQUI Toxoplasma gondii IgG».

11.2. Диагностические характеристики

Для определения чувствительности и специфичности ИФА-набора использовали 31 образец сывороток, полученных от пациентов с клиническими симптомами, которые могут наблюдаться при токсоплазмозе и 97 сывороток клинически здоровых пациентов. Чувствительность и специфичность ИФА-набора «EQUI Toxoplasma gondii IgG» составляли 100%.

Также характеристики метода исследовали на целевой группе беременных женщин (190 образцов) и выборке доноров (287 образцов) по сравнению с аналогичными коммерческими наборами, имеющими СЕ-маркировку. Для выборки беременных женщин относительная чувствительность и специфичность составила 98,9%, процент совпадения – 98,9%. Для выборки доноров относительная чувствительность составила 99,4%, относительная специфичность – 99,0%, процент совпадения – 99,3%. Общая распространенность в популяции составила 57,98%, что полностью соответствует литературным данным.

Позитивная прогностическая ценность (PPV) ИФА-набора «EQUI Toxoplasma gondii IgG» составляет 100%, отрицательная прогностическая ценность (NPV) – 100%.

12. ОГРАНИЧЕНИЕ АНАЛИЗА

Положительный результат в ИФА-наборе «EQUI Toxoplasma gondii IgG» является свидетельством наличия у пациента антител класса IgG, специфичных к *T. gondii*, которые продуцируются организмом при инфицировании возбудителем токсоплазмоза. Наличие антител этого класса у новорожденных не является подтверждением их инфицирования *T. gondii*. Однократное обнаружение даже высоких титров антител класса IgG нельзя считать доказательством недавнего инфицирования.

Негативный результат в наборе EQUI Toxoplasma gondii IgG показывает, что тестируемый образец не содержит специфических антител или их концентрация ниже уровня чувствительности анализа. Например,

если образец получен через небольшой промежуток времени после инфицирования, то антитела класса IgG могут не обнаруживаться. При наличии клинических симптомов необходимо провести повторное тестирование пациента через 2-4 нед.

Для корректной диагностики активной инфекции следует провести исследование наличия IgG антител в парных образцах, полученных с интервалом забора крови не менее двух недель, а также провести тестирование на наличие специфических антител класса IgM, например, в ИФА-наборе «EQUI *Toxoplasma gondii* IgM». Для дифференциации первичной и паст-инфекции рекомендуется дополнительно провести определение индекса avidности специфических IgG антител (например, в ИФА-наборе «EQUI *Toxoplasma gondii* IgG avidity»).

Окончательный диагноз не может быть установлен только исходя из результатов серологического теста. При установлении диагноза следует учитывать результаты комплекса лабораторных и инструментальных исследований, а также клинические проявления заболевания.

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. Hartmann K., Addie D. et al. *Toxoplasma gondii* infection in cats: ABCD guidelines on prevention and management // *Journal of Feline Medicine and Surgery*. - 2013. - Vol. 15(1). - P.631-637.
2. Hughes J.M., Colley D.G. Preventing congenital toxoplasmosis. // *CDC Recommendations and Reports*. - 2000. - 49 (RR02). – P. 57-75.
3. Flegr J., Prandota J., Sovičková M., Israili Z. H. Toxoplasmosis - a global threat. Correlation of latent toxoplasmosis with specific disease burden in a set of 88 countries // *Public Library of Science ONE*. – 2014. – Vol.9, No.3. – P. e90203.
4. Paquet C., Judin M.H. Toxoplasmosis in Pregnancy: Prevention, Screening, and Treatment // *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada*. - 2013. - Vol. 285(1). - P.78-81.
5. Robert-Gangneux, F.; Dardé, M.L. Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. *Clinical Microbiological Reviews*. – 2012. – Vol.25. – P.264–296.
6. Montoya, J.G.; Liesenfeld, O. Toxoplasmosis // *Lancet*. – 2004. – Vol.363. – P. 1965–1976.
7. Montoya J.G., Remington J.S. Management of *Toxoplasma gondii* infection during pregnancy.// *Clin Infect Dis*. – 2008. - 47. - P.554–566.
8. Tenter A.M., Heckeroth A.R., Weiss L.M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans // *International Journal for Parasitology*. - 2000. - Vol. 30(12-13). - P.1217-1258.
9. Torgerson P. R., Mastroiacovo P. The global burden of congenital toxoplasmosis: a systematic review.// *Bulletin of the World Health Organization*. – 2013. – 91. - P. 501-508.
10. 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.
11. Закон Украины «Об отходах» // *Российская юстиция*. – 1998. – №36-37.
12. Приказ Минздрава Украины №325 от 08.06.2015 «Об утверждении Государственных санитарно-противоэпидемических правил и норм по обращению с медицинскими отходами».
13. Постановление КМУ от 02 октября 2013г. №754 «Об утверждении технического регламента по медицинским изделиям для диагностики in vitro».
14. ДСТУ EN ISO 17511:2015 - Изделия медицинские для диагностики in vitro Измерение величин в биологических пробах. Метрологическая прослеживаемость значений, приписанных калибраторам и контрольным материалам (EN ISO 17511:2003, IDT)
15. 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
16. 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, ознакомиться с сопроводительными документами



Ознакомление с инструкцией по применению



Беречь от прямых солнечных лучей



Знак соответствия техническим регламентам

Редакция 8 от 07.02.2023г.

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, www.equitest.com.ua

СХЕМА ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА

Выдержать реагенты 30 min при температуре 18-25°C

В лунки [PREDIL|PLATE] внести по 90 µl [PREDIL|SAMPLE] и по 10 µl исследуемых образцов и калибраторов
(происходит изменение цвета с коричневого на синий)

В лунки [STRIPS] внести по 90 µl [DIL|SAMPLE]
(желтый цвет)

Внести по 10 µl предварительно разбавленных калибраторов и исследуемых образцов:
A1 – [CAL|0], B1 – [CAL|10], C1 – [CAL|50], D1 – [CAL|100], E1 – [CAL|200],
в остальные лунки - исследуемые образцы
(происходит изменение цвета с желтого на зеленый)

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

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

В лунки стрипов внести по 100 µl [SOLN|CONJ]
(фиолетовый цвет)

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

Промыть лунки 5 раз приготовленным 1:20 (1+19) промывочным 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)

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

УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

Построить калибровочную кривую, определить концентрацию IU/ml (МЕ/мл) специфических к *Toxoplasma gondii* антител класса IgG в исследуемых образцах

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

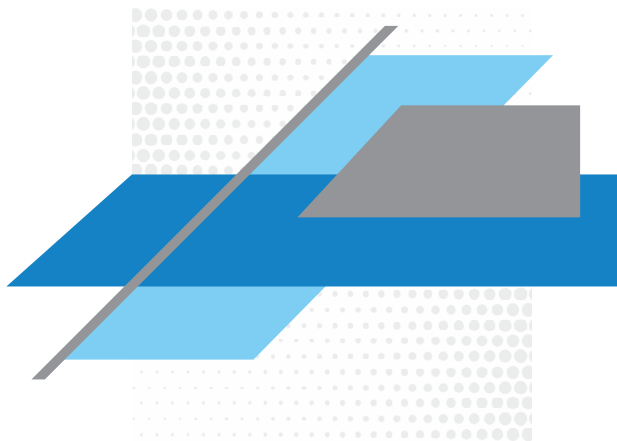
> 10 IU/ml (МЕ/мл)	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ
8-10 IU/ml (МЕ/мл)	НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ
< 8 IU/ml (МЕ/мл)	ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ



Toxoplasma gondii IgM

ИФА-набор для качественного обнаружения
антител класса IgM к *Toxoplasma gondii*

Инструкция по применению



IVD

REF
EI-043

Σ 96
анализов


UA.TR.130

EQUI *Toxoplasma gondii* IgM

ИФА-набор для качественного обнаружения
антител класса IgM к *Toxoplasma gondii*

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор «EQUI *Toxoplasma gondii* IgM» предназначен для качественного обнаружения антител класса IgM к *Toxoplasma gondii* в сыворотке или плазме крови человека методом иммуноферментного анализа (ИФА) с целью диагностики острого токсоплазмоза. Процедура анализа рассчитана как для ручной постановки с автоматическими пипетками и стандартным оборудованием, так и автоматического иммуноферментного анализатора «открытого» типа.

Целевая группа: женщины детородного возраста, беременные женщины и новорожденные.

Применение: ИФА-набор применяется в клинических диагностических лабораториях и других учреждениях, работающих в области *in vitro* диагностики.

2. КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Токсоплазмоз – это паразитарное заболевание человека и животных, которое особенно опасно для беременных из-за развития сильных поражений плода. Болезнь вызывают одноклеточные простейшие вида *Toxoplasma gondii*.

T. gondii – это внутриклеточный облигатный паразит, единственный описанный представитель рода *Toxoplasma*. Жизненный цикл токсоплазмы является сложным, с чередованием бесполого и полового размножения в разных хозяевах. Токсоплазмоз может быть врожденным и приобретенным, который, в свою очередь, имеет острую и хроническую форму.

Из-за вероятности серьезных последствий для беременных и лиц с ослабленным иммунитетом, при отсутствии четких клинических проявлений заболевания для диагностики токсоплазмоза широко применяются лабораторные методы. Прямая микроскопия мазка, полимеразная цепная реакция (ПЦР) и другие методы, позволяющие выявить *T. gondii*, не дают четких представлений о давности инфицирования или стадии заболевания. Для диагностики и дифференциации острого и хронического токсоплазмоза оптимальным является исследование наличия и avidности специфических антител к *T. gondii* методом иммуноферментного анализа.

Специфические антитела класса IgM к *T. gondii* начинают выявляться в крови с пятого дня после инфицирования, их концентрация достигает своего максимума через 1-2 месяца, после чего постепенно снижается. Как правило, через 1-2 года после первого инфицирования антитела IgM к токсоплазмам перестают определяться. Специфические антитела класса IgG появляются на неделю позже специфических IgM и достигают пиковых концентраций через 3-6 месяцев от начала острой инфекции. Более чем двукратный рост титров специфических антител класса IgG за 2-4 недели может указывать

на первичную инфекцию или реактивацию хронического токсоплазмоза. Обычно антитела класса IgG к *T. gondii* обнаруживаются в крови в течение всей жизни и являются индикатором латентного токсоплазмоза. Исследование avidности (родства антител с антигеном) специфических IgG позволяет отличить первичный токсоплазмоз от паст-инфекции. После первого контакта с токсоплазмами антигенами производятся низкоавидные антитела IgG, со временем они заменяются высокоавидными. У больных с иммунодефицитными состояниями низкоавидные антитела могут проявляться в течение нескольких месяцев. У остальных пациентов наличие высокоавидных антител класса IgG к *T. gondii* позволяет исключить острый токсоплазмоз.

3. ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Определение антител класса IgM к *T. gondii* в ИФА-наборе «EQUI Toxoplasma gondii IgM» базируется на принципе «непрямого» твердофазного ИФА в двухэтапной инкубации. В лунках планшета засорбированы очищенные антигены *T. gondii*. При первом этапе инкубации исследуемых образцов в лунках планшета ИФА специфичны к *T. gondii* 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 конъюгат антивидовых анти-IgM моноклональных антител с пероксидазой хрена, который связывается с иммунными комплексами на твердой фазе. Несвязанные компоненты удаляются при отмывании. Комплексы антиген-антитело 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 антител в образце.

4. МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

4.1. Состав набора

STRIPS 1 x 96 лунок	Планшет ИФА В каждой лунке планшета засорбированы очищенные антигены <i>T. gondii</i>. Лунки можно отделять. После первого открытия храните неиспользованные стрипы в упаковке при температуре 2-8°C не более 6 месяцев
PREDIL PLATE 1 x 96 лунок	Планшет для предварительного разведения сывороток

		Позитивный контроль
CONTROL +	1 x 0,25 ml	Раствор конъюгированных специфических моноклональных антител с консервантом (розовый). Хранить при температуре 2-8°C
		Негативный контроль
CONTROL -	1 x 0,6 ml	Негативная сыворотка крови человека с консервантом (желтый). Хранить при температуре 2-8°C
		RF-абсорбент (18x концентрат)
RF-ABSORB 18x	1 x 0,75 ml	18-кратный концентрат моноклональных антител к IgG человека с консервантами (желтый).
		Развести RF-абсорбент (18x) 1:18 раствором для разведения сывороток (например, 50 µl концентрата + 850 µl раствора для 8 лунок) перед использованием. Разбавленный раствор хранить при температуре 2-8°C не более 1 суток
		Раствор для предварительного разведения сывороток
PREDIL SAMPLE	1 x 21 ml	Буферный раствор с детергентом и консервантом (коричневый). Хранить при температуре 2-8°C
		Раствор для разведения сывороток
DIL SAMPLE	1 x 13 ml	Буферный раствор с экстрактом молока, детергентом и консервантом (бесцветный). Хранить при температуре 2-8°C
		Раствор конъюгата (готов к использованию)
SOLN CONJ	1 x 13 ml	Буферный раствор моноклональных антител к IgM человека, конъюгированный с пероксидазой хрена, со стабилизаторами и консервантом (фиолетовый). Хранить при температуре 2-8°C
		Раствор ТМБ (готов к использованию)
SOLN TMB	1 x 13 ml	Раствор ТМБ, H ₂ O ₂ , 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 мл концентрата + 95 мл 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 ₂ SO ₄ (бесцветный). Хранить при температуре 2-8°C

В состав набора 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, 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 *Toxoplasma gondii* IgM»;
- 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 *Toxoplasma gondii* IgM» протестированы и признаны негативными на HBsAg и антитела к ВИЧ1/2, ВГС, *Treponema pallidum*, однако обращаться с контролями 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 [SOLN|CONJ] 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, затем вытереть досуха фильтровальной бумагой. В противном случае кислоту сначала нужно 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 промывочного раствора 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. Предварительное разведение образцов и контролей

Тестируемые образцы и контроли предварительно разведите в 10 раз **PREDIL|SAMPLE**. Для этого в необходимое количество лунок **PREDIL|PLATE** (комплектуются в наборе) внесите по 90 µl **PREDIL|SAMPLE** и добавьте по 10 µl образцов и контролей. При внесении образцов и контролей осторожно пипетируйте смесь, при этом цвет раствора в лунках должен измениться с коричневого на синий. Процедуру разведения образцов и контролей следует проводить непосредственно перед анализом.

8.4. Приготовление раствора RF-абсорбента

В случае наличия в исследуемом образце аутоантитела класса IgM (ревматоидного фактора), они могут связываться с антителами класса IgG к *T.gondii*, образуя иммунные комплексы. Это может привести к ложноположительному результату анализа. Учитывая это, важно блокировать аутоантител и антител класса IgG абсорбентом ревматоидного фактора (RF-абсорбент). Данная процедура необходима также для предотвращения замещения специфических антител класса IgM антителами класса IgG в составе иммунного комплекса, что может привести к ложноотрицательным результатам.

Для приготовления раствора RF-абсорбента разведите **RF-ABSORB|18x** в чистом флаконе **DIL|SAMPLE** в соотношении 1:18 (1+17), раствор окрашивается в желтый цвет. Например, для 8 лунок анализа (одного стрипа) достаточно добавить в 850 µl **DIL|SAMPLE** 50 µl **RF-ABSORB|18x**. Разбавленный раствор RF-абсорбента можно хранить при температуре 2-8°C не более 1 суток.

9. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

- 9.1. Подготовьте необходимое количество лунок для анализа (четыре лунки для контроля 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 предварительное разведение образцов и контролей, как описано в пункте 8.3.
- 9.5. Приготовьте раствор RF-абсорбента в соответствии с пунктом 8.4.
- 9.6. Внесите во все лунки планшета по 90 µl RF-абсорбенту.
- 9.7. Внесите в лунки по 10 µl предварительно разведенных 1:10 контролей и исследуемых образцов:

CONTROL|+ – в лунку A1,

CONTROL|- – в лунки B1, C1, D1,

в остальные лунки – исследуемые образцы.

Таким образом, конечное разведение образцов в лунках должно составлять 1:100. При внесении происходит изменение цвета раствора с желтого на зеленый. Осторожно пипетируйте смесь в лунках, не допуская пенообразования.

- 9.8. Заклейте стрипы клейкой пленкой и инкубируйте в течение 30 минут при температуре 37°C.
- 9.9. 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.
- 9.10. Внесите в лунки по 100 µl [SOLN|CONJ]. Стрипы накройте новой клейкой пленкой и инкубируйте в течение 30 минут при 37°C.
- 9.11. По окончании инкубации аккуратно снимите клейкую пленку и промойте лунки пять раз, как описано в пункте 9.9.
- 9.12. Внесите в лунки по 100 µl [SOLN|TMB], не касаясь дна и стенок лунок планшета.
- 9.13. Инкубируйте стрипы в течение 30 минут в темном месте при комнатной температуре 18-25°C. Не используйте клейкую пленку на данном этапе.
- 9.14. Внесите в лунки стрипов по 100 µl [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.
- 9.15. 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. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ И ИХ ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

10.1. Учет результатов анализа

Рассчитать среднее значение ОП негативного контроля ($\overline{Nc}$), уровень граничного значения (Cut off – CO) и индекс позитивности образца (IP_{sample}).

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

$$IP_{sample} = OD_{sample}/CO, \text{ де } OD_{sample} - \text{ОП образца}$$

10.2. Контроль достоверности результатов анализа

Данные теста считаются достоверными, если они отвечают следующим требованиям:

CONTROL +

ОП $\geq 1,2$

CONTROL -

ОП $\leq 0,150$

CONTROL -

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

де N_{cp} – ОП каждого
повтора Nc

Если одно из значений ОП негативного контроля выходит за пределы указанного выше интервала, его не учитывают и рассчитывают по остальным значениям ОП негативного контроля. Если более одного значения ОП негативного контроля не соответствует указанным требованиям, то тест считается некорректным и требует повторного выполнения.

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 в двух лунках набора ИФА. Если результаты снова будут в пределах неопределенных, следует провести отбор и анализ нового образца через 2-4 недели. В случае повторного получения неопределенных результатов такие образцы считать отрицательными.

11. ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

11.1. Аналитические характеристики

Прецизионность

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

Коэффициент вариации (CV) для трех сывороток с разным уровнем специфических антител оценивали в 16 повторах на одной серии ИФА-наборов.

№ сыворотки	ОП _{ср}	IP _{sample}	CV, %
114	1,590	4,4	4,2
106	0,713	2,0	7,6
115/2	0,473	1,3	11,2

Воспроизводимость результатов между разными 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 _{ср}	IP _{sample}	CV, %
114	1,650	4,6	7,8
106	0,693	1,9	8,7
115/2	0,431	1,2	16,1

Аналитическая специфичность

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

По результатам проведенных исследований не выявлено перекрестных реакций с антителами класса IgM к вирусам краснухи, Эпштейна-Барр, простому герпесу 1 и 2 типа и цитомегаловируса. Также не выявлено влияния на результат анализа ревматоидного фактора в образцах до концентрации 1390 IU/мл (ME/мл). Результат анализа, полученный для каждого образца, сравнивали с результатом, полученным в коммерческом ИФА-наборе, имеющем СЕ-маркировку, и рассчитывали относительную специфичность ИФА-наборов «EQUI *Toxoplasma gondii* IgM».

Тип образца	Количество образцов	Относительная специфичность, %
Rubella IgM	4	100
EBV IgM (VCA)	8	100
HSV1+2 IgM	11	100
CMV IgM	10	100
Rf	30	100

11.2. Диагностические характеристики

Для определения чувствительности и специфичности наборов ИФА использовали 33 образца сывороток, полученных от пациентов с клиническими симптомами, которые могут наблюдаться при токсоплазмозе, и 49 образцов сывороток клинически здоровых пациентов (сероотрицательных по отношению к *T. gondii*). Клиническая чувствительность ИФА-наборов «EQUI *Toxoplasma gondii* IgM» составляла 100%, клиническая специфичность – 98%.

Характеристики метода исследовали на целевой группе беременных женщин (190 образцов) и выборке доноров (287 образцов) по сравнению с аналогичными коммерческими наборами, имеющими СЕ-маркировку. Для выборки беременных женщин относительная специфичность ИФА-наборов «EQUI *Toxoplasma gondii* IgM» составила 97,8%, процент совпадения – 97,3%. Для выборки доноров относительная специфичность составила 98,1%, процент совпадения – 97,8%.

Положительная прогностическая ценность (PPV) ИФА-набора «EQUI *Toxoplasma gondii* IgM» составляет 97,06%, отрицательная прогностическая ценность (NPV) – 100%.

12. ОГРАНИЧЕНИЕ АНАЛИЗА

Положительный результат в ИФА-наборе «EQUI *Toxoplasma gondii* IgM» является свидетельством наличия у пациента антител класса IgM, специфичных к *T. gondii*. Анти-*T. gondii* специфические антитела класса IgM являются, как правило, маркерами ранней инфекции. Однако в некоторых случаях специфические к *T. gondii* антитела класса IgM могут проявляться в сыворотке человека в течение длительного времени с момента инфицирования. Для дифференциации первичной и паст-инфекции рекомендуется дополнительно провести исследование образца на наличие антител класса IgG (например, в ИФА-наборе «EQUI *Toxoplasma gondii* IgG»), а также провести определение индекса авидности специфических IgG антител (например, в ИФА-наборе «EQUI *Toxoplasma gondii* IgG avidity»).

Если образец получен через небольшой промежуток времени после инфицирования, то антитела класса IgM могут не обнаруживаться. При наличии клинических симптомов необходимо провести повторное тестирование пациента через 2-4 недели.

Осторожно следует интерпретировать результаты, полученные для иммуносупрессированных индивидов. Окончательный диагноз не может быть установлен только исходя из результатов серологического теста. При установлении диагноза следует учитывать результаты комплекса лабораторных и инструментальных исследований, а также клинические проявления заболевания.

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. Hartmann K., Addie D. et al. *Toxoplasma gondii* infection in cats: ABCD guidelines on prevention and management // *Journal of Feline Medicine and Surgery*. - 2013. - Vol. 15(1). - P.631-637.
2. Hughes J.M., Colley D.G. Preventing congenital toxoplasmosis. // *CDC Recommendations and Reports*. - 2000. - Vol. 49 (RR02). - P. 57-75.
3. Flegr J., Prandota J., Sovičková M., Israili Z. H. Toxoplasmosis - a global threat. Correlation of latent toxoplasmosis with specific disease burden in a set of 88 countries // *Public Library of Science ONE*. - 2014. - Vol.9, No.3. - P. e90203.
4. Paquet C., Judin M.H. Toxoplasmosis in Pregnancy: Prevention, Screening, and Treatment // *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada*. - 2013. - Vol. 285(1). - P.78-81.
5. Robert-Gangneux, F.; Dardé, M.L. Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. *Clinical Microbiological Reviews*. - 2012. - Vol. 25. - P.264–296.
6. Montoya, J.G.; Liesenfeld, O. Toxoplasmosis // *Lancet*. - 2004. - Vol. 363. - P. 1965–1976.
7. Montoya J.G., Remington J.S. Management of *Toxoplasma gondii* infection during pregnancy.// *Clin Infect Dis*. - 2008. - Vol. 47. - P.554–566.
8. Tenter A.M., Heckeroth A.R., Weiss L.M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans // *International Journal for Parasitology*. - 2000. - Vol. 30(12-13). - P. 1217-1258.
9. Torgerson P. R., Mastriacovo P. The global burden of congenital toxoplasmosis: a systematic review.// *Bulletin of the World Health Organization*. - 2013. - Vol. 91. - P. 501-508.
10. 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.
11. Закон Украины «Об отходах» // *Российская юстиция*. - 1998. - №36-37.
12. Приказ Минздрава Украины №325 от 08.06.2015 «Об утверждении Государственных санитарно-противоэпидемических правил и норм по обращению с медицинскими отходами».
13. Постановление КМУ от 02 октября 2013г. №754 «Об утверждении технического регламента по медицинским изделиям для диагностики in vitro».
14. 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
15. 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, ознакомиться с сопроводительными документами



Ознакомление с инструкцией по применению



Беречь от прямых солнечных лучей



Знак соответствия техническим регламентам

Редакция 7 от 07.02.2023г.

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, www.equitest.com.ua

СХЕМА ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА

Выдержать реагенты 30 min при температуре 18-25°C

В лунки [PREDIL|PLATE] внести по 90 µl [PREDIL|SAMPLE] и по 10 µl исследуемых образцов и контролей (происходит изменение цвета с коричневого на синий)

В лунки [STRIPS] внести по 90 µl приготовленный 1:18(1+17) раствор RF-абсорбенту (желтый цвет)

Внести по 10 µl предварительно разведенных контролей и исследуемых образцов в лунки:

A1 – [CONTROL|+], B1, C1, D1 – [CONTROL|-],
E1 и в остальные лунки - исследуемые образцы
(происходит изменение цвета с желтого на зеленый)

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

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

В лунки стрипов внести по 100 µl [SOLN|CONJ]
(фиолетовый цвет)

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

Промыть лунки 5 раз приготовленным 1:20 (1+19) промывочным 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)

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

УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

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

$$CO = \bar{Nc} + 0,3;$$

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

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

CO - Уровень граничного значения (Cut off)

IP_{sample} - Индекс позитивности образца

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

$IP_{sample} > 1,1$	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫ
$0,9 \leq IP_{sample} \leq 1,1$	НЕОПРЕДЕЛЕННЫ
$IP_{sample} < 0,9$	ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ

Date: 23.03.2021

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





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



№ 80020
ДСТУ EN ISO/IEC 17021-1

ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО «ВСЕУКРАЇНСЬКИЙ 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

Чинність сертифікату можна перевірити на сайті www.certsystems.kiev.ua в розділі
«Послуги / Сертифікація систем управління»

Vitrotest® Mycoplasma hominis-IgG

Иммуноферментная тест-система для качественного и полуколичественного определения антител класса IgG к *Mycoplasma hominis*

**1. НАЗНАЧЕНИЕ**

Иммуноферментная тест-система Vitrotest® Mycoplasma hominis-IgG предназначена для качественного и полуколичественного определения антител класса IgG к *Mycoplasma hominis* 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

Микоплазмы являются условными патогенами, поскольку их часто обнаруживают в составе нормальной микрофлоры человека. Вместе с тем эти микроорганизмы могут быть вовлечены в воспалительный процесс при урогенитальных заболеваниях. Данные о частоте распространения микоплазм среди населения разных стран противоречивые, а показатели инфицированности варьируют от 10 до 80 %.

Mycoplasma hominis инфицирует преимущественно органы мочеполовой системы и вызывает различные деструктивно-воспалительные процессы. У мужчин *M. hominis* обычно вызывает уретрит и простатит, а у женщин - уретрит, цервицит и воспалительные поражения тазовых органов. Особую опасность представляет урогенитальный микоплазмоз беременных, поскольку может вызвать невынашивание, преждевременные роды, инфицирование плода и развитие постродового сепсиса.

Клинические проявления, обусловленные присутствием *M. hominis*, часто схожи с симптомами других заболеваний урогенитального тракта бактериальной, вирусной и других этиологий. Поэтому для успешной диагностики урогенитального микоплазмоза обязательно проводят лабораторные исследования, которые позволяют дифференцировать их. К серологическим методам диагностики микоплазмоза относятся реакции преципитации и иммунофлуоресценции. Для выявления сывороточных антител к *M. hominis* используют реакцию пассивной гемагглютинации и иммуноферментный анализ, позволяющий определить стадию и характер течения болезни. Это особенно важно при хроническом течении заболевания в течение многих месяцев и лет. Наличие антител класса IgG к *M. hominis* отражает общую картину иммунного ответа вследствие длительной или перенесенной инфекции. В последнем случае IgG могут проявляться на низком уровне в течение многих лет.

3. ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Выявление антител класса IgG, специфичных к *Mycoplasma hominis*, в тест-системе Vitrotest® Mycoplasma hominis-IgG базируется на принципе «непрямого» твердофазного ИФА в двухэтапной инкубации. В лунках планшета засорбованы рекомбинантные антигены *M. hominis*. Во время первого этапа инкубации исследуемых образцов в лунках ИФА-планшета происходит связывание, при наличии в образцах, специфичных к *M. hominis* антител с антигенами на твердой фазе. Лунки отмываются для удаления несвязанных антител, остаются только специфические комплексы антиген-антитело. После этого добавляется конъюгат антивидовой анти-IgG моноклональных антител с пероксидазой хрена, который связывается 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 добавлением стоп-реагента. 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 класса IgG к *M. hominis*. Интенсивность желтой окраски пропорциональна количеству антител в образце.

4. МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

4.1. Состав набора

ELISA STRIPS	1x96 лунок	ИФА-планшет В каждой лунке планшета засорбованы рекомбинантные антигены <i>Mycoplasma hominis</i> . Лунки можно отделять. 12 стрипов по 8 лунок.
CONTROL +	1x0,5 ml	Позитивный контроль Раствор специфических иммуноглобулинов с консервантом (розовый).
CONTROL -	1x1,0 ml	Негативный контроль Раствор альбумина с консервантом (желтый).
SAMPLE DILUENT	1x10 ml	Раствор для разведения сывороток Буферный раствор с детергентом и консервантом (фиолетовый).
CONJUGATE SOLUTION	1x12 ml	Раствор конъюгата Буферный раствор моноклональных антител к IgG человека, конъюгированных с пероксидазой хрена, со стабилизаторами и консервантом (зеленый), готов к использованию.
TMB SOLUTION	1x12 ml	Раствор ТМБ Раствор ТМБ, H ₂ O ₂ , стабилизатор, консервант (безцветный), готовый к использованию.
WASH TWEEN 20X	1x50 ml	Раствор для промывания Tw20 (20x) 20-ти кратный концентрат фосфатного буфера с Твином-20 и NaCl (безцветный).
STOP SOLUTION	1x12 ml	Стоп-реагент Раствор 0,5 mol/l H ₂ SO ₄ (безцветный), готовый к использованию.

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

4.2. Дополнительные реактивы, материалы и оборудование

- Автоматическая пипетка 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 после окончания срока годности;
- не использовать при анализе и не смешивать компоненты разных серий, компоненты с 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 использовать только чистый, тщательно выполосканное 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

- постановку анализа проводить только в защитной одежде, 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® Mycoplasma hominis-IgG 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, необходимо обработать поверхность дезинфицирующим средством, а затем вытереть насухо фильтровальной бумагой. В случае разбрызгивания кислоты, содержащуюся на поверхности кислоту сначала нужно 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 температуре 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 дней.

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 (EDTA, литий-гепарин, цитрат натрия, фторид калия) хранить при температуре 2-8 °C не более 3 дней после забора. Для более длительного хранения образцы размещать в морозильной камере при температуре от -20 до -70 °C. Замороженные образцы перед использованием следует 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 оборотах/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 следует открывать [ELISA STRIPS] только после выдержки 30 min при комнатной температуре. Затем 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 планшета таким способом 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, достаточно для 8 лунок. В случае наличия кристаллов в концентрате раствора для промывания прогреть флакон при температуре 37 °C до полного растворения кристаллов (15 - 20 min). Разведенный раствор можно хранить при температуре 2-8 °C не более 7 дней.

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** данной Инструкции.
- 9.4. Внести во все лунки планшета по 80 µl [SAMPLE DILUENT].
- 9.5. Внести в лунки по 20 µl контролей и исследуемых образцов: в лунку A1 – [CONTROL +], в лунки B1, C1 и D1 – [CONTROL –], в остальные лунки – исследуемые образцы. Осторожно пипетировать смесь в лунках, не допуская пенообразования, происходит изменение цвета раствора в лунках с коричнево-зеленого на синий.
- 9.6. Заклеить стрипы клейкой плёнкой и инкубировать на протяжении 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 по 300 µl раствором 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 лишнего 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 температуре 37 °C.
- 9.9. По окончании инкубации осторожно снять клейкую пленку и промыть лунки пять раз, как описано в п. 9.7 данной инструкции.
- 9.10. Не дотрагиваясь до дна и стенок лунок планшета, внести по 100 µl [TMB SOLUTION] в лунки.
- 9.11. Инкубировать стрипы на протяжении 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. Измерять на ридере ОП в каждой лунке при длине волны 450/620-695 nm на протяжении 5 min после остановки реакции. До проведения измерения следует убедиться 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 следует оставить лунку для установления бланка (в такую лунку вносить лишь [TMB SOLUTION] и [STOP SOLUTION]).

10. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ И ИХ ИНТЕРПРИТАЦИЯ

10.1. Учет результатов анализа

Рассчитать среднее значение ОП негативного контроля (Nc), уровень граничного значения (Cut off - CO) и индекс позитивности образца (IP_{sample}):

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

$$CO = Nc + 0,25;$$

$IP_{sample} = OD_{sample} / CO$, де OD_{sample} – оптическая плотность образца

10.2. Достоверность результатов анализа

Данные теста считаются достоверными, если они отвечают следующим требованиям:

CONTROL +	ОП $\geq 1,2$
CONTROL –	ОП $\leq 0,15$

10.3. Интерпретация результатов

$IP_{sample} > 1,1$	ПОЗИТИВНЫЙ
$0,9 \leq IP_{sample} \leq 1,1$	НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ*
$IP_{sample} < 0,9$	НЕГАТИВНЫЙ

*Неопределенные образцы рекомендуется исследовать повторно. Если результаты снова будут в рамках «неопределенных», следует провести отбор нового образца.

Использование индекса позитивности позволяет проводить полуколичественный сравнительный анализ уровня специфических антител в динамике в парных образцах, полученных от пациентов с интервалом в 2-4 недели.

11. ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

11.1. Специфичность и чувствительность

Для оценки чувствительности тест-системы были проанализированы 33 образца сывороток крови, положительных в двух аналогичных коммерческих тест-системах. Относительная чувствительность тест-системы Vitrotest® Mycoplasma hominis-IgG при этом составляла 97,0%.

В сравнительных исследованиях тест-системы Vitrotest® Mycoplasma hominis-IgG с другой коммерческой тест-системой были проанализированы 84 образца сывороток крови людей. При этом относительная специфичность набора составила 97,6%.

11.2. Точность

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

Коэффициент вариации (CV) для двух образцов с различным уровнем специфических антител оценивали в 32 повторях на одной серии тест-системы.

№ образца	IP_{cp}	CV, %
29s	1,77	6,2
54s	10,11	5,1

Воспроизводимость результатов между различными постановками анализа (Inter assay reproducibility)

Коэффициент вариации (CV) для двух образцов с различным уровнем специфических антител оценивали в течение четырех дней в четырех постановках анализа по 8 повторов в каждом анализе.

№ образца	IP_{cp}	CV, %
29s	1,80	6,5
54s	10,10	5,4

12. ОГРАНИЧЕНИЯ АНАЛИЗА

Положительный результат в тест-системе Vitrotest® Mycoplasma hominis-IgG свидетельствует о наличии у пациента антител класса IgG, специфичных к *M.hominis*, продуцируемых организмом при инфицировании этим возбудителем.

Отсутствие антител класса IgG, специфичных к *M.hominis*, не исключает наличия инфекции, вызванной *M.hominis*. Определение специфических к *M.hominis* антител в иммуноферментном анализе особенно информативным при длительной восходящей инфекции.

Для постановки диагноза следует учитывать как результаты комплексных лабораторных исследований (серологические и прямые методы диагностики), так и клинические проявления заболевания.

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	Почистить головку промывателя и промыть 30 % раствором этилового спирта, затем дистиллированной водой
Низкое качество или загрязнения воды	Использовать очищенную воду с удельным сопротивлением $\geq 10 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$.
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	Соблюдать режим инкубации в соответствии с инструкцией 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 жидкость
Загрязнен один из каналов промывателя	Почистить канал промывателя, промыть вошер
<i>Значения ОП позитивного контроля ниже установленной границы</i>	
Неправильно внесен или отсутствует один из реагентов (конъюгат или раствор ТМБ)	Повторно провести ИФА, обратить внимание на правильность внесения этих реагентов
Сокращено время инкубации на одном из этапов	Проводить инкубацию в соответствии с инструкцией по применению
<i>Интенсивность окраски лунок не соответствует полученной оптической плотности</i>	
Смещен оптический луч	Проверить корректность работы ридера

ЛИТЕРАТУРА

1. Микоплазмы // Медицинская микробиология / Гл. ред. В.И. Покровский, О.К. Позеев – М.: ГЭОТАР Медицина, 1998. – С. 517-528.
2. Тейлор-Робинсон Л., Рентон А. Какие тесты для диагностики инфекции, передаваемых половым путем, следует использовать в индустриально развитых странах // Заболевания, передаваемые по-ловым путем. – 1998. - №5. – С. 23-26.
3. Дяченко В.Ф., Бірюкова С.В., Старобінець З.Г. Лабораторна діагностика гнійно-запальних захворювань, обумовлених аспорогенними мікроорганізмами: Методичні рекомендації. – Харків, 2000. – 35 с.
4. Уніфікація лабораторних методів дослідження в діагностиці захворювань, що передаються статевим шляхом / Укладачі І.І.Мавров, О.П.Белозеров, Л.С. Тацька. – Харків: Факт, 2000. – 120 с.

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_Mycoplasma hominis IgG_TK024_V01_RU
Редакция Инструкции № 1 от 01.10.2021 г.

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® Mycoplasma hominis-IgG

СХЕМА АНАЛИЗА



Выдержать все реагенты и образцы минимум 30 min 30 min при 18-25 °C перед использованием



Внести 80 µl **[SAMPLE DILUENT]** в лунки стрипов
(коричнево-зеленый)



Внести 20 µl контролей и образцов в лунки:

A1 – **[CONTROL +]**,

B1, C1, D1 – **[CONTROL -]**,

E1 и в другие лунки – исследуемые образцы

(цвет изменится с коричнево-зеленого на синий)



Накрыть стрипы клейкой плёнкой и инкубировать 30 min при 37 °C



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



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



Накрыть стрипы клейкой плёнкой и инкубировать 30 min при 37 °C



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



Внести по 100 µl **[TMB SOLUTION]** в каждую лунку



Инкубировать стрипы 30 min в темноте при 18-25 °C



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



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

УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

$$Nc = (Nc1 + Nc2 + Nc3) / 3; \quad CO = Nc + 0,25;$$

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

Nc - среднее значение ОП 3 **[CONTROL -]**,

CO - граничное значение, IP- индекс позитивности

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

$IP_{sample} > 1,1$	ПОЗИТИВНЫЙ
$0,9 \leq IP_{sample} \leq 1,1$	НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ
$IP_{sample} < 0,9$	НЕГАТИВНЫЙ

Vitrotest® Mycoplasma hominis-IgM

Иммуноферментная тест-система для качественного и полуколичественного определения антител класса IgM к Mycoplasma hominis

TK097
96 анализов



1. НАЗНАЧЕНИЕ

Иммуноферментная тест-система Vitrotest® Mycoplasma hominis-IgM предназначена для качественного и полуколичественного определения антител класса IgM к Mycoplasma hominis 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

Микоплазмы являются условными патогенами, поскольку их часто обнаруживают в составе нормальной микрофлоры человека. Вместе с тем эти микроорганизмы могут быть вовлечены в воспалительный процесс при урогенитальных заболеваниях. Данные о частоте распространения микоплазм среди населения разных стран противоречивые, а показатели инфицированности варьируют от 10 до 80 %.

Mycoplasma hominis инфицирует преимущественно органы мочеполовой системы и вызывает различные деструктивно-воспалительные процессы. У мужчин M.hominis обычно вызывает уретрит и простатит, а у женщин - уретрит, цервицит и воспалительные поражения тазовых органов. Особую опасность представляет урогенитальный микоплазмоз беременных, поскольку может вызвать невынашивание, преждевременные роды, инфицирование плода и развитие постродового сепсиса.

Клинические проявления, обусловленные присутствием M.hominis, часто схожи с симптомами других заболеваний урогенитального тракта бактериальной, вирусной и других этиологий. Поэтому для успешной диагностики урогенитального микоплазмоза обязательно проводят лабораторные исследования, которые позволяют дифференцировать их.

К серологическим методам диагностики микоплазмоза относятся реакции преципитации и иммунофлуоресценции. Для выявления сывороточных антител к M.hominis используют реакцию пассивной гемагглютинации и иммуноферментный анализ, позволяющий определить стадию и характер течения болезни.

3. ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Определение антител класса IgM, специфических к Mycoplasma hominis, в тест-системе Vitrotest® Mycoplasma hominis-IgM базируется на принципе «IgM-захвата» твердофазного ИФА в двухэтапной инкубации. В лунках планшета засорбированы моноклональные антитела, специфические к иммуноглобулинам класса М человека. Во время первого этапа инкубации исследуемых образцов в лунках ИФА-планшета иммуноглобулины класса М связываются с моноклональными антителами на твердой фазе. После отмывания несвязанных компонентов в лунки добавляется конъюгат рекомбинантного антигена M.hominis с пероксидазой хрена, который связывается со специфическими IgM в составе образованных иммунных комплексов на твердой фазе. Несвязанные компоненты удаляются во время отмывания. Иммунные комплексы выявляются добавлением 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. Интенсивность желтой окраски пропорциональна количеству антител в образце.

4. МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

4.1. Состав набора

	1x96 лунок	ИФА-планшет В каждой лунке планшета засорбированы моноклональные антитела, специфические к иммуноглобулинам класса М человека. Лунки можно отделять. 12 стрипов по 8 лунок.
--	------------	--

CONTROL +	1x0,5 ml	Положительный контроль Раствор иммуноглобулинов с консервантом (розовый).
CONTROL -	1x0,5 ml	Отрицательный контроль Раствор альбумина с консервантом (желтый).
SAMPLE DILUENT	1x12 ml	Раствор для разведения сывороток Буферный раствор с детергентом и консервантом (фиолетовый).
CONJUGATE DILUENT	1x13 ml	Раствор для разведения конъюгата Буферный раствор с детергентом и консервантом (желтый).
CONJUGATE 11X	1x1,3 ml	Конъюгат (11x) 11-ти кратный концентрат конъюгата рекомбинантного антигена <i>M.hominis</i> с пероксидазой хрена в буферном растворе со стабилизаторами (синий).
TMB SOLUTION	1x12 ml	Раствор ТМБ Раствор ТМБ, H ₂ O ₂ , стабилизатор, консервант (безцветный), готовый к использованию.
WASH TWEEN 20X	1x50 ml	Раствор для промывания Tw20 (20x) 20-ти кратный концентрат фосфатного буфера с Твином-20 и NaCl (безцветный).
STOP SOLUTION	1x12 ml	Стоп-реагент Раствор 0,5 mol/l H ₂ SO ₄ (безцветный), готовый к использованию.

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

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 после окончания срока годности;
- не использовать при анализе и не смешивать компоненты разных серий, компоненты с 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 использовать только чистый, тщательно выполосканное дистиллированной водой посуду;
- ни в коем случае не использовать одну и ту же посуду для раствора конъюгата 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 защитной одежде, 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® Mycoplasma hominis-IgM 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 раствора конъюгата на слизистые оболочки и кожу необходимо немедленно промыть пораженное место большим количеством воды;
- в случае разбрызгивания растворов, не содержащих кислоту, например, сывороток, необходимо обработать поверхность дезинфицирующим средством, а затем вытереть насухо фильтровальной бумагой. В случае разбрызгивания кислоты, содержащуюся на поверхности кислоту сначала нужно 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 температуре 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 дней.

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 (EDTA, литий-гепарин, цитрат натрия) хранить при температуре 2-8 °C не более 3 дней после забора. Для более длительного хранения образцы хранить в морозильной камере при температуре от -20 до -70 °C. Замороженные образцы перед использованием следует 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

[ELISA STRIPS] упакован под вакуумом с влагопоглотителем.

Для предупреждения конденсации воды в лунках следует открывать [ELISA STRIPS] только после выдержки 30 min при комнатной температуре. Затем 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 планшета таким способом 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, достаточно для 8 лунок. В случае наличия кристаллов в концентрате раствора для промывания прогреть флакон при температуре 37 °C до полного растворения кристаллов (15 - 20 min). Разведенный раствор можно хранить при температуре 2-8 °C не более 7 дней.

8.3. Приготовление раствора конъюгата

Рабочее разведение конъюгата готовится следующим образом:

Развести [CONJUGATE|11X] (синий) в чистом флаконе [CONJUGATE DILUENT] (желтый) в соотношении 1:11 (то есть, 1 + 10), раствор окрашивается в зеленый цвет. Например, для 8 лунок анализа добавить в 1 ml [CONJUGATE DILUENT] 100 µl [CONJUGATE|11X].

Раствор конъюгата в рабочем разведении стабилен в течение суток при условии хранения при 2-8 °C.

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** данной Инструкции.

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 и D1 – [CONTROL|–], в остальные лунки – исследуемые образцы. Осторожно pipetировать смесь в лунках, не допуская пенообразования, происходит изменение цвета раствора в лунках с фиолетового на синий.

Отбор, внесение и pipetирование [CONTROL|+] проводить с особой тщательностью.

9.6. Заклеить стрипы клейкой плёнкой и инкубировать на протяжении 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 pipетки следующим образом:

- удалить содержимое лунок в контейнер для жидких отходов;
- наполнить лунки не менее по 300 µl раствором 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 лишнего флаги, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге.

9.8. Приготовить раствор конъюгата согласно пункта 8.3.

9.9. В лунки внести по 100 µl раствора конъюгата (в рабочем разведении 1:11). Стрипы накрыть новой клейкой пленкой и инкубировать в течение 30 min при 37 °C.

9.10. По окончании инкубации осторожно снять клейкую пленку и промыть лунки пять раз, как описано в п. 9.7 данной инструкции.

9.11. Не затрагиваясь до дна и стенок лунок планшета, внести по 100 µl [TMB SOLUTION] в лунки.

9.12. Инкубировать стрипы на протяжении 30 min в темном месте при комнатной температуре 18-25 °C. Не использовать клейкую пленку на данном этапе.

9.13. Для остановки ферментативной реакции внести в лунки по 100 µl [STOP SOLUTION], при-

9.14. Измерять на ридере ОП в каждой лунке при длине волны 450/620-695 nm на протяжении 5 min после остановки реакции. До проведения измерения следует убедиться 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 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 (Nc), уровень граничного значения (Cut off - CO) и индекс позитивности образца (IP_{sample}):

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

$$CO = Nc + 0,25;$$

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

где OD_{sample} – оптическая плотность образца

10.2. Достоверность результатов анализа

Данные теста считаются достоверными, если они отвечают следующим требованиям:

[CONTROL] +	ОГ ≥ 1,2
[CONTROL] -	ОГ ≤ 0,15

10.3. Интерпретация результатов

IP _{sample} > 1,1	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ
0,9 ≤ IP _{sample} ≤ 1,1	НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ*
IP _{sample} < 0,9	ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ

*Неопределенные образцы рекомендуется исследовать повторно. Если результаты снова будут в рамках «неопределенных», следует провести отбор нового образца.

Использование индекса позитивности позволяет проводить полуколичественный сравнительный анализ уровня специфических антител в динамике в парных образцах, полученных от пациентов с интервалом в 2-4 недели.

11. ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

11.1. Точность

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

Коэффициент вариации (CV) для двух образцов с различным уровнем специфических антител оценивали в 32 повторях на одной серии тест-системы.

№ образца	OD _{cp}	IP _{cp}	CV, %
K1	1,470	5,18	4,5
K2	0,821	2,89	7,9

Воспроизводимость результатов между различными постановками анализа (Inter assay reproducibility)

Коэффициент вариации (CV) для двух образцов с различным уровнем специфических антител оценивали в течение четырех дней в четырех постановках анализа по 8 повторов в каждом анализе.

№ образца	OD _{cp}	IP _{cp}	CV, %
K1	1,447	5,09	5,2
K2	0,842	2,96	6,3

12. ОГРАНИЧЕНИЯ АНАЛИЗА

Положительный результат в тест-системе Vitrotest® Mycoplasma hominis-IgM является свидетельством наличия у пациента антител класса IgM, специфических к *M. hominis*, которые продуцируются организмом при инфицировании этим возбудителем.

Следует заметить, что в случае раннего микоплазмоза результат ИФА может быть отрицательным из-за отсутствия антител на начальном этапе заболевания. Поэтому отсутствие антител класса IgM, специфических к *M. hominis*, не исключает наличия микоплазменной инфекции.

Для постановки диагноза следует учитывать как результаты комплексных лабораторных исследований (серологические и прямые методы диагностики), так и клинические проявления заболевания.

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	Почистить головку промывателя и промыть 30 % раствором этилового спирта, затем дистиллированной водой
Низкое качество или загрязнения воды	Использовать очищенную воду с удельным сопротивлением $\geq 10 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$.
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	Соблюдать режим инкубации в соответствии с инструкцией 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 жидкость
Загрязнен один из каналов промывателя	Почистить канал промывателя, промыть вошер
<i>Значения ОП положительного контроля ниже установленной границы</i>	
Неправильно внесен или отсутствует один из реагентов (конъюгат или раствор ТМБ)	Повторно провести ИФА, обратить внимание на правильность внесения этих реагентов
Сокращено время инкубации на одном из этапов	Проводить инкубацию в соответствии с инструкцией по применению
<i>Интенсивность окраски лунок не соответствует полученной оптической плотности</i>	
Смещен оптический луч	Проверить корректность работы ридера

ЛИТЕРАТУРА

1. Микоплазмы // Медицинская микробиология / Гл. ред. В.И. Покровский, О.К. Позеев – М.: ГЭОТАР Медицина, 1998. – С. 517-528.
2. Тейлор-Робинсон Л., Рентон А. Какие тесты для диагностики инфекции, передаваемых половым путем, следует использовать в индустриально развитых странах // Заболевания, передаваемые по-ловым путем. – 1998. - №5. – С. 23-26.
3. Дяченко В.Ф., Бірюкова С.В., Старобінець З.Г. Лабораторна діагностика гнійно-запальних захворювань, обумовлених аспорогенними мікроорганізмами: Методичні рекомендації. – Харків, 2000. – 35 с.
4. Уніфікація лабораторних методів дослідження в діагностиці захворювань, що передаються статевим шляхом / Укладачі І.І.Мавров, О.П.Белозеров, Л.С. Тацька. – Харків: Факт, 2000. – 120 с.

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



Бережь от прямых солнечных лучей



Знак соответствия техническим регламентам

ТУ У 24.4-36555928-001:2011

Inst_Mycoplasma hominis IgM_TK097_V02_RU

Редакция Инструкции № 2 от 17.08.2022 г.

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. Киев, 04075, Украина (местонахождение производства)

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



Vitrotest® Mycoplasma hominis-IgM

СХЕМА АНАЛИЗА



Выдержать все реагенты и образцы не менее 30 min при 18-25 °С перед использованием



Внести по 90 µl **[SAMPLE DILUENT]** в лунки стрипов (фиолетовый цвет)



Внести по 10 µl контролей и образцов в лунки:

A1 – **[CONTROL +]**,

B1, C1, D1 – **[CONTROL -]**,

E1 и остальные лунки – исследуемые образцы (цвет меняется с фиолетового на синий)



Заклеить стрипы клейкой пленкой, инкубировать 30 min при 37 °С



Промыть лунки 5 раз разведённым 1:20 (1+19) раствором для промывания Tw20 по 300 µl в лунку с 30 s замачиванием



Внести по 100 µl раствора конъюгата (в рабочем разведении 1:11) в каждую лунку (зелёный цвет)



Заклеить стрипы новой клейкой пленкой, инкубировать 30 min при 37 °С



Промыть лунки 5 раз разведённым 1:20 (1+19) раствором для промывания Tw20 по 300 µl в лунку с 30 s замачиванием



Внести по 100 µl **[TMB SOLUTION]** в каждую лунку



Инкубировать 30 min в тёмном месте при 18-25 °С без клейкой пленки



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



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

УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

$$Nc = (Nc1 + Nc2 + Nc3) / 3; \quad CO = Nc + 0,25;$$

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

Nc - среднее значение ОП 3 **[CONTROL -]**,

CO - граничное значение, 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® Ureaplasma-IgG

Иммуноферментная тест-система для качественного и полуколичественного определения антител класса IgG к *Ureaplasma urealyticum*

TK028
96 анализов



1. НАЗНАЧЕНИЕ

Иммуноферментная тест-система Vitrotest® Ureaplasma-IgG предназначена для качественного и полуколичественного определения антител класса IgG к *Ureaplasma urealyticum* 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

Микроорганизм *Ureaplasma urealyticum* вызывает воспалительные заболевания органов мочеполовой системы человека. Уреаплазмы часто обнаруживают у женщин, больных вагинитом, цистит. Проникновение возбудителя в верхние отделы половой системы может привести к нарушению репродуктивных функций. У мужчин *U.urealyticum* является причиной негонококкового уретрита и простатита (до 50 % случаев). Доказана роль уреаплазм в развитии большинства случаев мочекаменной болезни. Нередко *U.urealyticum* приводит к постродовому сепсису у женщин.

Для диагностики уреаплазмоза применяют как прямые методы выявления уреаплазм (полимеразная цепная реакция, реакция иммунофлуоресценции, выделение чистой культуры), так и серологические методы выявления специфических к *Ureaplasma urealyticum* антител. Определение антител в иммуноферментном анализе особенно актуально при хроническом уреаплазмозе, а также при восходящей уреаплазменной инфекции. ИФА - малоинвазивный метод исследования, который позволяет проводить комплексную диагностику урогенитальных заболеваний.

3. ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Выявление антител класса IgG, специфичных к *Ureaplasma urealyticum*, в тест-системе Vitrotest® Ureaplasma-IgG базируется на принципе «непрямого» твердофазного ИФА в двухэтапной инкубации. В лунках планшета засорбированы рекомбинантные антигены *U.urealyticum*. Во время первого этапа инкубации исследуемых образцов в лунках ИФА-планшета происходит связывание, при наличии в образцах, специфичных к *U.urealyticum* антител с антигенами на твердой фазе. Лунки отмываются для удаления несвязанных 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 отмывания. Комплексы антиген-антитело выявляются путем добавления раствора хромогена 3,3', 5,5'-тетраметилбензидина (ТМБ) с перекисью водорода. После 30 min инкубации реакция останавливается добавлением стоп-реагента. 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 класса IgG к *U.urealyticum*. Интенсивность желтой окраски пропорциональна количеству антител в образце.

4. МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

4.1. Состав набора

	1x96 лунок	ИФА-планшет В каждой лунке планшета засорбированы рекомбинантные антигены <i>Ureaplasma urealyticum</i> . Лунки можно отделять. 12 стрипов по 8 лунок.
+	1x0,5 ml	Позитивный контроль Раствор специфических иммуноглобулинов с консервантом (розовый).

CONTROL –	1x1,0 ml	Негативный контроль Раствор альбумина с консервантом (желтый).
SAMPLE DILUENT	1x10 ml	Раствор для разведения сывороток Буферный раствор с детергентом и консервантом (коричнево-зеленый).
CONJUGATE SOLUTION	1x12 ml	Раствор конъюгата Буферный раствор моноклональных антител к IgG человека, конъюгированных с пероксидазой хрена, со стабилизаторами и консервантом (зеленый), готовый к использованию.
TMB SOLUTION	1x12 ml	Раствор ТМБ Раствор ТМБ, H ₂ O ₂ , стабилизатор, консервант (бесцветный), готовый к использованию.
WASH TWEEN 20X	1x50 ml	Раствор для промывания Tw20 (20x) 20-ти кратный концентрат фосфатного буфера с Твином-20 и NaCl (бесцветный).
STOP SOLUTION	1x12 ml	Стоп-реагент Раствор 0,5 mol/l H ₂ SO ₄ (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 после окончания срока годности;
- не использовать при анализе и не смешивать компоненты разных серий, компоненты с 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 крышечкой;
- 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 использовать только чистый, тщательно выполосканное 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

- постановку анализа проводить только в защитной одежде, 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® Ureaplasma-IgG не содержат компонентов человеческого происхождения;
- некоторые компоненты тест-системы содержат низкие концентрации вредных веществ и могут вызывать 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, необходимо обработать поверхность дезинфицирующим средством, а затем вытереть насухо фильтровальной бумагой. В случае разбрызгивания кислоты, содержащуюся на поверхности кислоты сначала нужно 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. ХРАНИЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Реагенты тест-системы стабильны в течение срока годности, указанного на этикетке, если их хранить при температуре 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 дней.

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 (EDTA, литий-гепарин, цитрат натрия, фторид калия) хранить при температуре 2-8 °C не более 3 дней после забора. Для более длительного хранения образцы размещать в морозильной камере при температуре от -20 до -70 °C. Замороженные образцы перед использованием следует 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 оборотах/min в течение 10-15 min. Не использовать образцы сывороток (или плазмы) с выраженной липидемией, гемолизом, а также бактериальным прорастанием. На результаты анализа не влияют 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 следует открывать **ELISA STRIPS** только после выдержки 30 min при комнатной температуре. Затем 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 планшета таким способом 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 мл концентрата + 76 мл воды, достаточно для 8 лунок. В случае наличия кристаллов в концентрате раствора для промывания прогреть флакон при температуре 37 °С до полного растворения кристаллов (15 - 20 min). Разведенный раствор можно хранить при температуре 2-8 °С не более 7 дней.

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 данной Инструкции.
- 9.4. Внести во все лунки планшета по 80 μ л **SAMPLE DILUENT**.
- 9.5. Внести в лунки по 20 μ л контролей и исследуемых образцов: в лунку A1 – **CONTROL +**, в лунки B1, C1 и D1 – **CONTROL –**, в остальные лунки – исследуемые образцы. Осторожно пипетировать смесь в лунках, не допуская пенообразования, происходит изменение цвета раствора в лунках с коричнево-зеленого на синий.
- 9.6. Заклеить стрипы клейкой плёнкой и инкубировать на протяжении 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 по 300 μ л раствором для промывания, оставить не менее чем на 30 с;
 - аспирировать раствор из лунок, остаточный объем раствора после аспирации на всех этапах промывания должен составлять не более 5 μ л;
 - повторить процедуру промывания еще четыре раза;
 - после последней аспирации избавиться от лишнего влаги, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге.
- 9.8. В лунки внести по 100 μ л **CONJUGATE SOLUTION**. Стрипы накрыть новой клейкой пленкой и инкубировать в течение 30 min при температуре 37 °С.
- 9.9. По окончании инкубации осторожно снять клейкую пленку и промыть лунки пять раз, как описано в п. 9.7 данной инструкции.
- 9.10. Не дотрагиваясь до дна и стенок лунок планшета, внести по 100 μ л **TMB SOLUTION** в лунки.
- 9.11. Инкубировать стрипы на протяжении 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 μ л **STOP SOLUTION**, придерживаясь той же последовательности, что и при внесении **TMB SOLUTION**.
- 9.13. Измерять на ридере ОП в каждой лунке при длине волны 450/620-695 nm на протяжении 5 min после остановки реакции. До проведения измерения убедиться 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 следует оставить лунку для установления бланка (в такую лунку внести лишь **TMB SOLUTION** и **STOP SOLUTION**).*

10. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ И ИХ ИНТЕРПРИТАЦИЯ

10.1. Учет результатов анализа

Рассчитать среднее значение ОП негативного контроля (Nc), уровень граничного значения (Cut off - CO) и индекс позитивности образца (IP_{sample}):

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

$$CO = Nc + 0,25;$$

$$IP_{sample} = OD_{sample} / CO, \text{ де } OD_{sample} - \text{оптическая плотность образца}$$

10.2. Достоверность результатов анализа

Данные теста считаются достоверными, если они отвечают следующим требованиям:

CONTROL +	ОП $\geq 1,2$
CONTROL –	ОП $\leq 0,15$

10.3. Интерпретация результатов

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

*Неопределенные образцы рекомендуется исследовать повторно. Если результаты снова будут в рамках «неопределенных», следует провести отбор нового образца.

Использование индекса позитивности позволяет проводить полуколичественный сравнительный анализ уровня специфических антител в динамике в парных образцах, полученных от пациентов с интервалом в 2-4 недели.

11. ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

11.1. Специфичность и чувствительность

Для оценки чувствительности тест-системы были проанализированы 32 образца сывороток крови, положительных в двух аналогичных коммерческих тест-системах. Относительная чувствительность тест-системы Vitrotest® Ureaplasma-IgG при этом составляла 100,0 %.

В сравнительных исследованиях тест-системы Vitrotest® Ureaplasma-IgG с другой коммерческой тест-системой были проанализированы 84 образца сывороток крови людей. При этом относительная специфичность набора составила 98,8 %.

11.2. Точность

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

Коэффициент вариации (CV) для двух образцов с различным уровнем специфических антител оценивали в 32 повторях на одной серии тест-системы.

№ образца	IP_{cp}	CV, %
33s	5,87	3,2
43s	11,00	4,5

Воспроизводимость результатов между различными постановками анализа (Inter assay reproducibility)

Коэффициент вариации (CV) для двух образцов с различным уровнем специфических антител оценивали в течение четырех дней в четырех постановках анализа по 8 повторов в каждом анализе.

№ образца	IP_{cp}	CV, %
33s	5,74	4,3
43s	10,75	3,9

12. ОГРАНИЧЕНИЯ АНАЛИЗА

Положительный результат в тест-системе Vitrotest® Ureaplasma-IgG свидетельствует о наличии у пациента антител класса IgG, специфичных к *U.urealyticum*, продуцируемых организмом при инфицировании этим возбудителем.

Следует заметить, что в случае раннего уреоплазмоза результат ИФА может быть отрицательный из-за отсутствия антител на начальном этапе болезни. Поэтому отсутствие антител класса IgG, специфичных к *U.urealyticum*, не исключает наличия уреоплазменных инфекций. Определение специфических к *U.urealyticum* антител в иммуноферментном анализе является особенно информативным при длительной восходящей инфекции. Для постановки диагноза следует учитывать как результаты комплексных лабораторных исследований (сериологические и прямые методы диагностики), так и клинические проявления заболевания.

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	Почистить головку промывателя и промыть 30 % раствором этилового спирта, затем дистиллированной водой
Низкое качество или загрязнения воды	Использовать очищенную воду с удельным сопротивлением $\geq 10 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$.
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	Соблюдать режим инкубации в соответствии с инструкцией 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 жидкость
Загрязнен один из каналов промывателя	Почистить канал промывателя, промыть вошер
<i>Значения ОП позитивного контроля ниже установленной границы</i>	
Неправильно внесен или отсутствует один из реагентов (конъюгат или раствор ТМБ)	Повторно провести ИФА, обратить внимание на правильность внесения этих реагентов
Сокращено время инкубации на одном из этапов	Проводить инкубацию в соответствии с инструкцией по применению
<i>Интенсивность окраски лунок не соответствует полученной оптической плотности</i>	
Смещен оптический луч	Проверить корректность работы ридера

ЛИТЕРАТУРА

1. Микоплазмы // Медицинская микробиология / Гл. ред. В.И. Покровский, О.К. Позеев – М.: ГЭОТАР Медицина, 1998. – С. 517-528.
2. Тейлор-Робинсон Л., Рентон А. Какие тесты для диагностики инфекции, передаваемых половым путем, следует использовать в индустриально развитых странах // Заболевания, передаваемые по-ловым путем. – 1998. - №5. – С. 23-26.
3. Дяченко В.Ф., Бірюкова С.В., Старобінець З.Г. Лабораторна діагностика гнійно-запальних захворювань, обумовлених аспорогенними мікроорганізмами: Методичні рекомендації. – Харків, 2000. – 35 с.
4. Уніфікація лабораторних методів дослідження в діагностиці захворювань, що передаються статевим шляхом / Укладачі І.І.Мавров, О.П.Белозеров, Л.С. Тацька. – Харків: Факт, 2000. – 120 с.

ГРАФИЧЕСКИЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ



Номер по каталогу



Используйте инструкцию по применению



Медицинское изделие для диагностики in vitro



Производитель



Предупреждение



Достаточно для проведения <л> 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_Ureaplasma-IgG_TK028_V01_RU
Редакция Инструкции № 1 от 01.10.2021 г.

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® Ureaplasma-IgG

СХЕМА АНАЛИЗА



Выдержать все реагенты и образцы минимум 30 min при 18-25 °C перед использованием



Внести 80 µl [SAMPLE DILUENT] в лунки стрипов (коричнево-зеленый)



Внести 20 µl контролей и образцов в лунки:

A1 – [CONTROL +],

B1, C1, D1 – [CONTROL -],

E1 и в другие лунки – исследуемые образцы

(цвет изменится с коричнево-зеленого на синий)



Накрыть стрипы клейкой плёнкой и инкубировать 30 min при 37 °C



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



Добавить 100µl [CONJUGATE SOLUTION] в каждую лунку (зеленый цвет)



Накрыть стрипы клейкой плёнкой и инкубировать 30 min при 37 °C



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



Внести по 100 µl [TMB SOLUTION] в каждую лунку



Инкубировать стрипы 30 min в темноте при 18-25 °C



Остановить реакцию добавлением 100 µl [STOP SOLUTION] (цвет меняется с синего на желтый)



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

УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

$$Nc = (Nc1 + Nc2 + Nc3) / 3; \quad CO = Nc + 0,25;$$

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

Nc - среднее значение ОП 3 [CONTROL -],

CO - граничное значение, IP- индекс позитивности

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

$IP_{sample} > 1,1$	ПОЗИТИВНЫЙ
$0,9 \leq IP_{sample} \leq 1,1$	НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ
$IP_{sample} < 0,9$	НЕГАТИВНЫЙ

Vitrotest® Ureaplasma-IgM

Иммуноферментная тест-система для качественного и полуколичественного определения антител класса IgM к *Ureaplasma urealyticum*

TK096
96 анализов



1. НАЗНАЧЕНИЕ

Иммуноферментная тест-система Vitrotest® Ureaplasma-IgM предназначена для качественного и полуколичественного определения антител класса IgM к *Ureaplasma urealyticum* 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

Микроорганизм *Ureaplasma urealyticum* вызывает воспалительные заболевания органов мочеполовой системы человека. Уреаплазмы часто обнаруживают у женщин, больных вагинитом, циститом. Проникновение возбудителя в верхние отделы половой системы может привести к нарушению репродуктивных функций. У мужчин *U.urealyticum* является причиной негонорейного уретрита и простатита (до 50 % случаев). Доказана роль уреаплазм в развитии большинства случаев мочекаменной болезни. Нередко *U.urealyticum* приводит к постродовому сепсису у женщин.

Для диагностики уреаплазмоза применяют как прямые методы выявления уреаплазм (полимеразная цепная реакция, реакция иммунофлуоресценции, выделение чистой культуры), так и серологические методы выявления специфических к *Ureaplasma urealyticum* антител. Определение антител в иммуноферментном анализе особенно актуально при хроническом уреаплазмозе, а также при восходящей уреаплазменной инфекции. ИФА - малоинвазивный метод исследования, который позволяет проводить комплексную диагностику урогенитальных заболеваний.

3. ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Определение антител класса IgM, специфических к *Ureaplasma urealyticum*, в тест-системе Vitrotest® Ureaplasma-IgM базируется на принципе «IgM-захвата» твердофазного ИФА в двухэтапной инкубации. В лунках планшета засорбированы моноклональные антитела, специфичные к иммуноглобулинам класса М человека. Во время первого этапа инкубации исследуемых образцов в лунках ИФА-планшета иммуноглобулины класса М связываются с моноклональными антителами на твердой фазе. После отмывания несвязанных компонентов в лунку добавляется конъюгат рекомбинантного антигена *U.urealyticum* с пероксидазой хрена, который связывается со специфическими IgM в составе образованных иммунных комплексов на твердой фазе. Несвязанные компоненты удаляются во время отмывания. Иммунные комплексы выявляются добавлением 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. Интенсивность желтой окраски пропорциональна количеству антител в образце.

4. МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

4.1. Состав набора

ELISA STRIPS	1x96 лунок	ИФА-планшет В каждой лунке планшета засорбированы моноклональные антитела, специфичные к иммуноглобулинам класса М человека. Лунки можно отделять. 12 стрипов по 8 лунок.
CONTROL +	1x0,5 ml	Положительный контроль Раствор иммуноглобулинов с консервантом (розовый).

CONTROL –	1x0,5 ml	Отрицательный контроль Раствор альбумина с консервантом (желтый).
SAMPLE DILUENT	1x12 ml	Раствор для разведения сывороток Буферный раствор с детергентом и консервантом (фиолетовый).
CONJUGATE DILUENT	1x13 ml	Раствор для розведения конъюгата Буферный раствор с детергентом и консервантом (желтый).
CONJUGATE 11X	1x1,3 ml	Конъюгат (11x) 11-ти кратный концентрат конъюгата рекомбинантного <i>U.urealyticum</i> с пероксидазой хрена в буферном растворе со стабилизаторами (синий).
TMB SOLUTION	1x12 ml	Раствор ТМБ Раствор ТМБ, H ₂ O ₂ , стабилизатор, консервант (безцветный), готовый к использованию.
WASH TWEEN 20X	1x50 ml	Раствор для промывания Tw20 (20x) 20-ти кратный концентрат фосфатного буфера с Твином-20 и NaCl (безцветный).
STOP SOLUTION	1x12 ml	Стоп-реагент Раствор 0,5 mol/l H ₂ SO ₄ (безцветный), готовый к использованию.

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

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 после окончания срока годности;
- не использовать при анализе и не смешивать компоненты разных серий, компоненты с 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 использовать только чистый, тщательно выполосканное дистиллированной водой посуду;

- ни в коем случае не использовать одну и ту же посуду для раствора конъюгата 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 защитной одежде, 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® Ureaplasma-IgM 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 раствора конъюгата на слизистые оболочки и кожу необходимо немедленно промыть пораженное место большим количеством воды;
- в случае разбрызгивания растворов, не содержащих кислоту, например, сывороток, необходимо обработать поверхность дезинфицирующим средством, а затем вытереть насухо фильтровальной бумагой. В случае разбрызгивания кислоты, содержащуюся на поверхности кислоту сначала нужно 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 температуре 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 дней.

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 (EDTA, литий-гепарин, цитрат натрия) хранить при температуре 2-8 °C не более 3 дней после забора. Для более длительного хранения образцы хранить в морозильной камере при температуре от -20 до -70 °C. Замороженные образцы перед использованием следует 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

[ELISA STRIPS] упакован под вакуумом с влагопоглотителем.

Для предупреждения конденсации воды в лунках следует открывать [ELISA STRIPS] только после выдержки 30 min при комнатной температуре. Затем 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 планшета таким способом 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, достаточно для 8 лунок. В случае наличия кристаллов в концентрате раствора для промывания прогреть флакон при температуре 37 °C до полного растворения кристаллов (15 - 20 min). Разведенный раствор можно хранить при температуре 2-8 °C не более 7 дней.

8.3. Приготовление раствора конъюгата

Рабочее разведение конъюгата готовится следующим образом:

Развести [CONJUGATE] 11X (синий) в чистом флаконе [CONJUGATE DILUENT] (желтый) в соотношении 1:11 (то есть, 1 + 10), раствор окрашивается в зеленый цвет. Например, для 8 лунок анализа добавить в 1 ml [CONJUGATE DILUENT] 100 µl [CONJUGATE] 11X.

Раствор конъюгата в рабочем разведении стабилен в течение суток при условии хранения при 2-8 °C.

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 данной Инструкции.

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 и D1 – [CONTROL] -, в остальные лунки – исследуемые образцы. Осторожно pipetировать смесь в лунках, не допуская пенообразования, происходит изменение цвета раствора в лунках с фиолетового на синий.

Отбор, внесение и pipetирование [CONTROL] + проводить с особой тщательностью.

9.6. Заклеить стрипы клейкой плёнкой и инкубировать на протяжении 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 pipетки следующим образом:

- удалить содержимое лунок в контейнер для жидких отходов;
- наполнить лунки не менее по 300 µl раствором 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 лишнего влаги, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге.

9.8. Приготовить раствор конъюгата согласно пункта 8.3.

9.9. В лунки внести по 100 µl раствора конъюгата (в рабочем разведении 1:11). Стрипы накрыть новой клейкой пленкой и инкубировать в течение 30 min при 37 °C.

9.10. По окончании инкубации осторожно снять клейкую пленку и промыть лунки пять раз, как описано в п. 9.7 данной инструкции.

9.11. Не затрагиваясь до дна и стенок лунок планшета, внести по 100 µl [TMB SOLUTION] в лунки.

9.12. Инкубировать стрипы на протяжении 30 min в темном месте при комнатной температуре 18-25 °C. Не использовать клейкую пленку на данном этапе.

9.13. Для остановки ферментативной реакции внести в лунки по 100 µl [STOP SOLUTION], придерживаясь той же последовательности, что и при внесении [TMB SOLUTION].

9.14. Измерять на ридере ОП в каждой лунке при длине волны 450/620-695 nm на протяжении 5 min после остановки реакции. До проведения измерения следует убедиться в чистоте внешней поверхности дна лунок и отсутствии пузырьков.

Учет результатов анализа можно проводить в одноволновом режиме при длине волны 450 нм, 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 (Nc), уровень граничного значения (Cut off - CO) и индекс позитивности образца (IP_{sample}):

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

$$CO = Nc + 0,25;$$

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

где OD_{sample} – оптическая плотность образца

10.2. Достоверность результатов анализа

Данные теста считаются достоверными, если они отвечают следующим требованиям:

CONTROL +	ОГ ≥ 1,2
CONTROL –	ОГ ≤ 0,15

10.3. Интерпретация результатов

IP _{sample} > 1,1	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ
0,9 ≤ IP _{sample} ≤ 1,1	НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ*
IP _{sample} < 0,9	ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ

*Неопределенные образцы рекомендуется исследовать повторно. Если результаты снова будут в рамках «неопределенных», следует провести отбор нового образца.

Использование индекса позитивности позволяет проводить полуколичественный сравнительный анализ уровня специфических антител в динамике в парных образцах, полученных от пациентов с интервалом в 2-4 недели.

11. ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

11.1. Точность

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

Коэффициент вариации (CV) для двух образцов с различным уровнем специфических антител оценивали в 32 повторях на одной серии тест-системы.

№ образца	ОП _{сеп}	IP _{сеп}	CV, %
1K	1,726	5,93	4,9
2K	0,903	3,10	7,1

Воспроизводимость результатов между различными постановками анализа (Inter assay reproducibility)

Коэффициент вариации (CV) для двух образцов с различным уровнем специфических антител оценивали в течение четырех дней в четырех постановках анализа по 8 повторов в каждом анализе.

№ образца	ОП _{сеп}	IP _{сеп}	CV, %
1K	1,799	6,16	5,5
2K	0,893	3,06	6,2

12. ОГРАНИЧЕНИЯ АНАЛИЗА

Положительный результат в тест-системе Vitrotest® Ureaplasma-IgM является свидетельством наличия у пациента антител класса IgM, специфических к *U.urealyticum*, которые продуцируются организмом при инфицировании этим возбудителем.

Следует заметить, что в случае раннего уреэплазмоза результат ИФА может быть отрицательным из-за отсутствия антител на начальном этапе заболевания. Поэтому отсутствие антител класса IgM, специфических к *U.urealyticum*, не исключает наличия уреэплазменной инфекции. Для постановки диагноза следует учитывать как результаты комплексных лабораторных исследований (серологические и прямые методы диагностики), так и клинические проявления заболевания.

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	Почистить головку промывателя и промыть 30 % раствором этилового спирта, затем дистиллированной водой
Низкое качество или загрязнения воды	Использовать очищенную воду с удельным сопротивлением $\geq 10 \text{ MQ}\cdot\text{cm}$.
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	Соблюдать режим инкубации в соответствии с инструкцией 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 жидкость
Загрязнен один из каналов промывателя	Почистить канал промывателя, промыть вошер
<i>Значения ОП положительного контроля ниже установленной границы</i>	
Неправильно внесен или отсутствует один из реагентов (конъюгат или раствор ТМБ)	Повторно провести ИФА, обратить внимание на правильность внесения этих реагентов
Сокращено время инкубации на одном из этапов	Проводить инкубацию в соответствии с инструкцией по применению
<i>Интенсивность окраски лунок не соответствует полученной оптической плотности</i>	
Смещен оптический луч	Проверить корректность работы ридера

ЛИТЕРАТУРА

1. Микоплазмы // Медицинская микробиология / Гл. ред. В.И. Покровский, О.К. Позеев – М.: ГЭОТАР Медицина, 1998. – С. 517-528.
2. Тейлор-Робинсон Л., Рентон А. Какие тесты для диагностики инфекции, передаваемых половым путем, следует использовать в индустриально развитых странах // Заболевания, передаваемые по-ловым путем. – 1998. - №5. – С. 23-26.
3. Дяченко В.Ф., Бірюкова С.В., Старобінець З.Г. Лабораторна діагностика гнійно-запальних захворювань, обумовлених аспорогенними мікроорганізмами: Методичні рекомендації. – Харків, 2000. – 35 с.
4. Уніфікація лабораторних методів дослідження в діагностиці захворювань, що передаються статевим шляхом / Укладачі І.І.Мавров, О.П.Белозеров, Л.С. Тацька. – Харків: Факт, 2000. – 120 с.

ГРАФИЧЕСКИЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ



Номер по каталогу



Используйте инструкцию по применению



Медицинское изделие для диагностики in vitro



Производитель



Предупреждение



Достаточно для проведения <л> 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_Ureaplasma-IgM_TK096_V02_RU
Редакция Инструкции № 2 от 17.01.2023 г.

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. Киев, 04075, Украина (местонахождение производства)

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



Vitrotest® Ureaplasma-IgM

СХЕМА АНАЛИЗА



Выдержать все реагенты и образцы не менее 30 min при 18-25 °С перед использованием



Внести по 90 µl **[SAMPLE DILUENT]** в лунки стрипов
(фиолетовый цвет)



Внести по 10 µl контролей и образцов в лунки:

A1 – **[CONTROL +]**,

B1, C1, D1 – **[CONTROL -]**,

E1 и остальные лунки – исследуемые образцы
(цвет меняется с фиолетового на синий)



Заклеить стрипы клейкой пленкой, инкубировать 30 min при 37 °C



Промыть лунки 5 раз разведённым 1:20 (1+19) раствором для промывания Tw20 по 300 µl в лунку с 30 с замачиванием



Внести по 100 µl раствора конъюгата (в рабочем разведении 1:11) в каждую лунку
(зелёный цвет)



Заклеить стрипы новой клейкой пленкой, инкубировать 30 min при 37 °C



Промыть лунки 5 раз разведённым 1:20 (1+19) раствором для промывания Tw20 по 300 µl в лунку с 30 с замачиванием



Внести по 100 µl **[TMB SOLUTION]** в каждую лунку



Инкубировать 30 min в тёмном месте при 18-25 °C без клейкой пленки



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



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

УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

$$N_c = (N_{c1} + N_{c2} + N_{c3}) / 3; \quad CO = N_c + 0,25;$$
$$IP_{sample} = OD_{sample} / CO;$$

Nc - среднее значение ОП 3 **[CONTROL -]**,

CO - граничное значение, IP- индекс позитивности

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

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



Каталог продукции

2019

Медицинская Лабораторная Диагностика

Содержание

●	Диагностика инфекционных заболеваний	2
●	Диагностика гриппа	4
●	Диагностика заболеваний щитовидной железы	4
●	Опухолевые маркеры (онкомаркеры).....	5
●	Диагностика диабета	6
●	Диагностика нарушений Са обмена и остеопороза	6
●	Бесприборная экспресс-диагностика	7
●	Диагностика целиакии	7
●	Диагностика заболеваний репродуктивной сферы и бесплодия.....	7
●	Диагностика заболеваний надпочечников.....	9
●	Пренатальный скрининг	9
●	Гормон роста	10
●	Аллергология.....	10
●	Иммунный статус (гуморальный иммунитет).....	10
●	Диагностика аутоиммунных заболеваний	11
●	Диагностика интерстициальных заболеваний легких (альвеолитов)	11
●	Маркеры острой фазы воспаления и кардиомаркеры	11
●	Контрольные материалы для иммуноанализа	11
●	Наборы реагентов для научных исследований в области онкологии и гематологии	12
●	Иммуногистохимия	13
	Общие характеристики Наборов реагентов	14

Каталож. номер	Полное наименование Набора	Сокращенное наименование Набора	Схема проведения анализа	Аналитическая чувствительность, не менее (или иные технические характеристики)	Сведения о калибровочных пробах и/или контрольных сыворотках	Объем (мл) и тип исследуемого образца
Наборы реагентов для иммунологического анализа						
Диагностика инфекционных заболеваний						
K112	Набор реагентов для иммуоферментного выявления антител к вирусу иммунодефицита человека I (0), II типов (ВИЧ I(0), II) и антигена р24 ВИЧ I в сыворотке (плазме) крови Доступные комплектации: 96, 192 или 480 определений срок годности 24 месяца	антиВИЧ I(0), II/р24-ИФА	30'(37 °C, шейкирование)/10'(37 °C, шейкирование)/10'(37 °C, ТМБ) аналитическая чувствительность 5,0 пг/мл (р24 ВИЧ I) или 30'(37 °C)/10'(37 °C)/10'(37 °C, ТМБ) аналитическая чувствительность 10,0 пг/мл (р24 ВИЧ I)	5,0 пг/мл (р24 ВИЧ I) 100% диагностическая чувствительность, 100% диагностическая специфичность	3 контрольных сыворотки (KAg+, KAb+, K-)	70 (сыворотка) плазма крови
K009	Набор реагентов для иммуоферментного выявления поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg) в сыворотке (плазме) крови Доступные комплектации: 96, 192 или 480 определений срок годности 24 месяца	HBsAg-ИФА	40'(42 °C, шейкирование) или 60'(37 °C, шейкирование)/15'(42 °C, шейкирование) или 20'(37 °C, шейкирование)/14'(42 °C, ТМБ) или 20'(37 °C, ТМБ)	0,01 МЕ/л (нг/мл) (HBsAg) 100% диагностическая чувствительность, 100% диагностическая специфичность	3 контрольных сыворотки (K1+, K2+, K-)	100 (сыворотка) плазма крови
K009C	Набор реагентов для контроля специфичности выявления поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg) на основе метода иммуоферментной ингибции (подтверждающий тест) в состав входят 2 контрольные сыворотки, используется только в качестве дополнения к Набору K009 срок годности 24 месяца	HBsAg ПОДТВЕРЖДАЮЩИЙ-ИФА	-	-	2 контрольных сыворотки (aHBs-, aHBs+)	-
K009 + K009C	Комплект из Набора реагентов для иммуоферментного выявления поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg) в сыворотке (плазме) крови и Набора реагентов для контроля специфичности выявления поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg) на основе метода иммуоферментной ингибции (подтверждающий тест) Доступные комплектации: 96, 192 или 480 определений срок годности 24 месяца	HBsAg-ИФА + HBsAg ПОДТВЕРЖДАЮЩИЙ-ИФА	40'(42 °C, шейкирование) или 60'(37 °C, шейкирование)/15'(42 °C, шейкирование) или 20'(37 °C, шейкирование)/15'(42 °C, ТМБ) или 20'(37 °C, ТМБ)	0,01 МЕ/л (нг/мл) (HBsAg) 100% диагностическая чувствительность, 100% диагностическая специфичность	3 контрольных сыворотки (K1+, K2+, K-)	100 (сыворотка) плазма крови
K110	Набор реагентов для иммуоферментного выявления антител к вирусу гепатита С (ВГС) в сыворотке (плазме) крови Доступные комплектации: 96, 192 или 480 определений срок годности 24 месяца	антиВГС-ИФА	60'(37 °C)/30'(37 °C)/10'(37 °C, ТМБ)	100 % диагностическая чувствительность, 100 % диагностическая специфичность	2 контрольных сыворотки (K+, K-)	40 (сыворотка) плазма крови
K110C	Набор реагентов для иммуоферментного выявления IgG и IgM антител к вирусу гепатита С (ВГС) и подтверждения результатов скрининга в сыворотке (плазме) крови Подтверждение проводится по: HCV core, NS3, NS4, NS5 комплектация для 24 или 48 определений срок годности 24 месяца	антиВГС ПОДТВЕРЖДАЮЩИЙ-ИФА	комплектация 24 определений: 30'(37 °C)/30'(37 °C)/10'(37 °C, ТМБ) комплектация 48 определений: 60'(37 °C)/30'(37 °C)/10'(37 °C, ТМБ)	100 % диагностическая чувствительность, 100 % диагностическая специфичность	2 контрольных сыворотки (K+, K-)	20 (сыворотка) плазма крови
K111	Набор реагентов для иммуоферментного выявления специфических антител к <i>Treponema pallidum</i> в сыворотке (плазме) крови Доступные комплектации: 96, 192 или 480 определений срок годности 24 месяца	СИФИЛИС СУММАРНЫЕ АНТИТЕЛА-ИФА	30'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	100 % диагностическая чувствительность, 100 % диагностическая специфичность	2 контрольных сыворотки (K+, K-)	10 (сыворотка) плазма крови, СМЖ
K111G	Набор реагентов для иммуоферментного выявления специфических IgG антител к <i>Treponema pallidum</i> в сыворотке (плазме) крови Доступные комплектации: 96, 192 или 480 определений срок годности 24 месяца	СИФИЛИС IgG-ИФА	30'(37 °C)/30'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	100 % диагностическая чувствительность, 100 % диагностическая специфичность	2 контрольных сыворотки (K+, K-)	10 (сыворотка) плазма крови, СМЖ
K111M	Набор реагентов для иммуоферментного выявления специфических IgM антител к <i>Treponema pallidum</i> в сыворотке (плазме) крови срок годности 24 месяца	СИФИЛИС IgM-ИФА	30'(37 °C)/30'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	100 % диагностическая чувствительность, 100 % диагностическая специфичность	2 контрольных сыворотки (K+, K-)	10 (сыворотка) плазма крови, СМЖ
K101	Набор реагентов для иммуоферментного определения IgG антител к антигенам <i>Toxoplasma spp.</i> в сыворотке (плазме) крови количественная версия	<i>Toxoplasma</i> IgG-ИФА	30'(37 °C)/30'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	3,0 МЕ/мл 100% диагностическая чувствительность, 100% диагностическая специфичность	5 (0-200 МЕ/л)	5 (сыворотка) плазма крови
K101M	Набор реагентов для иммуоферментного определения IgM антител к антигенам <i>Toxoplasma spp.</i> в сыворотке (плазме) крови	<i>Toxoplasma</i> IgM-ИФА	30'(37 °C, шейкирование)/30'(37 °C, шейкирование)/10-20' (ТМБ) или 60'(37 °C)/30'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	100 % диагностическая чувствительность, 100 % диагностическая специфичность	2 контрольных сыворотки (K+, K-)	10 (сыворотка) плазма крови

Каталож. номер	Полное наименование Набора	Сокращенное наименование Набора	Схема проведения анализа	Аналитическая чувствительность, не менее (или иные технические характеристики)	Сведения о калибровочных пробах и/или контрольных сыворотках	Объем (мкл) и тип исследуемого образца
K102	Набор реагентов для иммуноферментного определения IgG антител к антигенам <i>Rubella</i> в сыворотке (плазме) крови количественная версия	<i>Rubella</i> IgG-ИФА	30'(37 °C)/30'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	3,0 МЕ/мл 100% диагностическая чувствительность, 100% диагностическая специфичность	5 (0-200 МЕ/л)	5 (сыворотка) плазма крови
K102M	Набор реагентов для иммуноферментного определения IgM антител к антигенам <i>Rubella</i> в сыворотке (плазме) крови	<i>Rubella</i> IgM-ИФА	30'(37 °C, шейкирование)/30'(37 °C, шейкирование)/10-20' (ТМБ) или 60'(37 °C)/30'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	100 % диагностическая чувствительность, 100 % диагностическая специфичность	2 контрольных сыворотки (К+, К-)	10 (сыворотка) плазма крови
K103	Набор реагентов для иммуноферментного определения IgG антител к антигенам <i>Cytomegalovirus</i> в сыворотке (плазме) крови количественная версия	<i>Cytomegalovirus</i> IgG-ИФА	30'(37 °C)/30'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	0,25 Ед/мл 100% диагностическая чувствительность, 100% диагностическая специфичность	5 (0-6,0 Ед/мл)	5 (сыворотка) плазма крови
K103M	Набор реагентов для иммуноферментного определения IgM антител к антигенам <i>Cytomegalovirus</i> в сыворотке (плазме) крови	<i>Cytomegalovirus</i> IgM-ИФА	30'(37 °C, шейкирование)/30'(37 °C, шейкирование)/10-20' (ТМБ) или 60'(37 °C)/30'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	100 % диагностическая чувствительность, 100 % диагностическая специфичность	2 контрольных сыворотки (К+, К-)	10 (сыворотка) плазма крови
K104	Набор реагентов для иммуноферментного определения IgG антител к антигенам <i>Herpes simplex virus</i> 1 и 2 типа (HSV 1,2) в сыворотке (плазме) крови	HSV 1,2 IgG-ИФА	30'(37 °C)/30'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	100 % диагностическая чувствительность, 100 % диагностическая специфичность	3 контрольных сыворотки (К+, К-, К+/-)	5 (сыворотка) плазма крови
K104M	Набор реагентов для иммуноферментного определения IgM антител к антигенам <i>Herpes simplex virus</i> 1 и 2 типа (HSV 1,2) в сыворотке (плазме) крови	HSV 1,2 IgM-ИФА	30'(37 °C, шейкирование)/30'(37 °C, шейкирование)/10-20' (ТМБ) или 60'(37 °C)/30'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	100 % диагностическая чувствительность, 100 % диагностическая специфичность	2 контрольных сыворотки (К+, К-)	10 (сыворотка) плазма крови
K104B	Набор реагентов для иммуноферментного определения IgG антител к антигенам <i>Herpes simplex virus</i> 2 типа (HSV 2) в сыворотке (плазме) крови	HSV 2 IgG-ИФА	30'(37 °C)/30'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	100 % диагностическая чувствительность, 100 % диагностическая специфичность	2 контрольных сыворотки (К+, К-)	10 (сыворотка) плазма крови
K105	Набор реагентов для иммуноферментного определения IgG антител к антигенам <i>Chlamydia spp.</i> в сыворотке (плазме) крови	<i>Chlamydia</i> IgG-ИФА	30'(37 °C)/30'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	100 % диагностическая чувствительность, 100 % диагностическая специфичность	3 контрольных сыворотки (К+, К-, К+/-)	20 (сыворотка) плазма крови
K105M	Набор реагентов для иммуноферментного определения IgM антител к антигенам <i>Chlamydia spp.</i> в сыворотке (плазме) крови	<i>Chlamydia</i> IgM-ИФА	30'(37 °C)/30'(18-25 °C)/10-20' (ТМБ)	100 % диагностическая чувствительность, 100 % диагностическая специфичность	2 контрольных сыворотки (К+, К-)	10 (сыворотка) плазма крови
K106	Набор реагентов для иммуноферментного определения IgG антител к антигенам <i>Mycoplasma spp.</i> в сыворотке (плазме) крови	<i>Mycoplasma</i> IgG-ИФА	30'(18-25 °C)/30'(18-25 °C)/10-20' (ТМБ)	100 % диагностическая чувствительность, 100 % диагностическая специфичность	3 контрольных сыворотки (К+, К-, К+/-)	20 (сыворотка) плазма крови
K106M	Набор реагентов для иммуноферментного определения IgM антител к антигенам <i>Mycoplasma spp.</i> в сыворотке (плазме) крови	<i>Mycoplasma</i> IgM-ИФА	30'(37 °C)/30'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	100 % диагностическая чувствительность, 100 % диагностическая специфичность	2 контрольных сыворотки (К+, К-)	10 (сыворотка) плазма крови
K119	Набор реагентов для иммуноферментного определения IgG антител к антигенам <i>Helicobacter pylori</i> в сыворотке (плазме) крови	<i>Helicobacter pylori</i> IgG-ИФА	30'(37 °C)/30'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	100 % диагностическая чувствительность, 100 % диагностическая специфичность	2 контрольных сыворотки (К+, К-)	10 (сыворотка) плазма крови
K119M	Набор реагентов для иммуноферментного определения IgM антител к антигенам <i>Helicobacter pylori</i> в сыворотке (плазме) крови	<i>Helicobacter pylori</i> IgM-ИФА	30'(37 °C)/30'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	100 % диагностическая чувствительность, 100 % диагностическая специфичность	2 контрольных сыворотки (К+, К-)	10 (сыворотка) плазма крови
K119A*	Набор реагентов для иммуноферментного определения IgA антител к антигенам <i>Helicobacter pylori</i> в сыворотке (плазме) крови	<i>Helicobacter pylori</i> IgA-ИФА	30'(37 °C)/30'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	100 % диагностическая чувствительность, 100 % диагностическая специфичность	2 контрольных сыворотки (К+, К-)	10 (сыворотка) плазма крови
K121	Набор реагентов для иммуноферментного определения IgG антител к антигенам <i>Aspergillus spp.</i> в сыворотке (плазме) крови	<i>Aspergillus</i> IgG-ИФА	30'(18-25 °C)/30'(18-25 °C)/10-20' (ТМБ)	100 % диагностическая чувствительность, 100 % диагностическая специфичность	3 контрольных сыворотки (К+, К-, К+/-)	25 (сыворотка) плазма крови
K126	Набор реагентов для иммуноферментного определения IgG антител к антигенам <i>Ureaplasma spp.</i> в сыворотке (плазме) крови	<i>Ureaplasma</i> IgG-ИФА	30'(37 °C)/30'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	100 % диагностическая чувствительность, 100 % диагностическая специфичность	2 контрольных сыворотки (К+, К-)	20 (сыворотка) плазма крови
K171	Набор реагентов для иммуноферментного определения суммарных антител к антигенам <i>Giardia lamblia</i> в сыворотке (плазме) крови	антиЛЯМБЛИЯ-ИФА	30'(37 °C)/30'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	100 % диагностическая чувствительность, 100 % диагностическая специфичность	2 контрольных сыворотки (К+, К-)	20 (сыворотка) плазма крови
K171X*	Набор реагентов для дифференциального иммуноферментного определения IgA, IgM или IgG антител к антигенам <i>Giardia lamblia</i> в сыворотке (плазме) крови	антиЛЯМБЛИЯ IgA, IgM или IgG-ИФА	30'(37C)/30'(37C)/10-20' (ТМБ)	100% диагностическая чувствительность, 100% диагностическая специфичность	2 контрольных сыворотки (К+, К-)	20 (сыворотка) плазма крови

Каталож. номер	Полное наименование Набора	Сокращенное наименование Набора	Схема проведения анализа	Аналитическая чувствительность, не менее (или иные технические характеристики)	Сведения о калибровочных пробах и/или контрольных сыворотках	Объем (мкл) и тип исследуемого образца
K174*	Набор реагентов для иммуноферментного выявления IgG антител к антигенам круглых червей <i>Ascaris spp. (Nematodes)</i> в сыворотке (плазме) крови	Nematodes IgG-ИФА	30'(37 °C)/30'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	100% диагностическая чувствительность, 100% диагностическая специфичность	2 контрольных сыворотки (К+, К-)	5 (сыворотка) плазма крови
K175*	Набор реагентов для иммуноферментного выявления IgG антител к антигенам ленточных червей <i>Echinococcus spp. (Cestodes)</i> в сыворотке (плазме) крови	Cestodes IgG-ИФА	30'(37 °C)/30'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	100% диагностическая чувствительность, 100% диагностическая специфичность	2 контрольных сыворотки (К+, К-)	5 (сыворотка) плазма крови
K176*	Набор реагентов для иммуноферментного выявления IgG антител к антигенам плоских червей <i>Opisthorchis spp., Fasciola spp. (Trematodes)</i> в сыворотке (плазме) крови	Trematodes IgG-ИФА	30'(37 °C)/30'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	100% диагностическая чувствительность, 100% диагностическая специфичность	2 контрольных сыворотки (К+, К-)	5 (сыворотка) плазма крови
Диагностика гриппа						
X050	Набор реагентов для иммунохроматографического выявления антигена вируса гриппа в образцах выделений со слизистых оболочек носоглотки Доступные комплектации: 1 определение для домашнего применения или 20 определений для профессионального применения срок годности 36 месяцев	ХЕМАтест Грипп	10'(18-25 °C)	99,5% диагностическая чувствительность, 99,5% диагностическая специфичность Данные по аналитической чувствительности приведены в Инструкции по применению	2 контрольных образца (К+, К-), поставляются только в комплекте для профессионального применения	носоглоточный или назальный мазок
Диагностика заболеваний щитовидной железы						
K131	Набор реагентов для иммуноферментного определения аутоантител к тиреопероксидазе в сыворотке (плазме) крови	АТ-ТПО-ИФА	30'(37 °C)/30'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	2,5 МЕ/мл	5 (0-1000 МЕ/мл), 1 контрольная сыворотка	5 (сыворотка) плазма крови
K132	Набор реагентов для иммуноферментного определения аутоантител к тиреоглобулину в сыворотке (плазме) крови	АТ-ТГ-ИФА	30'(37 °C)/30'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	5,0 МЕ/мл	5 (0-3000 МЕ/мл), 1 контрольная сыворотка	5 (сыворотка) плазма крови
K201	Набор реагентов для иммуноферментного определения тиреотропного гормона в сыворотке (плазме) крови одностадийная версия Доступные комплектации: 96 или 480 определений	ТТГ-ИФА	60'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	0,04 мМЕ/л (МЕ/мл)	6 {0-20 мМЕ/л (МЕ/мл)}, 1 контрольная сыворотка	50 (сыворотка) плазма крови
K201A*	Набор реагентов для иммуноферментного определения тиреотропного гормона в сыворотке (плазме) крови ультрачувствительная версия для определения сверхнизких и/или сверхвысоких концентраций ТТГ	ТТГплюс-ИФА	60'(37 °C, шейкирование)/60'(37 °C, шейкирование)/10-20' (ТМБ)	0,012 мМЕ/л (МЕ/мл)	7 {0-20 мМЕ/л (МЕ/мл)}, 2 контрольные сыворотки	200 (сыворотка) плазма крови
K211	Набор реагентов для иммуноферментного определения трийодтиронина в сыворотке (плазме) крови	Т3-ИФА	60'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	0,2 нмоль/л	5 (0-15 нмоль/л), 1 контрольная сыворотка	25 (сыворотка) плазма крови
K212	Набор реагентов для иммуноферментного определения тироксина в сыворотке (плазме) крови	Т4-ИФА	60'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	3,0 нмоль/л	5 (0-320 нмоль/л), 1 контрольная сыворотка	25 (сыворотка) плазма крови
K213	Набор реагентов для иммуноферментного определения свободного трийодтиронина в сыворотке (плазме) крови	свТ3-ИФА	60'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	0,5 пмоль/л	6 (0-40 пмоль/л), 1 контрольная сыворотка	25 (сыворотка) плазма крови
K214	Набор реагентов для иммуноферментного определения свободного тироксина в сыворотке (плазме) крови Доступные комплектации: 96 или 480 определений	свТ4-ИФА	60'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	0,75 пмоль/л	6 (0-100 пмоль/л), 1 контрольная сыворотка	25 (сыворотка) плазма крови
K232	Набор реагентов для иммуноферментного определения тиреоглобулина в сыворотке (плазме) крови	ТГ-ИФА	60'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	0,5 нг/мл	5 (0-400 нг/мл), 1 контрольная сыворотка	50 (сыворотка) плазма крови
KQ13	Набор реагентов-контрольные сыворотки для иммуноаналитического определения маркеров заболеваний щитовидной железы 5 уровней (А, В, С, D, Е) по 1,0 мл каждый срок годности 36 месяцев	АутоКон-АТ-Контроль	Приведены данные по анализу содержания следующих аналитов на Наборах реагентов отечественных и зарубежных производителей: аутоантитела к тиреопероксидазе (АТ-ТПО), аутоантитела к тиреоглобулину (АТ-ТГ), аутоантитела к рецептору тиреотропного гормона (АТ-рТТГ)			
KQ21	Набор реагентов-контрольные сыворотки для иммуноаналитического определения гормонов 2 уровня (N, H) 2 по 2,0 мл каждый срок годности 36 месяцев	ГормоКон-Контроль	Приведены данные по анализу содержания следующих аналитов на Наборах реагентов отечественных и зарубежных производителей: тиреотропный гормон (ТТГ), общий трийодтиронин (Т3), свободный трийодтиронин (свТ3), общий тироксин (Т4), свободный тироксин (свТ4), лютеотропный гормон (ЛГ), фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), хорионический гонадотропин (ХГ), гормон роста (соматотропный гормон), пролактин, эстрадиол, прогестерон, тестостерон, кортизол, дегидроэпиандростерон-сульфат (ДЭАС), 17-гидроксипрогестерон (17-ОН-прогестерон), свободный (неконъюгированный) эстриол, общий IgE, секс-стероид-связывающий глобулин (ССГ)			

Каталож. номер	Полное наименование Набора	Сокращенное наименование Набора	Схема проведения анализа	Аналитическая чувствительность, не менее (или иные технические характеристики)	Сведения о калибровочных пробах и/или контрольных сыворотках	Объем (мкл) и тип исследуемого образца
Опухолевые маркеры (онкомаркеры)						
K233	Набор реагентов для иммуноферментного определения антигена S100 в сыворотке (плазме) крови	S100-ИФА	60'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	10,0 мкг/л	6 (0-2500 мкг/л), 1 контрольная сыворотка	50 (сыворотка) плазма крови
K261*	Набор реагентов для иммуноферментного определения кальцитонина в сыворотке (плазме) крови	КАЛЬЦИТОНИН-ИФА	60'(18-25 °C, шейкирование)/ 10-20' (ТМБ)	1,0 пг/мл	5 (0-800 пг/мл), 1 контрольная сыворотка	25 (сыворотка) плазма крови
K237	Набор реагентов для иммуноферментного определения антигена SCC(A) в сыворотке (плазме) крови	SCC(A)-ИФА	60'(37°C)/10-20' (ТМБ)	0,1 мкг/л	5 (0-62,5 мкг/л), 1 контрольная сыворотка	50 (сыворотка) плазма крови
K243	Набор реагентов для иммуноферментного определения антигена CA242 в сыворотке (плазме) крови	CA242-ИФА	60'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	0,5 Ед/мл	5 (0-200 Ед/мл), 1 контрольная сыворотка	25 (сыворотка) плазма крови
K221	Набор реагентов для иммуноферментного определения общего простатаспецифического антигена в сыворотке (плазме) крови Доступные комплектации: 96 или 480 определений	обПСА-ИФА	60'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	0,005 нг/мл	5 (0-30 нг/мл), 1 контрольная сыворотка	50 (сыворотка) плазма крови
K231	Набор реагентов для иммуноферментного определения свободного простатаспецифического антигена в сыворотке (плазме) крови	свПСА-ИФА	30'(37 °C)/30'(37 °C)/ 10-20' (ТМБ)	0,0035 нг/мл	5 (0-5,0 нг/мл), 1 контрольная сыворотка	50 (сыворотка) плазма крови
X221	Набор реагентов для иммунохроматографического выявления простатаспецифического антигена в сыворотке (плазме) или капиллярной крови Доступные комплектации: 1, 50 или 100 определений срок годности 36 месяцев	ПСА-ИХА (XEMAtest PSA)	10'(18-25 °C)	4,0 (10,0) нг/мл	-	30-50 (одна капля) сыворотка (плазма) или капиллярная кровь
K222	Набор реагентов для иммуноферментного определения антигена CA 125 в сыворотке (плазме) крови Доступные комплектации: 96 или 480 определений	CA 125-ИФА	60'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	0,25 Ед/мл	6 (0-400 Ед/мл), 1 контрольная сыворотка	50 (сыворотка) плазма крови
X222	Набор реагентов для иммунохроматографического выявления антигена CA 125 в сыворотке (плазме) или капиллярной крови Доступные комплектации: 1, 50 или 100 определений срок годности 36 месяцев	CA 125-ИХА (XEMAtest CA 125)	10'(18-25 °C)	35 Ед/мл	-	30-50 (одна капля) сыворотка (плазма) или капиллярная кровь
K223	Набор реагентов для иммуноферментного определения антигена СА 19.9 в сыворотке (плазме) крови	CA 19.9-ИФА	30'(37 °C)/30'(37 °C)/ 10-20' (ТМБ)	1,0 Ед/мл	5 (0-240 Ед/мл), 1 контрольная сыворотка	50 (сыворотка) плазма крови
K224	Набор реагентов для иммуноферментного определения карциноэмбрионального антигена в сыворотке (плазме) крови	КЭА-ИФА	60'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	0,5 нг/мл	6 (0-64 нг/мл), 1 контрольная сыворотка	50 (сыворотка) плазма крови
X224*	Набор реагентов для иммунохроматографического выявления карциноэмбрионального антигена в сыворотке (плазме) или капиллярной крови Доступные комплектации: 1, 50 или 100 определений срок годности 36 месяцев	КЭА-ИХА (XEMAtest КЭА)	10'(18-25 °C)	5,0 нг/мл	6 (0-64 нг/мл), 1 контрольная сыворотка	30-50 (1 капля) сыворотка (плазма) или капиллярная кровь
K225	Набор реагентов для иммуноферментного определения α-фетопротеина в сыворотке (плазме) крови	АФП-ИФА	60'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	0,9 Ед/мл (МЕ/мл)	6 (0-500 Ед/мл (МЕ/мл)), 1 контрольная сыворотка	50 (сыворотка) плазма крови
X225*	Набор реагентов для иммунохроматографического выявления α-фетопротеина в сыворотке (плазме) или капиллярной крови Доступные комплектации: 1, 50 или 100 определений срок годности 36 месяцев	АФП-ИХА (XEMAtest АФП)	10'(18-25 °C)	10,0 нг/мл	6 (0-64 нг/мл), 1 контрольная сыворотка	30-50 (1 капля) сыворотка (плазма) или капиллярная кровь
K234	Набор реагентов для иммуноферментного определения нейронспецифической енолазы в сыворотке (плазме) крови	НСЕ-ИФА	30'(37 °C)/30'(37 °C)/ 10-20' (ТМБ)	0,3 мкг/л	5 (0-100 мкг/л), 1 контрольная сыворотка	25 (сыворотка) плазма крови
K236	Набор реагентов для иммуноферментного определения антигена CYFRA 21-1 в сыворотке (плазме) крови	CYFRA 21-1-ИФА	60'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	0,5 нг/мл	5 (0-50 нг/мл), 1 контрольная сыворотка	50 (сыворотка) плазма крови

Каталож. номер	Полное наименование Набора	Сокращенное наименование Набора	Схема проведения анализа	Аналитическая чувствительность, не менее (или иные технические характеристики)	Сведения о калибровочных пробах и/или контрольных сыворотках	Объем (мкл) и тип исследуемого образца
K239	Набор реагентов для иммуноферментного определения антигена HE4 в сыворотке (плазме) крови	HE4-ИФА	60'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	10,0 пмоль/л	6 (0-1000 пмоль/л), 1 контрольная сыворотка	20 (сыворотка) плазма крови
K205	Набор реагентов для иммуноферментного определения хорионического гонадотропина в сыворотке (плазме) крови	ХГ-ИФА	60'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	1,25 МЕ/л	6 (0-500 МЕ/л), 1 контрольная сыворотка	50 (сыворотка) плазма крови
K206	Набор реагентов для иммуноферментного определения пролактина в сыворотке (плазме) крови	ПРОЛАКТИН-ИФА	60'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	5,0 мМЕ/л	5 (0-2000 мМЕ/л), 1 контрольная сыворотка	50 (сыворотка) плазма крови
K232	Набор реагентов для иммуноферментного определения тиреоглобулина в сыворотке (плазме) крови	ТГ-ИФА	60'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	0,5 нг/мл	5 (0-400 нг/мл), 1 контрольная сыворотка	50 (сыворотка) плазма крови
K240	Набор реагентов для иммуноферментного определения альвеомуцина в биологических жидкостях	АЛЬВЕОМУЦИН-ИФА	30'(18-25°C, шейкирование)/ 30'(18-25°C, шейкирование)/ 10-20' (ТМБ)	2,5 Ед/мл	5 (0-200 Ед/мл), 1 контрольная сыворотка	50 (сыворотка) плазма крови
K244	Набор реагентов для иммуноферментного определения антигена СА 72-4 в сыворотке (плазме) крови	СА 72-4-ИФА	60'(37 °C)/ 10-20' (ТМБ)	1,0 Ед/мл	5 (0-200 Ед/мл), 1 контрольная сыворотка	20 (сыворотка) плазма крови
K226	Набор реагентов для иммуноферментного определения антигена СА15.3 {MUC1 (M12)} в сыворотке (плазме) крови	СА15.3-ИФА	30'(18-25 °C, шейкирование)/ 30'(18-25 °C, шейкирование)/ 10-20' (ТМБ)	0,75 Ед/мл	5 (0-250 Ед/мл), 1 контрольная сыворотка	50 (сыворотка) плазма крови
K227	Набор реагентов для иммуноферментного определения антигена MUC1 (M22) в сыворотке (плазме) крови	MUC 1 (M22)-ИФА	30'(18-25 °C, шейкирование)/ 30'(18-25 °C, шейкирование)/ 10-20' (ТМБ)	0,75 Ед/мл	6 (0-100 Ед/мл), 1 контрольная сыворотка	50 (сыворотка) плазма крови
K228	Набор реагентов для иммуноферментного определения антигена MUC1 (M20) в сыворотке (плазме) крови	MUC 1 (M20)-ИФА	60'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	0,5 Ед/мл	6 (0-50 Ед/мл), 1 контрольная сыворотка	50 (сыворотка) плазма крови
K235	Набор реагентов для иммуноферментного определения свободной β-цепи хорионического гонадотропина в сыворотке (плазме) крови	свβХГ-ИФА	30'(37 °C)/30'(37 °C)/ 10-20' (ТМБ)	1,0 нг/мл	5 (0-250 нг/мл), 1 контрольная сыворотка	20 (сыворотка) плазма крови
K279K*	Набор реагентов для иммуноферментного определения свободной κ-цепи в сыворотке (плазме) крови	κ-ЦЕПЬ-ИФА	90'(37 °C)/60'(37 °C)/15' (ТМБ)	1,0 мкг/мл	7 (0-50 мкг/мл), 1 контрольная сыворотка	10 сыворотка (плазма) крови, моча, СМЖ
K279L*	Набор реагентов для иммуноферментного определения свободной λ-цепи в сыворотке (плазме) крови	λ-ЦЕПЬ-ИФА	90'(37 °C)/60'(37 °C)/15' (ТМБ)	0,075 мкг/мл	7 (0-30 мкг/мл), 1 контрольная сыворотка	10 сыворотка (плазма) крови, моча, СМЖ
KQ22	Набор реагентов-контрольные сыворотки для иммуноаналитического определения онкомаркеров 2 уровня (N, H) 2 по 2,0 мл каждый срок годности 36 месяцев	ОмаКон-Контроль	Приведены данные по анализу содержания следующих аналитов на Наборах реагентов отечественных и зарубежных производителей: общий простатаспецифический антиген (ПСА), свободный простатаспецифический антиген (свПСА), антиген СА 125, антиген СА 72-4, антиген CYFRA 21-1, антиген СА19.9, антиген СА 15.3 {MUC1 (M12)}, антиген MUC1 (M20), антиген MUC1 (M22), нейрон-специфическая енолаза (НСЕ), С-реактивный белок (СРБ), тиреоглобулин (ТГ), карциноэмбриональный антиген (раково-эмбриональный антиген, КЭА, РЭА), α-фетопротеин (АФП), СА242, SCC(A), кальцитонин, антиген HE4, антимюллеров гормон (АМГ), ферритин			
Диагностика диабета						
K267C	Набор реагентов для иммуноферментного определения С-пептида в биологических жидкостях	С-пептид-ИФА	60'(18-25°C)/10-20' (ТМБ)	0,015 нг/мл	6 (0-20 нг/мл), 1 контрольная сыворотка	25 сыворотка (плазма) крови, моча
K267N	Набор реагентов для иммуноферментного определения инсулина в сыворотке (плазме) крови	ИНСУЛИН-ИФА	60'(18-25°C)/10-20' (ТМБ)	0,5 мкМЕ/мл	5 (0-200 мкМЕ/мл), 1 контрольная сыворотка	25 сыворотка (плазма) крови
Диагностика нарушений Са обмена и остеопороза						
K261*	Набор реагентов для иммуноферментного определения кальцитонина в сыворотке (плазме) крови	КАЛЬЦИТОНИН-ИФА	60'(18-25C)/10-20' (ТМБ)	0,5 мкМЕ/мл	5 (0-200 мкМЕ/мл), 1 контрольная сыворотка	25 сыворотка (плазма) крови

Каталож. номер	Полное наименование Набора	Сокращенное наименование Набора	Схема проведения анализа	Аналитическая чувствительность, не менее (или иные технические характеристики)	Сведения о калибровочных пробах и/или контрольных сыворотках	Объем (мкл) и тип исследуемого образца
Бесприборная экспресс-диагностика XEMAtest						
X050	Набор реагентов для иммунохроматографического выявления антигена вируса гриппа в образцах выделений со слизистых оболочек носоглотки Доступные комплектации: 1 определение для домашнего применения или 20 определений для профессионального применения срок годности 36 месяцев	XEMAtest Грипп	10' (18-25 °C)	99,5% диагностическая чувствительность, 99,5% диагностическая специфичность Данные по аналитической чувствительности приведены в Инструкции по применению	2 контрольных образца (К+, К-), поставляются только в комплекте для профессионального применения	носоглоточный или назальный мазок
X221	Набор реагентов для иммунохроматографического выявления простатаспецифического антигена в сыворотке (плазме) или капиллярной крови Доступные комплектации: 1, 50 или 100 определений срок годности 36 месяцев	ПСА-ИХА (XEMAtest ПСА)	10' (18-25 °C)	4,0 (10,0) нг/мл	-	30–50 (одна капля) сыворотка (плазма) или капиллярная кровь
X222	Набор реагентов для иммунохроматографического выявления антигена СА 125 в сыворотке (плазме) или капиллярной крови Доступные комплектации: 1, 50 или 100 определений срок годности 36 месяцев	СА 125-ИХА (XEMAtest СА 125)	10' (18-25 °C)	35 Ед/мл	-	30–50 (одна капля) сыворотка (плазма) или капиллярная кровь
X224*	Набор реагентов для иммунохроматографического выявления карциномэмбрионального антигена в сыворотке (плазме) или капиллярной крови Доступные комплектации: 1, 50 или 100 определений срок годности 36 месяцев	КЭА-ИХА (XEMAtest КЭА)	10' (18-25 °C)	5,0 нг/мл	6 (0-64 нг/мл), 1 контрольная сыворотка	30-50 (1 капля) сыворотка (плазма) или капиллярная кровь
X225*	Набор реагентов для иммунохроматографического выявления α-фетопротеина в сыворотке (плазме) или капиллярной крови Доступные комплектации: 1, 50 или 100 определений срок годности 36 месяцев	АФП-ИХА (XEMAtest АФП)	10' (18-25 °C)	10,0 нг/мл	6 (0-64 нг/мл), 1 контрольная сыворотка	30-50 (1 капля) сыворотка (плазма) или капиллярная кровь
X291	Набор реагентов для иммунохроматографического выявления тропонина в сыворотке (плазме) или капиллярной крови Доступные комплектации: 1, 20, 50 или 100 определений срок годности 36 месяцев	ТРОПОНИН-ИХА (XEMAtest ТРОПОНИН)	10' (18-25 °C)	0,5 нг/мл		30-50 (1 капля) сыворотка (плазма) или капиллярная кровь
Диагностика целиакии						
K160	Набор реагентов для иммуноферментного определения IgG антител к тканевой трансглутаминазе в сыворотке (плазме) крови	антиТРАНСГЛЮТАМИНАЗА IgG-ИФА	30' (37 °C)/30' (37 °C)/10-20' (ТМБ)	1,0 Ед/мл	6 (0-200 Ед/мл), 1 контрольная сыворотка	5 (сыворотка) плазма крови
K161	Набор реагентов для иммуноферментного определения IgA антител к тканевой трансглутаминазе в сыворотке (плазме) крови	антиТРАНСГЛЮТАМИНАЗА IgA-ИФА	30' (37 °C)/30' (37 °C)/10-20' (ТМБ)	1,0 Ед/мл	6 (0-200 Ед/мл), 1 контрольная сыворотка	5 (сыворотка) плазма крови
K180	Набор реагентов для иммуноферментного определения IgG антител к глиадину в сыворотке (плазме) крови	антиГЛИАДИН IgG-ИФА	30' (18-25 °C)/30' (18-25 °C)/10-20' (ТМБ)	2,5 Ед/мл	5 (0-200 Ед/мл), 1 контрольная сыворотка	5 (сыворотка) плазма крови
K181	Набор реагентов для иммуноферментного определения IgA антител к глиадину в сыворотке (плазме) крови	антиГЛИАДИН IgA-ИФА	30' (18-25 °C)/30' (18-25 °C)/10-20' (ТМБ)	2,5 Ед/мл	5 (0-200 Ед/мл), 1 контрольная сыворотка	5 (сыворотка) плазма крови
K182A	Набор реагентов для иммуноферментного определения IgA антител к дезаминированному пептидам глиадин (ДПГ) в сыворотке (плазме) крови	антиДПГ IgA-ИФА	30' (37 °C)/30' (37 °C)/10-20' (ТМБ)	2,5 Ед/мл	6 (0-100 Ед/мл), 1 контрольная сыворотка	5 (сыворотка) плазма крови
K182G	Набор реагентов для иммуноферментного определения IgG антител к дезаминированному пептидам глиадин (ДПГ) в сыворотке (плазме) крови	антиДПГ IgG-ИФА	30' (37 °C)/30' (37 °C)/10-20' (ТМБ)	2,5 Ед/мл	6 (0-100 Ед/мл), 1 контрольная сыворотка	5 (сыворотка) плазма крови
Диагностика заболеваний репродуктивной сферы и бесплодия						
K245	Набор реагентов для иммуноферментного определения антимюллерова гормона в сыворотке (плазме) крови	АМГ-ИФА	60' (37 °C)/10-20' (ТМБ)	0,1 нг/мл	5 (0-50 нг/мл), 1 контрольная сыворотка	20 (сыворотка) плазма крови
K202	Набор реагентов для иммуноферментного определения лютеотропного гормона в сыворотке (плазме) крови	ЛГ-ИФА	60' (37 °C)/10-20' (ТМБ)	0,15 МЕ/л	5 (0-100 МЕ/л), 1 контрольная сыворотка	50 (сыворотка) плазма крови
K203	Набор реагентов для иммуноферментного определения фолликулостимулирующего гормона в сыворотке (плазме) крови	ФСГ-ИФА	60' (37 °C)/10-20' (ТМБ)	0,15 МЕ/л	5 (0-100 МЕ/л), 1 контрольная сыворотка	50 (сыворотка) плазма крови

Каталож. номер	Полное наименование Набора	Сокращенное наименование Набора	Схема проведения анализа	Аналитическая чувствительность, не менее (или иные технические характеристики)	Сведения о калибровочных пробах и/или контрольных сыворотках	Объем (мкл) и тип исследуемого образца
K205	Набор реагентов для иммуноферментного определения хорионического гонадотропина в сыворотке (плазме) крови	ХГ-ИФА	60'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	1,25 МЕ/л	6 (0-500 МЕ/л), 1 контрольная сыворотка	50 (сыворотка) плазма крови
K235	Набор реагентов для иммуноферментного определения свободной β-цепи хорионического гонадотропина в сыворотке (плазме) крови	свХГ-ИФА	30'(37 °C)/30'(37 °C)/ 10-20' (ТМБ)	1,0 нг/мл	5 (0-250 нг/мл), 1 контрольная сыворотка	20 (сыворотка) плазма крови
K225	Набор реагентов для иммуноферментного определения α-фетопротеина в сыворотке (плазме) крови	АФП-ИФА	60'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	0,5 Ед/мл (МЕ/мл)	6 (0-500 Ед/мл (МЕ/мл)), 1 контрольная сыворотка	50 (сыворотка) плазма крови
K206	Набор реагентов для иммуноферментного определения пролактина в сыворотке (плазме) крови	ПРОЛАКТИН-ИФА	60'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	5,0 мМЕ/л	5 (0-2000 мМЕ/л), 1 контрольная сыворотка	50 (сыворотка) плазма крови
K207	Набор реагентов для иммуноферментного определения прогестерона в сыворотке (плазме) крови	ПРОГЕСТЕРОН-ИФА	120'(37 °C)/ 10-20' (ТМБ) или 60'(37 °C, шейкирование)/ 10-20' (ТМБ)	0,25 нмоль/л	7 (0-300 нмоль/л), 1 контрольная сыворотка	25 (сыворотка) плазма крови
K207S*	Набор реагентов для иммуноферментного определения прогестерона в слюне	ПРОГЕСТЕРОНплюс-ИФА	60'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	0,02 нмоль/л	5 (0-5,0 нмоль/л), 1 контрольная сыворотка	100 слюна
K208	Набор реагентов для иммуноферментного определения эстрадиола в сыворотке (плазме) крови	ЭСТРАДИОЛ-ИФА	120'(37 °C)/ 10-20' (ТМБ) или 60'(37 °C, шейкирование)/ 10-20' (ТМБ)	0,025 нмоль/л	6 (0-20 нмоль/л), 1 контрольная сыворотка	25 (сыворотка) плазма крови
K209	Набор реагентов для иммуноферментного определения тестостерона в сыворотке (плазме) крови	ТЕСТОСТЕРОН-ИФА	120'(37 °C)/ 10-20' (ТМБ) или 60'(37 °C, шейкирование)/ 10-20' (ТМБ)	0,15 нмоль/л	6 (0-100 нмоль/л), 2 контрольных сыворотки	25 (сыворотка) плазма крови
K209S*	Набор реагентов для иммуноферментного определения тестостерона в слюне	ТЕСТОСТЕРОНплюс-ИФА	120'(37 °C)/ 10-20' (ТМБ)	0,015 нмоль/л	6 (0-3,0 нмоль/л)	100 слюна
K216*	Набор реагентов для иммуноферментного определения эстрона в сыворотке (плазме) крови	ЭСТРОН-ИФА	60'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	0,25 пмоль/л	6 (0-10,0 пмоль/л)	50 (сыворотка) плазма крови
K219	Набор реагентов для иммуноферментного определения свободного тестостерона в сыворотке (плазме) крови	свТЕСТОСТЕРОН-ИФА	120'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	0,06 пг/мл	6 (0-100 пг/мл), 1 контрольная сыворотка	25 (сыворотка) плазма крови
K218	Набор реагентов для иммуноферментного определения свободного эстриола в сыворотке (плазме) крови	свЭСТРИОЛ-ИФА	120'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	0,25 нмоль/л	6 (0-100 нмоль/л), 1 контрольная сыворотка	25 (сыворотка) плазма крови
K246	Набор реагентов для иммуноферментного определения плацентарного лактогена в сыворотке (плазме) крови	ПЛ-ИФА	30'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	0,03 мг/л	5 (0-20 мг/л) 1 контрольная сыворотка	5 сыворотка (плазма) крови
K268	Набор реагентов для иммуноферментного определения секс-стероид-связывающего глобулина в сыворотке (плазме) крови	ССГ-ИФА	30'(37 °C)/30'(37 °C)/ 10-20' (ТМБ)	3,0 нмоль/л	6 (0-360 нмоль/л), 1 контрольная сыворотка	10 (сыворотка) плазма крови
KQ21	Набор реагентов-контрольные сыворотки для иммуноаналитического определения гормонов 2 уровня (N, H) 2 по 2,0 мл каждый срок годности 36 месяцев	ГормоКон-Контроль	Приведены данные по анализу содержания следующих аналитов на Наборах реагентов отечественных и зарубежных производителей: тиреотропный гормон (ТТГ), общий трийодтиронин (Т3), свободный трийодтиронин (свТ3), общий тироксин (Т4), свободный тироксин (свТ4), лютеотропный гормон (ЛГ), фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), хорионический гонадотропин (ХГ), гормон роста (соматотропный гормон), пролактин, эстрадиол, прогестерон, тестостерон, кортизол, дегидроэпиандростерон-сульфат (ДЭАС), 17-гидроксипрогестерон (17-ОН-прогестерон), свободный (неконъюгированный) эстриол, общий IgE, секс-стероид-связывающий глобулин (ССГ)			

Каталож. номер	Полное наименование Набора	Сокращенное наименование Набора	Схема проведения анализа	Аналитическая чувствительность, не менее (или иные технические характеристики)	Сведения о калибровочных пробах и/или контрольных сыворотках	Объем (мкл) и тип исследуемого образца
Диагностика заболеваний надпочечников						
K210	Набор реагентов для иммуноферментного определения кортизола в сыворотке (плазме) крови	КОРТИЗОЛ-ИФА	60'(37 °C) или 30'(37 °C, шейкирование)/ 10-20' (ТМБ)	6,0 нмоль/л	6 (0-2000 нмоль/л), 1 контрольная сыворотка	25 (сыворотка) плазма крови
K210S*	Набор реагентов для иммуноферментного определения кортизола в слюне	КОРТИЗОЛплюс-ИФА	60'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	0,035 нг/мл	7 (0-45 нг/мл), 2 контрольных сыворотки	50 слюна
K215	Набор реагентов для иммуноферментного определения дегидроэпиандростерон-сульфата в сыворотке (плазме) крови	ДЭАС-ИФА	60'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	0,025 мкг/мл	6 (0-10,0 мкг/мл), 1 контрольная сыворотка	25 (сыворотка) плазма крови
K215S*	Набор реагентов для иммуноферментного определения дегидроэпиандростерон-сульфата в слюне	ДЭАСплюс-ИФА	60'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	0,02 мкг/мл	6 (0-10,0 мкг/мл), 1 контрольная сыворотка	50 слюна
K217	Набор реагентов для иммуноферментного определения 17-гидроксипрогестерона в сыворотке (плазме) крови	17-ОН-ПРОГЕСТЕРОН-ИФА	90'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	0,12 нмоль/л	6 (0-100 нмоль/мл), 1 контрольная сыворотка	50 (сыворотка) плазма крови
KQ21	Набор реагентов-контрольные сыворотки для иммуноаналитического определения гормонов 2 уровня (N, H) 2 по 2,0 мл каждый срок годности 36 месяцев	ГормоКон-Контроль	Приведены данные по анализу содержания следующих аналитов на Наборах реагентов отечественных и зарубежных производителей: тиреотропный гормон (ТТГ), общий трийодтиронин (Т3), свободный трийодтиронин (свТ3), общий тироксин (Т4), свободный тироксин (свТ4), лютеотропный гормон (ЛГ), фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), хорионический гонадотропин (ХГ), гормон роста (соматотропный гормон), пролактин, эстрадиол, прогестерон, тестостерон, кортизол, дегидроэпиандростерон-сульфат (ДЭАС), 17-гидроксипрогестерон (17-ОН-прогестерон), свободный (неконъюгированный) эстриол, общий IgE, секс-стероид-связывающий глобулин (ССГ)			
Пренатальный скрининг						
I триместр						
K235	Набор реагентов для иммуноферментного определения свободной β-цепи хорионического гонадотропина в сыворотке (плазме) крови	свβХГ-ИФА	30'(37 °C)/30'(37 °C)/ 10-20' (ТМБ)	1,0 нг/мл	5 (0-250 нг/мл), 1 контрольная сыворотка	20 (сыворотка) плазма крови
K238	Набор реагентов для иммуноферментного определения плазменного ассоциированного с беременностью белка А (ПАББ-А) в сыворотке (плазме) крови	ПАББ-А-ИФА	60'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	10,0 мЕд/л	6 (0-10000 мЕд/л), 1 контрольная сыворотка	20 (сыворотка) плазма крови
II триместр						
K205	Набор реагентов для иммуноферментного определения хорионического гонадотропина в сыворотке (плазме) крови	ХГ-ИФА	60'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	1,25 МЕ/л	6 (0-500 МЕ/л), 1 контрольная сыворотка	50 (сыворотка) плазма крови
K225	Набор реагентов для иммуноферментного определения α-фетопротеина в сыворотке (плазме) крови	АФП-ИФА	60'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	0,5 Ед/мл (МЕ/мл)	6 (0-500 Ед/мл (МЕ/мл)), 1 контрольная сыворотка	50 (сыворотка) плазма крови
K218	Набор реагентов для иммуноферментного определения свободного эстриола в сыворотке (плазме) крови	свЭСТРИОЛ-ИФА	120'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	0,25 нмоль/л	6 (0-100 нмоль/л), 1 контрольная сыворотка	25 (сыворотка) плазма крови
KQ23	Набор реагентов-контрольные сыворотки для иммуноаналитического определения биохимических маркеров пренатального скрининга 2 уровня (N, H) 2 по 1,0 мл каждый срок годности 36 месяцев	ПренаКон-Контроль	Приведены данные по анализу содержания следующих аналитов на Наборах реагентов отечественных и зарубежных производителей: свободная β-цепь хорионического гонадотропина (свβХГ), плазменный ассоциированный с беременностью белок А (ПАББ-А), хорионический гонадотропин (ХГ), α-фетопротеин (АФП), свободный (неконъюгированный) эстриол			
W23R*	Программа для компьютерного расчета риска синдрома Дауна и других врожденных заболеваний в I и/или II триместрах беременности по данным биохимического скрининга и УЗИ «Калькулятор риска синдрома Дауна». Платформа открыта для Наборов реагентов любых производителей. Доступные варианты комплектации: комплектация 1 копия ПО «КРСД-ХЕМА»; комплектация 1 копия ПО «КРСД-ХЕМА» + 1 Набор «свβХГ-ИФА» + 1 Набор «ПАББ-А-ИФА» + 1 Набор «ХГ-ИФА» + 1 Набор «АФП-ИФА» + 1 Набор «свЭСТРИОЛ-ИФА»	КРСД-ХЕМА	-			

Каталож. номер	Полное наименование Набора	Сокращенное наименование Набора	Схема проведения анализа	Аналитическая чувствительность, не менее (или иные технические характеристики)	Сведения о калибровочных пробах и/или контрольных сыворотках	Объем (мкл) и тип исследуемого образца
Гормон роста						
K204	Набор реагентов для иммуноферментного определения гормона роста в сыворотке (плазме) крови	ГР-ИФА	60'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	0,12 мМЕ/л	5 (0-50 мМЕ/л), 1 контрольная сыворотка	50 (сыворотка) плазма крови
Аллергология						
K200	Набор реагентов для иммуноферментного определения общего IgE в сыворотке (плазме) крови	ОБЩИЙ IgE-ИФА	30'(37 °C)/30'(37 °C)/ 10-20' (ТМБ)	3,0 МЕ/мл	5 (0-1000 МЕ/мл), 1 контрольная сыворотка	50 (сыворотка) плазма крови
K200S	Набор реагентов для иммуноферментного определения аллергенспецифического IgE в сыворотке (плазме) крови. В состав Набора входят 6 базовых аллергенов: D1-клещ домашней пыли; E1-эпидермис кошки; E2-эпидермис собаки; Gx-смесь пыльцы злаков; W56-смесь пыльцы сорных трав; Tx-смесь пыльцы деревьев	СПЕЦ-IgE-ИФА	60'(18-25°C, шейкирование)/ 60'(18-25°C, шейкирование)/ 30'(18-25°C, шейкирование)/ 10-20' (ТМБ)	0,05 МЕ/мл	5 (0-17,5 МЕ/мл), 1 контрольная сыворотка	50 (сыворотка) плазма крови
B200S*	Биотинилированные аллергены для использования в Наборе K200S при создании индивидуальной аллергологической панели. Полный перечень представлен в отдельном каталоге «Биотинилированные аллергены». Готов к использованию. Комплектация 28 мл (280 определений) срок годности 36 месяцев	АЛЛЕРГЕН-БИОТИН	-	-	-	-
Иммунный статус (гуморальный иммунитет)						
K275	Набор реагентов для иммуноферментного определения общего IgA в биологических жидкостях	ОБЩИЙ IgA-ИФА	30'(37 °C)/30'(37 °C)/ 10-20' (ТМБ)	0,06 г/л	5 (0-5,0 г/л), 1 контрольная сыворотка	10 сыворотка (плазма) крови, слюна; 20 моча; 50 СМЖ
K276	Набор реагентов для иммуноферментного определения секреторного IgA в биологических жидкостях	СЕКРЕТОРНЫЙ IgA-ИФА	90'(37 °C)/30'(37 °C)/ 10-20' (ТМБ)	0,6 мкг/мл	6 (0-400 мкг/мл), 1 контрольная сыворотка	5 сыворотка (плазма) крови, слюна, бронхоальвео- лярная жидкость, назальный смыв, вагинальный секрет, грудное молоко; 10 моча
K277	Набор реагентов для иммуноферментного определения общего IgM в биологических жидкостях	ОБЩИЙ IgM-ИФА	30'(37 °C)/30'(37 °C)/ 10-20' (ТМБ)	0,06 г/л	5 (0-10,0 г/л), 1 контрольная сыворотка	10 сыворотка (плазма) крови, слюна; 20 СМЖ; 50 моча
K271	Набор реагентов для иммуноферментного определения общего IgG в биологических жидкостях	ОБЩИЙ IgG-ИФА	30'(37 °C)/30'(37 °C)/ 10-20' (ТМБ)	0,06 г/л	5 (0-25 г/л), 1 контрольная сыворотка	10 сыворотка (плазма) крови, слюна, СМЖ; 50 моча
K272*	Набор реагентов для иммуноферментного определения IgG2 в сыворотке (плазме) крови	IgG2-ИФА	30'(37 °C)/30'(37 °C)/ 10-20' (ТМБ)	0,06 г/л	6 (0-15 г/л), 1 контрольная сыворотка	10 сыворотка (плазма) крови
K274*	Набор реагентов для иммуноферментного определения IgG4 в сыворотке (плазме) крови	IgG4-ИФА	30'(37 °C)/30'(37 °C)/ 10-20' (ТМБ)	0,02 г/л	5 (0-2,5 г/л), 1 контрольная сыворотка	10 сыворотка (плазма) крови
K470	Набор реагентов для определения циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке (плазме) крови Комплектация для 384 определений срок годности 36 месяцев	ЦИК-ХЕМА	120'(18-25 °C)	-	-	20 сыворотка (плазма) крови

Каталож. номер	Полное наименование Набора	Сокращенное наименование Набора	Схема проведения анализа	Аналитическая чувствительность, не менее (или иные технические характеристики)	Сведения о калибровочных пробах и/или контрольных сыворотках	Объем (мл) и тип исследуемого образца
Диагностика аутоиммунных заболеваний						
K250	Набор реагентов для иммуноферментного определения С-реактивного белка в сыворотке (плазме) крови	СРБ-ИФА	30'(37 °C)/30'(37 °C)/ 10-20' (ТМБ)	0,05 мг/л	6 (0-25 мг/л), 1 контрольная сыворотка	5 сыворотка (плазма) крови
K133*	Набор реагентов для иммуноферментного определения аутоантител к миелопероксидазе в сыворотке (плазме) крови	АТ-МПО-ИФА	30'(18-25 °C)/ 30'(18-25 °C)/ 10-20' (ТМБ)-	3,0 Ед/мл	6 (0-100 Ед/мл), 1 контрольная сыворотка	5 сыворотка (плазма) крови
Диагностика интерстициальных заболеваний легких (альвеолитов)						
K240	Набор реагентов для иммуноферментного определения альвеомуцина в биологических жидкостях	АЛЬВЕОМУЦИН-ИФА	30'(18-25°C, шейкирование)/ 30'(18-25°C, шейкирование)/ 10-20' (ТМБ)	2,5 Ед/мл	5 (0-200 Ед/мл), 1 контрольная сыворотка	50 (сыворотка) плазма крови
Маркеры острой фазы воспаления и кардиомаркеры						
K291	Набор реагентов для иммуноферментного определения тропонина I в сыворотке (плазме) крови	ТРОПОНИН I-ИФА	60'(37 °C)/10-20' (ТМБ)	0,01 нг/мл	5 (0-10,0 нг/мл), 1 контрольная сыворотка	50 (сыворотка) плазма крови
X291	Набор реагентов для иммунохроматографического выявления тропонина в сыворотке (плазме) или капиллярной крови Доступные комплектации: 1, 20, 50 или 100 определений срок годности 36 месяцев	ТРОПОНИН-ИХА (ХЕМАtest ТРОПОНИН)	10'(18-25 °C)	0,5 нг/мл	-	30-50 (одна капля) сыворотка (плазма) или капиллярная кровь
K250	Набор реагентов для иммуноферментного определения С-реактивного белка в сыворотке (плазме) крови	СРБ-ИФА	30'(37 °C)/30'(37 °C)/ 10-20' (ТМБ)	0,05 мг/л	6 (0-25 мг/л), 1 контрольная сыворотка	5 сыворотка (плазма) крови
Контрольные материалы для иммуноанализа						
KQ13	Набор реагентов-контрольные сыворотки для иммуноаналитического определения маркеров заболеваний щитовидной железы 5 уровней (А,В,С,Д,Е) по 1,0 мл каждый срок годности 36 месяцев	АутоКон-АТ-Контроль	Приведены данные по анализу содержания следующих аналитов на Наборах реагентов отечественных и зарубежных производителей: аутоантитела к тиреопероксидазе (АТ-ТПО), аутоантитела к тиреоглобулину (АТ-ТГ), аутоантитела к рецептору тиреотропного гормона (АТ-рТТГ)			
KQ21	Набор реагентов-контрольные сыворотки для иммуноаналитического определения гормонов 2 уровня (N, H) 2 по 2,0 мл каждый срок годности 36 месяцев	ГормоКон-Контроль	Приведены данные по анализу содержания следующих аналитов на Наборах реагентов отечественных и зарубежных производителей: тиреотропный гормон (ТТГ), общий трийодтиронин (Т3), свободный трийодтиронин (свТ3), общий тироксин (Т4), свободный тироксин (свТ4), лютеотропный гормон (ЛГ), фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), хорионический гонадотропин (ХГ), гормон роста (соматотропный гормон), пролактин, эстрадиол, прогестерон, тестостерон, кортизол, дегидроэпиандростерон-сульфат (ДЭАС), 17-гидроксипрогестерон (17-ОН-прогестерон), свободный (неконъюгированный) эстриол, общий IgE, секс-стероид-связывающий глобулин (ССГ)			
KQ22	Набор реагентов-контрольные сыворотки для иммуноаналитического определения онкомаркеров 2 уровня (N, H) 2 по 2,0 мл каждый срок годности 36 месяцев	ОмаКон-Контроль	Приведены данные по анализу содержания следующих аналитов на Наборах реагентов отечественных и зарубежных производителей: общий простатаспецифический антиген (ПСА), свободный простатаспецифический антиген (свПСА), антиген СА 125, антиген СА 72-4, антиген CYFRA 21-1, антиген СА19.9, антиген СА 15.3 {MUC1 (M12)}, антиген MUC1 (M20), антиген MUC1 (M22), нейрон-специфическая енолаза (НСЕ), С-реактивный белок (СРБ), тиреоглобулин (ТГ), карциноэмбриональный антиген (раково-эмбриональный антиген, КЭА, РЭА), α-фетопротеин (АФП), СА242, SCC(A), кальцитонин, антиген HE4, антимюллеров гормон (АМГ), ферритин			
KQ23	Набор реагентов-контрольные сыворотки для иммуноаналитического определения биохимических маркеров пренатального скрининга 2 уровня (N, H) 2 по 1,0 мл каждый срок годности 36 месяцев	ПренаКон-Контроль	Приведены данные по анализу содержания следующих аналитов на Наборах реагентов отечественных и зарубежных производителей: свободная β-цепь хорионического гонадотропина (свβХГ), плазменный ассоциированный с беременностью белок А (ПАББ-А), хорионический гонадотропин (ХГ), α-фетопротеин (АФП), свободный (неконъюгированный) эстриол			

Каталож. номер	Полное наименование Набора	Сокращенное наименование Набора	Схема проведения анализа	Аналитическая чувствительность, не менее (или иные технические характеристики)	Сведения о калибровочных пробах и/или контрольных сыворотках	Объем (мкл) и тип исследуемого образца
Наборы реагентов для научных исследований в области онкологии и гематологии						
K257*	Набор реагентов для иммуноферментного определения фактора роста эндотелия сосудов человека (ФРЭСЧ) (VEGF, Vascular Endothelial Growth Factor) в биологических жидкостях срок годности 36 месяцев	ФРЭСЧ-ИФА	60'(37 °C)/30'(37 °C)/ 10-20' (37 °C, ТМБ)	25 пг/мл	7 (0-2000 пг/мл)	100 сыворотка (плазма) крови, моча, супернатанты клеточных культур, гомогенаты тканей, клеточные лизаты
K258*	Набор реагентов для иммуноферментного определения растворимого рецептора фактора роста эпителия человека (РРФРЭЧ) (EGFR, Epithelial Growth Factor Receptor) в биологических жидкостях срок годности 36 месяцев	РРФРЭЧ-ИФА	30'(37 °C)/30'(37 °C)/ 30'(37 °C)/10-20' (37 °C, ТМБ)	50 пг/мл	6 (0-10000 пг/мл)	100 сыворотка (плазма) крови, моча, супернатанты клеточных культур, гомогенаты тканей, клеточные лизаты
K259*	Набор реагентов для иммуноферментного определения фактора свертывания крови VII человека (ФСКЧ VII) в биологических жидкостях срок годности 36 месяцев	ФСКЧ VII-ИФА	30'(37 °C)/30'(37 °C)/ 30'(37 °C)/10-20' (37 °C, ТМБ)	0,2 нг/мл	6 (0-1000 нг/мл)	100 сыворотка (плазма) крови, моча, супернатанты клеточных культур, гомогенаты тканей, клеточные лизаты
K260*	Набор реагентов для иммуноферментного определения фактора свертывания крови VIII человека (ФСКЧ VIII) в биологических жидкостях срок годности 36 месяцев	ФСКЧ VIII-ИФА	30'(37 °C)/30'(37 °C)/ 30'(37 °C)/10-20' (37 °C, ТМБ)	1,0 нг/мл	6 0-1000 нг/мл)	100 сыворотка (плазма) крови, моча, супернатанты клеточных культур, гомогенаты тканей, клеточные лизаты
K262*	Набор реагентов для иммуноферментного определения β-интерферона человека (IFβ) в биологических жидкостях срок годности 36 месяцев	IFβ-ИФА	30'(37 °C)/30'(37 °C)/ 30'(37 °C)/10-20' (37 °C, ТМБ)	5,0 пг/мл	6 (0-5000 пг/мл)	100 сыворотка (плазма) крови, моча, супернатанты клеточных культур, гомогенаты тканей, клеточные лизаты

Каталож. номер	Полное наименование Набора	Сокращенное наименование Набора
Иммуногистохимия		
Первичные (целевые) мышинные моноклональные антитела для иммуногистохимии/ иммуноцитохимии / проточной цитофлюориметрии		
АН200*	Первичные (целевые) моноклональные антитела для иммуногистохимического выявления свободного IgE в тканях, тучных клетках и базофилах 5,0 мл (рабочее разведение 10-50 раз) срок годности 24 месяца	анти-IgE-ИГХ
АН221*	Первичные (целевые) моноклональные антитела для иммуногистохимического выявления карциномы простаты 5,0 мл (рабочее разведение 10-50 раз) срок годности 24 месяца	анти-обПСА-ИГХ
АН222*	Первичные (целевые) моноклональные антитела для иммуногистохимического выявления серозных карцином яичника, других аденокарцином и эндометриоза 5,0 мл (рабочее разведение 10-50 раз) срок годности 24 месяца	анти-CA125-ИГХ
АН223*	Первичные (целевые) моноклональные антитела для иммуногистохимического выявления панкреатических аденокарцином, холестидаденокарцином, аденокарциномы желудка и муцинозных карцином яичника 5,0 мл (рабочее разведение 10-50 раз) срок годности 24 месяца	анти-CA19.9-ИГХ
АН224*	Первичные (целевые) моноклональные антитела для иммуногистохимического выявления аденокарцином 5,0 мл (рабочее разведение 10-50 раз) срок годности 24 месяца	анти-КЭА(РЭА)-ИГХ
АН225*	Первичные (целевые) моноклональные антитела для иммуногистохимического выявления первичной гепатомы, эмбрионально-клеточной опухоли яичника и яичка, тератомы 5,0 мл (рабочее разведение 10-50 раз) срок годности 24 месяца	анти-АФП-ИГХ
АН226*	Первичные (целевые) моноклональные антитела для иммуногистохимического выявления опухоли молочной железы и других типов аденокарциномы 5,0 мл (рабочее разведение 10-50 раз) срок годности 24 месяца	анти-MUC1-ИГХ
АН233*	Первичные (целевые) моноклональные антитела для иммуногистохимического выявления нейробластомы и мелкоклеточного рака легкого 5,0 мл (рабочее разведение 10-50 раз)	анти-НСЕ-ИГХ
АН234*	Первичные (целевые) моноклональные антитела для иммуногистохимического выявления нейробластомы и меланомы 5,0 мл (рабочее разведение 10-50 раз) срок годности 24 месяца	анти-S100-ИГХ
АН236*	Первичные (целевые) моноклональные антитела для иммуногистохимического выявления эпителиальных опухолей 5,0 мл (рабочее разведение 10-50 раз) срок годности 24 месяца	анти-PAN цитокератин-ИГХ
АН240*	Первичные (целевые) моноклональные антитела для иммуногистохимического выявления альвеолоцитов II типа (интерстициальные заболевания легких) 5,0 мл (рабочее разведение 10-50 раз) срок годности 24 месяца	анти-АЛЬВЕОЦИТЫ (II)-ИГХ
Наборы для детекции результатов иммуногистохимических реакций		
КН301-100*	Набор реагентов для детекции для иммуногистохимии (кроличьи антитела) Комплектация для 100 определений, срок годности 24 месяца	RIG-100-ИГХ -
КН302-100*	Набор для детекции для иммуногистохимии (мышинные антитела) Комплектация для 100 определений, срок годности 24 месяца	MIG-100-ИГХ
Вспомогательные компоненты		
S005X*	Фосфатный буфер для иммуногистохимических реакций 10х концентрат, 100 мл, срок годности 24 месяца	ФБ-ИГХ
S006X*	Цитратный буфер для иммуногистохимических реакций 10х концентрат, 100 мл, срок годности 24 месяца	ЦБ-ИГХ
S015X*	Трис-гидрохлоридный буфер для иммуногистохимических реакций 10х концентрат, 100 мл, срок годности 24 месяца	ТРИС-ИГХ
SH022*	Твин-гидрохлоридный буфер для иммуногистохимических реакций 10х концентрат, 100 мл, срок годности 24 месяца	ТВИН-НСИ-ИГХ
SH025*	Буфер для разведения антител для иммуногистохимических реакций 10х концентрат, 100 мл, срок годности 24 месяца	АБ-ИГХ
SH301*	Блокирующий раствор для иммуногистохимических реакций (кроличьи антитела) 5,0 мл, срок годности 24 месяца	БЛОК-К-ИГХ
SH302*	Блокирующий раствор для иммуногистохимических реакций (мышинные антитела) 5,0 мл, срок годности 24 месяца	БЛОК-М-ИГХ

* Наборы реагентов для научных исследований.

Не являются медицинскими изделиями. Данная продукция не зарегистрирована на территории РФ в качестве медицинского изделия. НДС на данную продукцию составляет 20 %.

Все прочие Наборы реагентов зарегистрированы в качестве медицинских изделий на территории РФ и имеют Регистрационное удостоверение. НДС на данную продукцию составляет 10 %. Наборы реагентов предназначены для ин витро диагностики.

Общие характеристики Наборов реагентов:

Все Наборы включают в себя стандартный 96-луночный иммунологический планшет с разделяемыми стрипами, возможно использование в анализе даже одной отдельной лунки. В комплект поставки Набора входят Инструкция по применению, аналитический паспорт (паспорт контроля качества) серии, а также все необходимые контрольные материалы для внутрилабораторного контроля качества (ВЛК). По Вашему желанию Наборы могут поставляться в картонных коробках или в полиэтиленовых пакетах с защелкой.

Срок годности Наборов 18 месяцев (если не указано иначе).

Производитель предоставляет в комплекте все необходимые материалы для проведения анализа. Все компоненты Наборов готовы к использованию и не требуют дополнительной подготовки. Все вспомогательные компоненты Наборов {ИФА-Буферы для предразведения исследуемых образцов, концентрат отмывочного раствора, раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), стоп-реагент} являются универсальными и взаимозаменяемыми для всех Наборов производства ООО «ХЕМА».

В случае, если для работы Вам понадобились ванночки для реагентов, одноразовые наконечники для дозаторов, дополнительные планшеты или пластиковые пробирки для предразведения исследуемых образцов, логарифмическая бумага для построения калибровочного графика, липкая лента для заклеивания планшета, а также дополнительные объемы каких-либо компонентов Набора {ИФА-Буферы для предразведения исследуемых образцов, концентрат отмывочного раствора, раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), стоп-реагент}, просим Вас сообщить об этом представителю производителя в Вашем регионе. Все указанные компоненты предоставляются бесплатно в необходимом количестве. Вся продукция полностью совместима с любыми автоматическими и полуавтоматическими открытыми платформами для иммунологического анализа (анализаторами). Если в процессе работы с подобным оборудованием Вам требуется специфическая тара для реагентов, просим Вас связаться с представителем производителя в Вашем регионе.

Если в процессе работы Вы столкнулись с затруднениями или у Вас появились вопросы, связанные с программированием оборудования (автоматические анализаторы, спектрофотометры, термошейкеры), просим Вас связаться с представителем производителя в Вашем регионе. Служба клиентского сервиса ООО «ХЕМА» предоставляет бесплатный выезд специалиста для обучения Вашего персонала, настройки оборудования и консультации по телефону бесплатной телефонной горячей линии, электронной почте или skype.

При единовременном заказе на сумму свыше 75000 руб. в цену включена бесплатная доставка продукции до дверей Вашей лаборатории по всей территории РФ с использованием службы экспресс-доставки. Доставка осуществляется с соблюдением всех необходимых условий хранения и транспортирования Наборов (холодовая цепь).

Контактная информация

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

Адрес для корреспонденции: 105043, г. Москва, а/я 58
☏ 105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1 под., 5 эт.
☎ +7 495 510-507

☎ +8 800 505-23-45

✉ sale@xema.ru

🌐 www.xema-medica.com

Вопросы сотрудничества в РФ и странах СНГ:

Кострикин Дмитрий Сергеевич

☎ +7 985 888-77-00

✉ dmitry.kostrikin@gmail.com

☎ +7 916 541-70-81

Вопросы международного сотрудничества

(страны дальнего зарубежья):

Редькин Андрей Павлович

☎ +7 903 723-19-81

✉ redkin@xema.ru

Отдел клиентского сервиса:

Горбачев Игорь Александрович

☎ +8 800 505 23 45

☎ +7 985 221 08 85

✉ client.xema@gmail.com

💬 xemahelp1

☎ +7 985 221 08 85

Северо-западный федеральный округ, г. Санкт-Петербург ФООО «ХЕМА»

Региональное представительство

☏ 191144, г. Санкт-Петербург,

Дегтярный пер., д. 8-10, литер «А»

☎ +7 812 271-24-41

☎ +7 911 920-84-12

☎ +7 812 271-78-70

✉ spb@xema.ru

Южный федеральный округ, Северо-Кавказский федеральный округ, г. Ростов-на-Дону

ООО «Ольвекс Диагностикум-Юг»

Эксклюзивный представитель в регионе

☏ 344019, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я Линия, д. 50, оф. 604

☎ +7 863 291-41-00, 291-46-16, 263-64-99,

263-65-22, 263-65-25

✉ rostov@xema.ru

www.donlab.ru

Уральский федеральный округ, г. Челябинск

Региональное представительство

☏ 454021, г. Челябинск, ул. Молодогвардейцев, д. 31,

БЦ Grand Vera, оф. 1102

☎ +7 351 217-30-08

☎ +7 905 833-25-29

✉ ural@xema.ru

Приволжский федеральный округ, г. Казань

ООО «Актимед»

Эксклюзивный представитель в регионе

(наборы для медицинской диагностики)

☏ 420095, г. Казань, ул. Восстания, д. 100

☎ +7 843 212-57-77, 212-57-44, 212-57-45,

564-65-49, 564-47-74, 212-55-12, 212-52-02

✉ aktimed@mail.ru

Сибирский федеральный округ

ООО «Адамант»

Официальный представитель

☏ 630108, РФ, г. Новосибирск, ул. Котовского, д. 26

☎ +7 383 3-120-160 (многоканальный)

✉ mega.adamant@list.ru

Беларусь, г. Минск

ООО «Хемма-Тест»

Эксклюзивный представитель в регионе

☏ 220029, г. Минск, пр-т Машерова, д. 11, литер «А», корп. 8/К, оф. 416

Лаборатория: 220086, г. Минск,

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

☎ +375 17 284-29-85

✉ hemma-test@yandex.ru

Украина, г. Киев

ТОВ «Хема»

Эксклюзивный представитель в регионе

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

☎ +38 044 422-62-16

☎ +38 095 609-9-555

✉ info@xema.com.ua

Казахстан, г. Актобе

ТОО «Лабмедсервис»

Эксклюзивный представитель в регионе

Производство ИФА-наборов из компонентов ООО «ХЕМА»

☏ 030004, г. Актобе, с. Каргалинское, ул. Кургулова, д. 19 «В»

☎ +7 7132 98-55-22,

☎ +7 7132 98-55-33

☎ +7 701 366-84-20

✉ info@labmedservice.com

Узбекистан, г. Ташкент

ООО «Diamed Lab Service»

Эксклюзивный представитель в регионе

☏ 100053, г. Ташкент, Юнусабадский район, ул. Бадамзар, д. 3

☎ +998 98 127-95-02, +998 97 747-95-02

✉ sherzodn@list.ru

Узбекистан, г. Булунгур

ООО «Kolibri»

Официальный представитель

☏ 140100, г. Булунгур, ул. Галаба, д. 15

☎ +998 91 297-01-00, +998 91 552-04-44

✉ infomedtravel@mail.ru

Молдова, г. Кишинев

ООО «Санмедико»

☏ MD-2012, г. Кишинев, ул. А. Коробчану д. 7 «А», кв. 9

☎ +373 (022) 62 30 32

✉ sanmedico.office@gmail.com

Грузия, г. Тбилиси

ООО «Евролаб»

☏ 0077 г. Тбилиси, ул. Киквидзе, д. ба

☎ +995 99 31-24-45, +995 92 31-24-45

☎ +995 32 38-01-50

✉ nelitest@mail.ru

✉ nelibarnabishvili@yahoo.com

Азербайджан, г. Баку

«Viva Lab MMC»

Эксклюзивный представитель в регионе

☏ AZE1111, г. Баку, Ясамальский район, ул. Шарифзадэ, д. 44

☎ +994 55 316-81-21

✉ haciyeva.sevda23@gmail.com

Киргизия, г. Бишкек

ОсОО «Медицинский центр Кокомерен»

☏ 720000, г. Бишкек, н/с Ак Оргоо, ул. Тогуз Канат, д. 37

☎ +996 312 595-632

☎ +996 312 595-634

✉ avicennakg@yandex.com

Туркменистан, г. Ашхабад

Yshgyn IE

☏ 744027, г. Ашхабад, улица 1957 (Oguzhan), д. 106

☎ +993 12 229849

☎ +993 12 228692

✉ s.ashirow@yshgyn.org

Приднестровская Молдавская Республика, г. Бендеры

ООО «МЕДАКСЕСС»

☏ 3200, г. Бендеры, н/с Ак Оргоо, ул. Дружбы, д. 8, пом. 4.

☎ +373-552-3-30-30

✉ vroy.roy@gmail.com

Таджикистан, г. Душанбе

ООО «Тибби Муосир»

☏ г. Душанбе, ул. Хайрулло Мирзоева, д. 7

☎ +992 37 885-87-87

✉ info@tibbimuosir.tj



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



Annex 1

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

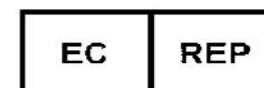
XEMA Co., Ltd.
 bld.48/4, 9th Parkovaya str.
 Moscow 105264, RUSSIA,
 info@xema.ru; www.xema.ru



	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	12-10-09-09-00	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 lamblia IgG/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.	TESTOSTERONE (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



XEMA

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

10.02.2022

Исх. № 10-01/02

STATEMENT

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

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

Signature:



Dmitry S. Kostrikin

Deputy general manager

MANAGEMENT SYSTEM CERTIFICATE

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

Initial certification date:
14 February 2019

Valid:
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

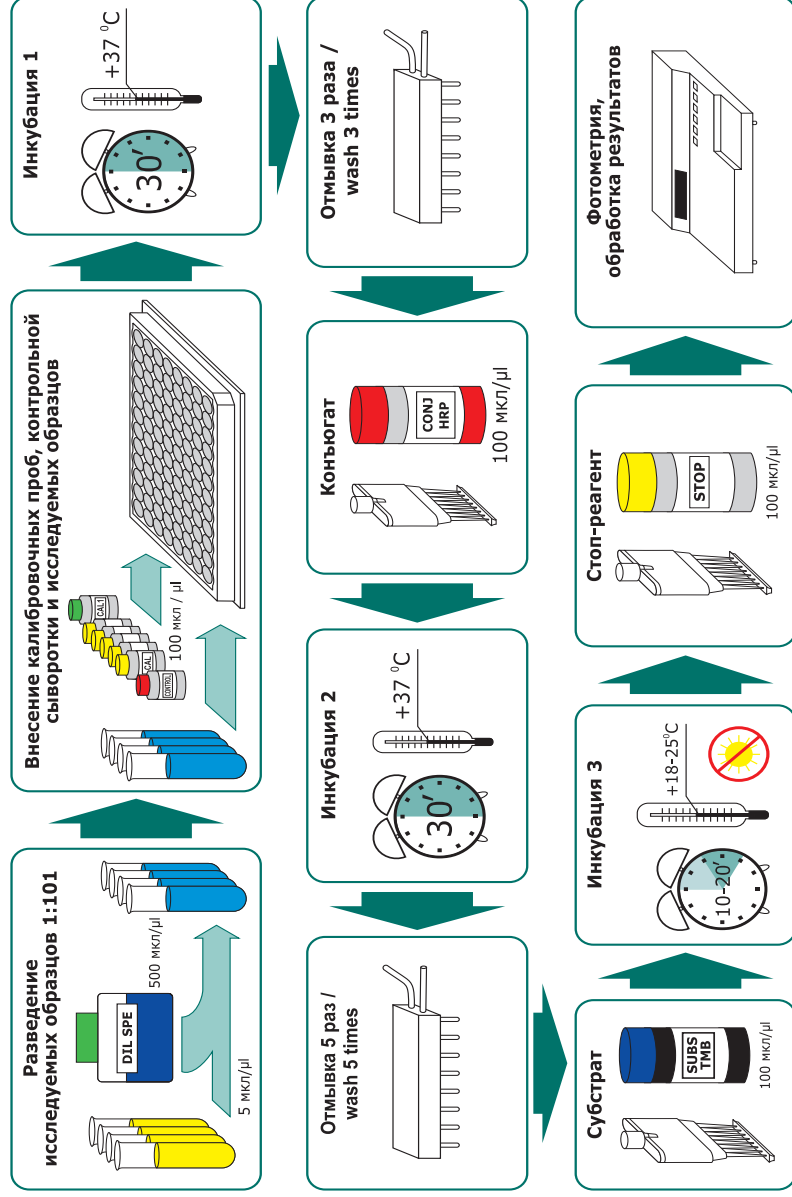
105264 Moscow, Russia

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

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

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

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

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

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

7.2. Приготовление планшета.

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

7.3. Приготовление отмывочного раствора.

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

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

8.1. Набор реагентов «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 флакона. Закрывайте каждый флакон своей крышкой.

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

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

8.6. При использовании Набора для проведения нескольких независимых серий анализов следует иметь в виду, что для каждого независимого определения необходимо построение нового калибровочного графика; кроме этого, рекомендуется определение концентрации 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	Разбавьте образцы сыворотки (плазмы) крови в 101 раз , используя ИФА-Буфер (S011Z3). Пример: 5 мкл образца + 500 мкл ИФА-Буфера. Не разбавляйте калибровочные пробы и контрольную сыворотку.
3	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. Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
4	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. Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
5	Аккуратно перемешайте содержимое планшета круговыми движениями по горизонтальной поверхности, заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета. Инкубируйте планшет в течение 30 минут при температуре +37 °C.
6	По окончании инкубации удалите содержимое лунок аспирацией (например, с помощью водоструйного насоса) или декантированием и отмойте лунки 3 раза . При каждой отмывке добавляйте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п. 7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок.
7	Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.
8	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте его в течение 30 минут при температуре +37 °C
9	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз .
10	Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина. Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2–3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °C) в течение 10–20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.
11	Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.

12	Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержащего лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм . Измерение ОП содержащего лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реактанта. Бланк фотометра выставляйте по воздуху.
13	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). 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	При качественном учете результатов: 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_2SO_4 . It may cause skin irritation and burns.

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

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

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

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

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

4.10. Do not mix reagents from different lots.

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

4.12. Do not pipette reagents by mouth.

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

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

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

5.1. Contents of the Kit

5. KIT COMPONENTS

	Symbol	Description	Qty	Units	Colour code	Stability of opened/diluted components
1	SORB MTP	cytomegalovirus IgG EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp. date
2	CAL 1-5	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	Control serum (1.5 ml)	1	pcs	colourless	2 months
4	CONJ HRP	Conjugate, 14 ml	1	pcs	red	until exp. date
5	DIL SPE	EIA buffer, 50 ml	1	pcs	blue	until exp. date
6	SUBS TMB	Substrate solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp. date
7	BUF WASH 26X	Washing solution concentrate 26x, 22 ml	1	pcs	colourless	Concentrate – until exp date Diluted washing solution – 45 days at 2-8 °C or 15 days at RT
8	STOP	Stop solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp. date
9	N003	Plate sealing tape	2	pcs		N/A
10	K103I	Instruction Cytomegalovirus IgG EIA	1	pcs		N/A
11	K103Q	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). Ingfeksii 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
REF	Номер по каталогу / Catalogue number
LOT	Номер серии / Batch code
 YYYY-MM	Использовать до (год-месяц) / Use By
	Ограничение температуры / Temperature limitation
IVD	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
SORB MTP	Планшет / EIA strips
CAL	Калибровочные пробы / Calibrator set
CONTROL	Контрольная сыворотка / Control sera
CONJ HRP	Конъюгат / Conjugate
SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) / Substrate solution
BUF WASH 26X	Концентрат отмывочного раствора / Washing solution concentrate
STOP	Стоп-реагент / Stop solution
DIL	ИФА-Буфер / EIA buffer

Уважаемый Клиент!

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

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

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

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



Russian Diagnostic
Manufacturers Association



Ассоциация российских
производителей средств лабораторной
диагностики



RUSSIAN ASSOCIATION
OF MEDICAL LABORATORY
DIAGNOSTICS



РОССИЙСКАЯ АССОЦИАЦИЯ
МЕДИЦИНСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ
ДИАГНОСТИКИ

Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

8 800 505 23 45

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

Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

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
CYTOMEGALOVIRUS 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 *ин vitro* диагностики



XEMA Co., Ltd.

The 9th Parkovaya str., 48

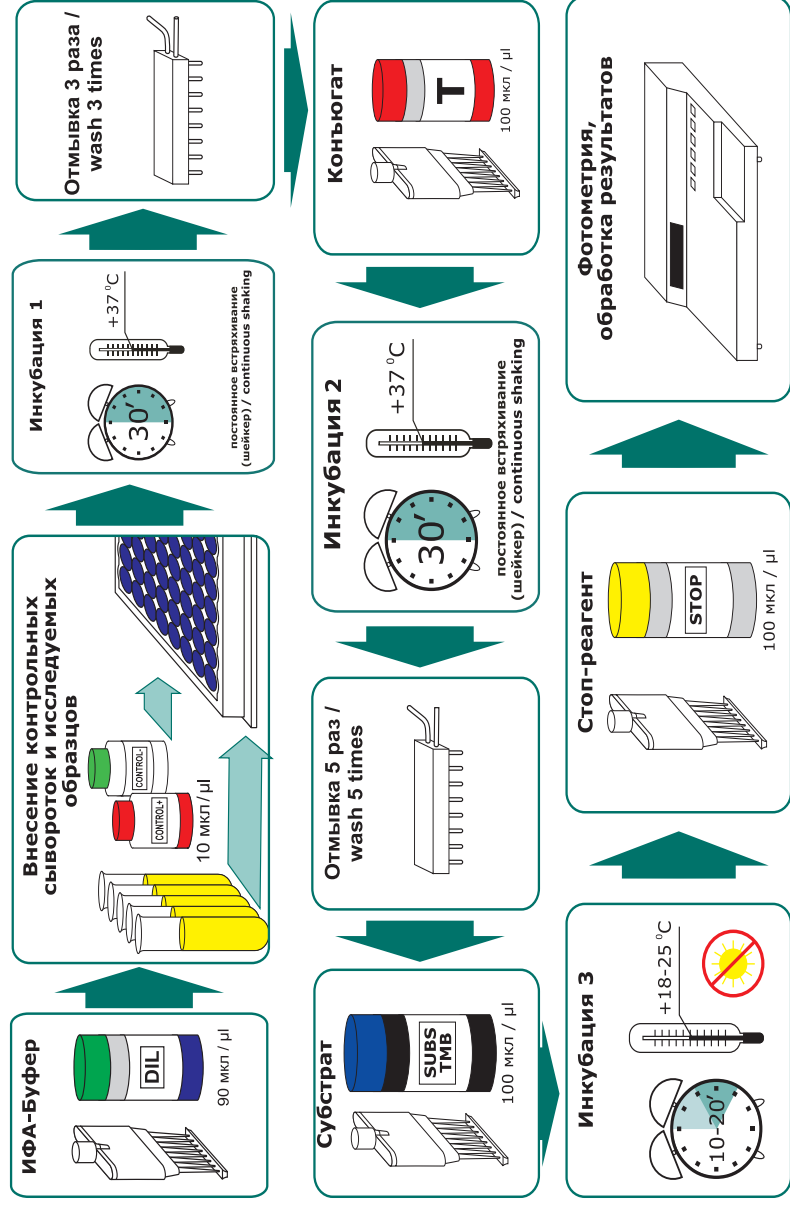
105264 Moscow, Russia

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

e-mail: redkin@xema-medica.com

internet: www.xema-medica.com

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 ЦYТОМЕГАЛОВИРУС 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	P103MZ	SORB MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2	CN103MZ CP103MZ	CONTROL – CONTROL+	Контрольные сыворотки (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	T103MZ	CONJ HRP	Конъюгат , готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная жидкость зеленого цвета
4	S011Z	DIL	ИФА-Буфер , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость синего цвета
5	R055Z	SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
6	S008Z	BUF WASH 26X	Концентрат отмывочного раствора (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26х-кратный (22 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
7	R050Z	STOP	Стоп-реагент , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
8	N003		Бумага для заклеивания планшета	2	шт.	-
9	K103MI		Инструкция по применению Набора реагентов «Cytomegalovirus IgM-ИФА»	1	шт.	-
10	K103MQ		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 в течение срока годности 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 мышиные 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	Внесите во все лунки планшета по 90 мкл ИФА-Буфера.

продолжение таблицы на стр 7

3	Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 10 мкл контрольных сывороток . В остальные лунки внесите в дубликатах по 10 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови . Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
4	ВНИМАНИЕ! При внесении образцов сыворотки (плазмы) крови происходит изменение цвета раствора.
5	Аккуратно перемешайте содержимое планшета круговыми движениями по горизонтальной поверхности, заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета. Инкубируйте планшет в течение 30 минут при температуре +37°C и постоянном встряхивании 500-600 об/мин.
6	По окончании инкубации удалите содержимое лунок аспирацией (например, с помощью водоструйного насоса) или декантированием и отмойте лунки 3 раза . При каждой отмывке добавьте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п. 7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок.
7	Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.
8	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте его в течение 30 минут при температуре +37 °C и постоянном встряхивании 500-600 об/мин.
9	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз.
10	Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина . Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2–3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °C) в течение 10-20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.
11	Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
12	Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм . Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометраставляйте по воздуху.
13	Рассчитайте содержание IgM антител к антигенам Cytomegalovirus в исследуемых образцах. 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	Внесите во все лунки планшета по 90 мкл ИФА-Буфера.
3	Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 10 мкл контрольных сывороток . В остальные лунки внесите в дубликатах по 10 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови . Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
4	ВНИМАНИЕ! При внесении образцов сыворотки (плазмы) крови происходит изменение цвета раствора.
5	Аккуратно перемешайте содержимое планшета круговыми движениями по горизонтальной поверхности, заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета. Инкубируйте планшет в течение 60 минут при температуре +37 °С.
6	По окончании инкубации удалите содержимое лунок аспирацией (например, с помощью водоструйного насоса) или декантированием и отмойте лунки 3 раза . При каждой отмывке добавляйте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п. 7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок.
7	Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.
8	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте планшет в течение 30 минут при температуре +37 °С.
9	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз.
10	Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина . Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2–3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °С) в течение 10-20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.
11	Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
12	Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм . Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра выставляйте по воздуху.

продолжение таблицы на стр 9

13	Рассчитайте содержание IgM антител к антигенам Cytomegalovirus в исследуемых образцах. 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 Cut off = ОП (CN103MZ)Cp + 0.3 3. Рассчитайте Индекс Позитивности (ИП, %) для каждого исследуемого образца, для этого ОП образца разделите на значение Cut off ИП = ОПобразца / Cut off
----	--

10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ

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

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_2SO_4 . It may cause skin irritation and burns.

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

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

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

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

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

4.10. Do not mix reagents from different lots.

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

4.12. Do not pipette reagents by mouth.

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

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

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

5.1. Contents of the Kit

5. KIT COMPONENTS

Symbol	Description	Qty	Units	Colour code	Stability of opened/diluted components
1 SORB MTP	Cytomegalovirus IgM EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp.date
2 CONTROL -, CONTROL +	Control sera (0.5 ml and 0.2 ml, resp.)	2	pcs	colourless ; red	2 months
3 CONJ HRP	Conjugate, 14 ml	1	pcs	green	until exp.date
4 DIL	EIA buffer 14 ml	1	pcs	blue	until exp.date
5 SUBS TMB	Substrate solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
6 BUF WASH 26X	Washing solution concentrate 26X, 22 ml	1	pcs	colourless	Concentrate - until exp.date Diluted washing solution - 45 days at 2-8 °C or 15 days at RT
7 STOP	Stop solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
8 N003	Plate sealing tape	2	pcs		N/A
9 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)

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 ≥ 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
	Использовать до (год-месяц) / Use By
	Ограничение температуры / Temperature limitation
	Только для ин витро диагностики / In Vitro Diagnostic Medical Device
	Внимание! / Caution, consult accompanying documents
	Не использовать при нарушении целостности упаковки / Do not use if package damaged
	Планшет / EIA strips
	Калибровочные пробы / Calibrator set
	Контрольная сыворотка / Control sera
	Конъюгат / Conjugate
	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) / Substrate solution
	Концентрат отмывочного раствора / Washing solution concentrate
	Стоп-реагент / Stop solution
	ИФА-Буфер / EIA buffer

Уважаемый Клиент!

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

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

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

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



Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

8 800 505 23 45

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

Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

105043, г. Москва, а/я 58

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

тел.: +7 (495) 510-57 07, 737-39-36;

факс: +7 (495) 737-00-40

e-mail: info@xema.ru

www.xema-medica.com

ФООО «Хема», тел.: +7 (812) 271-24-41

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

e-mail: spb@xema.ru

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

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

литер А, корп. 8/К, офис 416

e-mail: hemma-test@yandex.ru

ТОВ «Хема», тел.: (044) 422-62-16;

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

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com





Instruction for use



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

«ТЕСТОСТЕРОН-ИФА»

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

Testosterone EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF K209**

ТУ № 9398-039-18619450-2007

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
№ ФСР 2008/02859 от 2 октября 2013 года



For 96 determinations/На 96 определений



Для *in vitro* диагностики

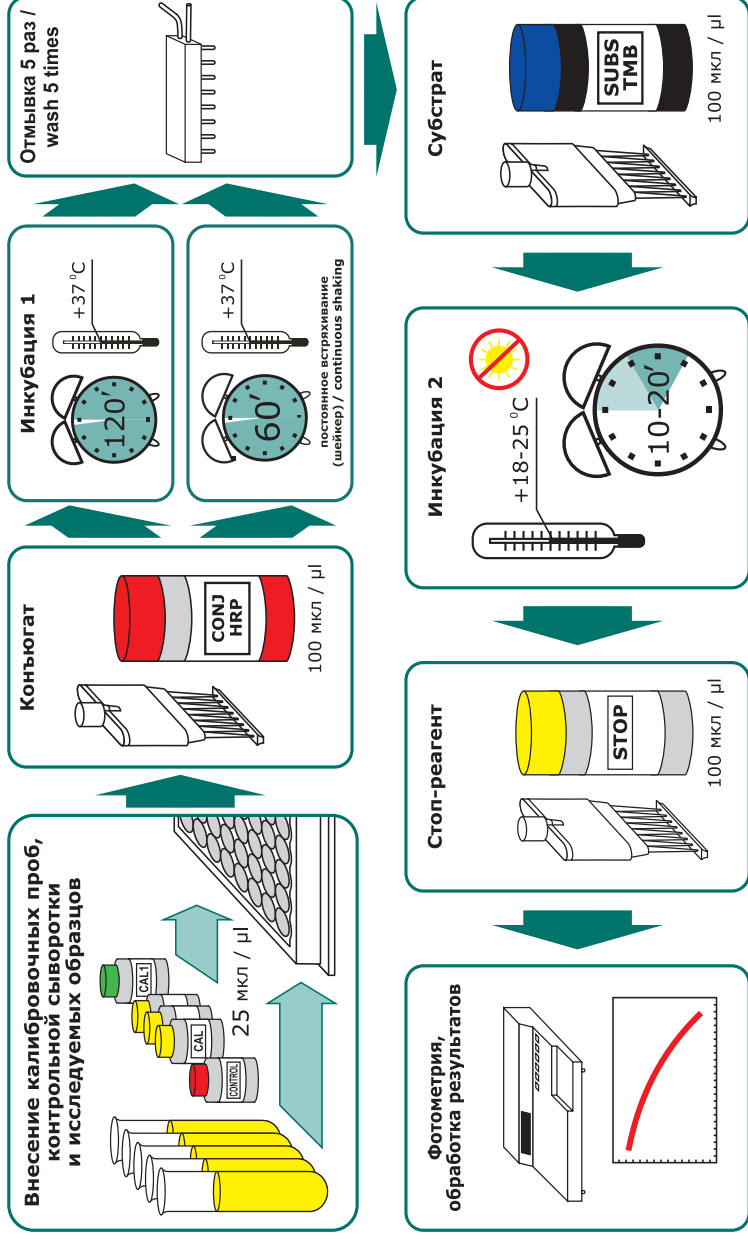


XEMA Co., Ltd.
The 9th Parkovaya str., 48
105264 Moscow, Russia
Tel./fax: +7(495) 510-57-07
e-mail: redkin@xema-medica.com
internet: www.xema-medica.com



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

Схема проведения анализа / Test procedure



K208; K209

СОДЕРЖАНИЕ

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

CONTENT

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

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

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

1. НАЗНАЧЕНИЕ

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

1.2. Тестостерон – стероид с молекулярной массой 288.4 Да. Основным местом образования тестостерона в семенниках являются клетки Лейдига (интерстициальная ткань). У женщин тестостерон синтезируется в надпочечниках, а контроль за его продукцией осуществляет лютеинизирующий гормон. Тестостерон стимулирует развитие мужских половых органов и вторичных половых признаков. Секреция тестостерона имеет определенный циркадный ритм. Наивысший уровень гормона отмечается в 6 часов утра, наименьший – в 20 часов. У женщин продукция тестостерона зависит от фазы менструального цикла: максимальное образование гормона происходит в лютеиновой фазе и в период овуляции. При опухолях из клеток Лейдига избыток тестостерона вызывает у мальчиков симптом «младенца-Геракла». Повышенная концентрация тестостерона в плазме служит определяющим фактором маскулинизации у женщин. У девочек избыток тестостерона в организме всегда является следствием нарушения функции надпочечников, а у женщин может быть связан также с заболеваниями яичников. При этом может прекратиться овуляция и проявится типичное для мужчин строение тела. Недостаточность тестостерона у мужчин ведет к развитию женского типа телосложения. При этом у мальчиков наблюдается недоразвитие половых органов. В целях дифференциальной диагностики первичного и вторичного гипогонадизма концентрацию тестостерона необходимо определять в комплексе с исследованиями ЛГ и ФСГ. Повышенные уровни тестостерона отмечаются при: синдроме Штейна-Левенталя; у мужчин с кариотипом XYY; преждевременном созревании у мальчиков; опухолях коры надпочечников; приеме лекарственных препаратов (барбитуратов, кломифена, эстрогенов, гонадотропина, пероральных контрацептивов); идиопатическом гирсутизме. Снижение уровня тестостерона отмечается при уремии; миотонической дистрофии; печеночной недостаточности; синдроме Клайнфелтера; крипторхизме; первичном и вторичном гипогонадизме; синдроме Каллмана; приеме андрогенов, дексаметазона, дигоксина, этанола, галотана.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

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

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

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

Аналит	Перекрестная реакция, %
Тестостерон	100
5-альфа-дегидротестостерон	16
Андростендиол	1.0
Андростендион	0.4
Андростерон	<0.1
Дегидроэпиандростерон	<0.1
Прогестерон	<0.1
Эстрадиол, эстриол	<0.01
Кортизол, прегненолон	<0.01

3.2. Воспроизводимость.

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

3.3. Линейность.

Зависимость концентрации тестостерона в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей тестостерон, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 1.0–40 нмоль/л и составляет $\pm 10.0\%$.

3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации тестостерона предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 5 нмоль/л. Процент «открытия» составляет 90–110%.

3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «ТЕСТОСТЕРОН-ИФА» концентрация тестостерона в сыворотке (плазме) крови не превышает 0.15 нмоль/л.

4. СОСТАВ НАБОРА

	Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1	P209Z	SORB MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2	C209Z	CAL 1-6	Калибровочные пробы на основе сыворотки крови человека, содержащие известные количества тестостерона – 0; 1; 3; 10; 30; 100 нмоль/л , готовы к использованию (по 0.8 мл каждая)	6	шт.	прозрачные жидкости синего цвета (калибровочная проба 0 – прозрачная, бесцветная жидкость)
3	Q209Z	CONTROL CONTROL 2	Контрольные сыворотки на основе сыворотки крови человека с известным содержанием тестостерона, готовы к использованию (0.8 мл)	2	шт.	прозрачная жидкость пурпурного цвета и прозрачная жидкость пурпурного цвета
4	T209Z	CONJ HRP	Конъюгат , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость зеленого цвета
5	R055Z	SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
6	S008Z	BUF WASH 26X	Концентрат отмывочного раствора (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26х-кратный (22 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
7	R050Z	STOP	Стоп-реагент , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
8	N003	-	Бумага для заклеивания планшета	2	шт.	-
9	K209I	-	Инструкция по применению Набора реагентов «ТЕСТОСТЕРОН-ИФА»	1	шт.	-
10	K209Q	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «ТЕСТОСТЕРОН-ИФА»	1	шт.	-

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

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

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

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

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

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

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

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

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

7.2. Приготовление планшета.

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

7.3. Приготовление отмывочного раствора.

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

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

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

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

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

8.2. Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 40 исследуемых образцов, 6 калибровочных проб и 2 пробы контрольной сыворотки (всего 96 определений).

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

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

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

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

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

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

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

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

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов – исследуемые образцы в 2 повторах и 16 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки.
2	Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 25 мкл калибровочной пробы и контрольной сыворотки. В остальных лунки внесите в дубликатах по 25 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови. Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
3	Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.
4	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте его в течение 120 минут при температуре +37 °С. Альтернативная инкубация: 37 °С при постоянном встряхивании 600 об\мин в течение 60 минут.
5	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз. При каждой отмывке добавляйте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п. 7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок постукиванием планшета в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.
6	Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина. Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2–3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25°С) в течение 10–20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.
7	Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
8	Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм. Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра выставьте по воздуху.
9	Постройте в полулогарифмических координатах калибровочный график: ось абсцисс (х) – десятичный логарифм концентрации тестостерона в калибровочных пробах (нмоль/л), ось ординат (у) – оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма обсчета (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод. Приравняйте концентрацию калибровочной пробы 0 нмоль/л к несущественно малой величине, например, 0.001 нмоль/л
10	Определите по калибровочному графику содержание тестостерона в исследуемых образцах.

10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ

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

Примечание. Значения концентраций тестостерона в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0.15 нмоль/л), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (100 нмоль/л) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация тестостерона ниже 0.15 нмоль/л или выше 100 нмоль/л.

10.2. В Наборе «ТЕСТОСТЕРОН-ИФА» значения концентраций калибровочных проб выражены в нмоль/л. Для пересчета концентраций в нг/мл, полученное значение концентрации в нмоль/л следует умножить на 0.29.

1 нмоль/л = 0.29 нг/мл

Исследуемая группа	Единицы, нмоль/л		Единицы доп., нг/мл	
	Нижний предел	Верхний предел	Нижний предел	Верхний предел
Мужчины				
20-39 лет	9.0	38	2.6	11
40-55 лет	6.9	21	2.0	6.1
старше 55 лет	5.9	18.1	1.7	5.2
Женщины	-	4.6	-	1.3

11. ЛИТЕРАТУРА

1. Tietz, N.W. Textbook of Clinical Chemistry. Saunders, 1986.
2. Joshi, U. M., et al. Steroids 34 (1) 35 (1979)
3. Turkes, A., et al. J Endocrinol. 81 (2) P165 (1979)
4. Ismail, A. A., Niswender, G. D. Midgley, A. R. J. Clin. Endocr. Metab. 34, 177 – 184 (1972)
5. Rajkowski, K. M., Cittanova N., Desfosses, B. and Jayle, M.F. Steroids 29 no 5 1977
6. Widsdom G. B. Clin. Chem. 22/8, 1243 – 1255 (1976)

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

105043, г. Москва, а/я 58

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

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

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

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

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

Instruction for use

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

1. INTENDED USE

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

This kit is designed for measurement of testosterone in blood serum or plasma. For possibility of use with other sample types, please, refer to Application Notes (on request). The kit contains reagents sufficient for 96 determinations and allows to analyze 40 unknown samples in duplicates.

2. SUMMARY AND EXPLANATION

Testosterone is a steroid with a MW of 288.4 Dalton. The main sites of testosterone secretion are Leydig cells in interstitial tissue of testicles in men. In women testosterone is secreted in the adrenals and is controlled by luteinizing hormone. Testosterone stimulates development of male genital organs and formation of secondary sexual features.

In males, Testosterone secretion undergoes circadian rhythms with maximal concentrations seen in the morning (6 am) and minimal – in the evening (8 pm). In females, Testosterone secretion is regulated by menstrual cycle with maximal levels found in luteinic phase and during ovulation.

Leydig cell tumours producing high levels of serum testosterone in young boys lead to development of "little Hercules" syndrome. Elevated testosterone level in women causes the clinical signs of masculinization.

In men, decreased Testosterone levels may lead to female habitus or underdevelopment of male genital organs in boys. To differentiate between primary and secondary hypogonadism, Testosterone should be assayed in conjunction with LH and FSH.

3. PRINCIPLE OF THE TEST

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

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

4.1. For professional use only.

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

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

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

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

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

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

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

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

4.10. Do not mix reagents from different lots.

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

4.12. Do not pipette reagents by mouth.

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

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

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

5.1. Contents of the Kit

5. KIT COMPONENTS

Symbol	Description	Qty	Units	Colour code	Stability of opened/ diluted components
1 SORB MTP	Testosterone EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp.date
2 CAL 1-6	Calibrator set, 0.8 ml each. The set contains 6 calibrators: 0; 1; 3; 10; 30, 100 nmol/l	6	pcs	blue (C1 – colourless)	2 months
3 CONTROL CONTROL 2	Control sera (0.8 ml)	2	pcs	purple and purple	2 months
4 CONJ HRP	Conjugate, 14 ml	1	pcs	green	until exp.date
5 SUBS TMB	Substrate solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
6 BUF WASH 26X	Washing solution concentrate 26X, 22 ml	1	pcs	colourless	Concentrate – until exp.date Diluted washing solution – 45 days at 2-8 °C or 15 days at RT
7 STOP	Stop solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
8 N003	Plate sealing tape	2	pcs		N/A
9 K209I	Instruction Testosterone EIA	1	pcs		N/A
10 K209Q	QC data sheet Testosterone EIA	1	pcs		N/A

5.2. Equipment and material required but not provided

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

5.3. Storage and stability of the Kit

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

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

6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

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

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

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

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

7.2. Procedural Note:

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

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

7.3. Alternative units:

1 nmol/l = 0.29 ng/ml

7.4. Assay procedure

1	Put the desired number of microstrips into the frame; allocate 16 wells for the calibrators CAL 1–6 and control samples CONTROL, CONTROL 2 and two wells for each unknown sample. DO NOT REMOVE ADHESIVE SEALING TAPE FROM UNUSED STRIPS.
2	Pipet 25 µl of calibrators CAL 1–6, control samples CONTROL, CONTROL 2 and unknown samples into the wells
3	Dispense 100 µl of CONJ HRP into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape (included into the kit).
4	Incubate 120 minutes at 37 °C. OR: incubate at 37 °C with continuous shaking 600 rpm, 60 min
5	Prepare washing solution by 26X dilution of washing solution concentrate (BUF WASH 26X) by distilled water. Wash the strips 5 times.
6	Dispense 100 µl of SUBS TMB into the wells.
7	Incubate 10–20 minutes at +18...+25 °C.
8	Dispense 100 µl of STOP into the wells.
9	Measure OD (optical density) at 450 nm.
10	Set photometer blank on air.
11	Apply lin-log method for data reduction.

7.5. Handling notes

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

8. QUALITY CONTROL

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

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

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

9. CALCULATION OF RESULTS

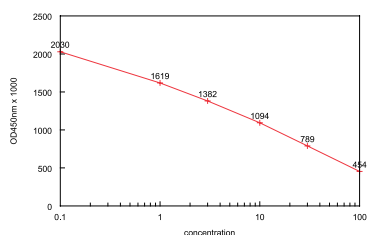
9.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

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

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

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

Calibrators	Value	Absorbance Units (450 nm) x 1000
CAL 1	0 nmol/l	2030
CAL 2	1 nmol/l	1619
CAL 3	3 nmol/l	1282
CAL 4	10 nmol/l	1094
CAL 5	30 nmol/l	889
CAL 6	100 nmol/l	554



10. EXPECTED VALUES

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

Sex, age	Units, nmol/l		Units alternative, ng/ml	
	Lower limit	Upper limit	Lower limit	Upper limit
Males				
20-39 yrs	9.0	38	2.6	11
40-55 yrs	6.9	21	2.0	6.1
>55 yrs	5.9	18.1	1.7	5.2
Females	-	4.6	-	1.3

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

Analyte	Cross-reactivity, % wt/wt
Testosterone	100
5-alpha-dehydrotestosterone	16
Androstendiol	1.0
Androstendione	0.4
Androsterone	<0.1
Dehydroepiandrosterone	<0.1
Progesterone	<0.1
Estradiol, Estriol	<0.01
Cortisol, Pregnenolone	<0.01

11.2. Analytical sensitivity

Sensitivity of the assay was assessed as being 0.15 nmol/l.

11.3. Linearity

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

11.4. Recovery

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

12. LITERATURE

1. Tietz, N. W. Textbook of Clinical Chemistry. Saunders, 1986.
2. Joshi, U. M., et al. Steroids 34 (1) 35 (1979)
3. Turkes, A., et al. J Endocrinol. 81 (2) P165 (1979)
4. Ismail, A. A., Niswender, G. D. Midgley, A. R. J. Clin. Endocr. Metab. 34, 177 – 184 (1972)
5. Rajkowski, K. M., Cittanova N., Desfosses, B. and Jayle, M. F. Steroids 29 no 5 1977
6. Widsdom G. B. Clin. Chem. 22/8, 1243 – 1255 (1976)

Символ / Symbol	Значение символа / Symbolize
	Производитель / Manufacturer
	Дата производства / Date of manufacture
REF	Номер по каталогу / Catalogue number
LOT	Номер серии / Batch code
 YYYY-MM	Использовать до (год-месяц) / Use By
	Ограничение температуры / Temperature limitation
IVD	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
SORB MTP	Планшет / EIA strips
CAL	Калибровочные пробы / Calibrator set
CONTROL	Контрольная сыворотка / Control sera
CONJ HRP	Конъюгат / Conjugate
SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) / Substrate solution
BUF WASH 26X	Концентрат отмывочного раствора / Washing solution concentrate
STOP	Стоп-реагент / Stop solution
DIL	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



Академия наук
и высшей школы
Российской Федерации
Институт проблем
инфекционных заболеваний



RUSSIAN ASSOCIATION
OF MEDICAL LABORATORY
DIAGNOSTICS



РОССИЙСКАЯ АССОЦИАЦИЯ
МЕДИЦИНСКИХ ЛАБОРАТОРНЫХ
ДИАГНОСТИКОВ

Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

8 800 505 23 45

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

Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

105043, г. Москва, а/я 58

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

тел.: +7 (495) 510-57 07, 737-39-36;

факс: +7 (495) 737-00-40

e-mail: info@xema.ru

www.xema-medica.com

ФООО «Хема», тел.: +7 (812) 271-24-41

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

e-mail: spb@xema.ru

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

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

литер А, корп. 8/К, офис 416

e-mail: hemma-test@yandex.ru

ТОВ «Хема», тел.: (044) 422-62-16;

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

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com





Instruction for use



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

«17-ОН-ПРОГЕСТЕРОН-ИФА»

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

17-OH-PROGESTERONE EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ REF **K217**

ТУ № 9398-067-18619450-2008

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
№ ФСР2009/04164 от 4 сентября 2013 года



For 96 determinations/На 96 определений



Для *ин витро* диагностики

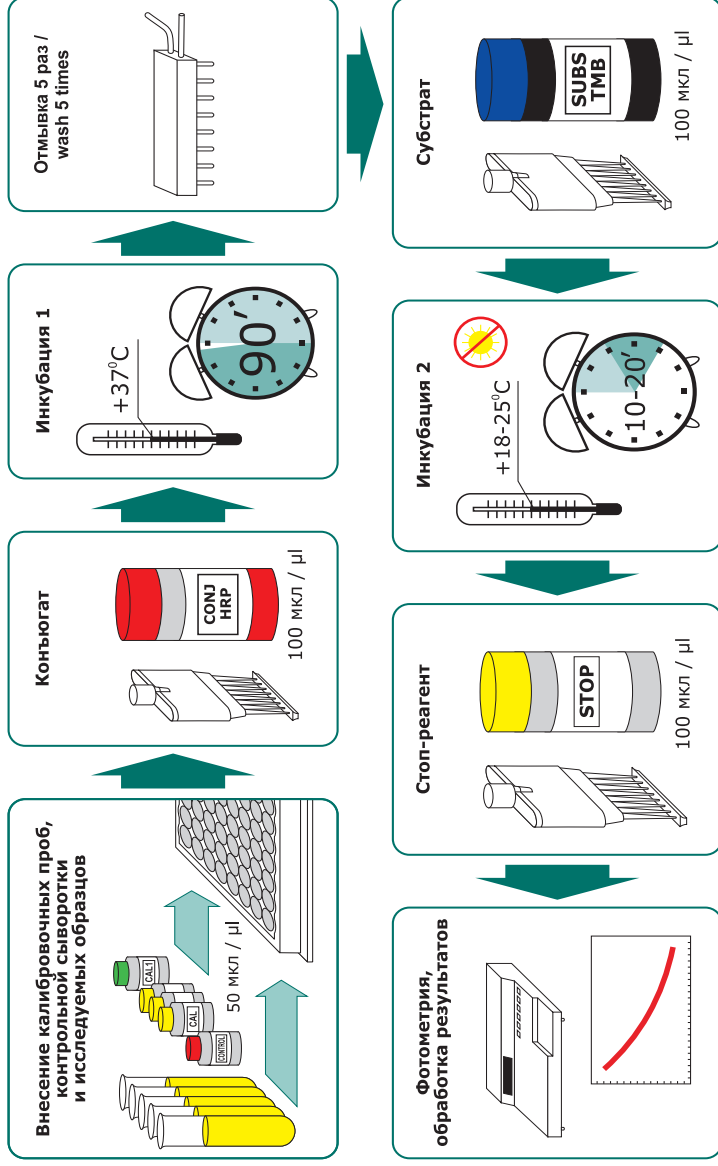


XEMA Co., Ltd.
The 9th Parkovaya str., 48
105264 Moscow, Russia
Tel./fax: +7(495) 510-57-07
e-mail: redkin@xema-medica.com
internet: www.xema-medica.com



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

Схема проведения анализа / Test procedure



K217

СОДЕРЖАНИЕ

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

CONTENT

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

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

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

1. НАЗНАЧЕНИЕ

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

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

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

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

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

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

Аналит	Перекрестная реакция, %
17-ОН-Р	100%
11-Дезоксикортизол	2.3%
Прогестерон	<1.0%
Другие родственные стероиды	<0.1%

3.2. Воспроизводимость.

Коэффициент вариации результатов определения содержания 17-ОН-Прогестерона в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «17-ОН-ПРОГЕСТЕРОН-ИФА» не превышает 8.0%.

3.3. Линейность.

Зависимость концентрации 17-ОН-Прогестерона в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей 17-ОН-Прогестерон, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 0.5–100 нмоль/л и составляет $\pm 10.0\%$.

3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации 17-ОН-Прогестерона предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 1,5 нмоль/л. Процент «открытия» составляет 90–110%.

3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «17-ОН-ПРОГЕСТЕРОН-ИФА» концентрация 17-ОН-Прогестерона в сыворотке (плазме) крови не превышает 0.12 нмоль/л.

4. СОСТАВ НАБОРА

	Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1	P217Z	SORB MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2	C217Z	CAL 1-6	Калибровочные пробы на основе сыворотки крови человека, содержащие известные количества 17-ОН-Прогестерона – 0; 0.5; 1.5; 5; 20; 100 нмоль/л , готовы к использованию (по 0.8 мл каждая)	6	шт.	прозрачные жидкости пурпурного цвета (калибровочная проба 0 – прозрачная бесцветная жидкость)
3	Q217Z	CONTROL	Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием 17-ОН-Прогестерона, готова к использованию (0.8 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
4	T217Z	CONJ HRP	Конъюгат , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость пурпурного цвета
5	R055Z	SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
6	S008Z	BUF WASH 26X	Концентрат отмывочного раствора (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой), 26х-кратный (22 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
7	R050Z	STOP	Стоп-реагент , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
8	N003	-	Бумага для заклеивания планшета	2	шт.	-
9	K217I	-	Инструкция по применению Набора реагентов «17-ОН-ПРОГЕСТЕРОН-ИФА»	1	шт.	-
10	K217Q	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «17-ОН-ПРОГЕСТЕРОН-ИФА»	1	шт.	-

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

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

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

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

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

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

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

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

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

7.2. Приготовление планшета.

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

7.3. Приготовление отмывочного раствора.

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

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

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

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

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

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

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

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

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

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

8.6. При использовании Набора для проведения нескольких независимых серий анализов следует иметь в виду, что для каждого независимого определения необходимо построение нового калибровочного графика; кроме этого, рекомендуется определение концентрации 17-ОН-Прогестерона в контрольной сыворотке.

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

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

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов – исследуемые образцы в 2 повторах и 14 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки.
2	Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 50 мкл калибровочной пробы и контрольной сыворотки. В остальные лунки внесите в дубликатах по 50 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови. Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.
3	Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.
4	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте его в течение 90 минут при температуре +37 °C.
5	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз . При каждой отмывке добавляйте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п. 7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок постукиванием планшета в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.
6	Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина. Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2–3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25°C) в течение 10–20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.
7	Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
8	Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм . Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра выставьте по воздуху.
9	Постройте в полулогарифмических координатах калибровочный график: ось абсцисс (x) – десятичный логарифм концентрации 17-ОН-Прогестерона в калибровочных пробах (нмоль/л), ось ординат (y) – оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма обсчета (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод. Приравняйте концентрацию калибровочной пробы 0 нмоль/л к несущественно малой величине, например, 0.001 нмоль/л
10	Определите по калибровочному графику содержание 17-ОН-Прогестерона в исследуемых образцах.

10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ

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

Примечание. Значения концентраций 17-ОН-Прогестерона в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0.12 нмоль/л), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (100 нмоль/л) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация 17-ОН-Прогестерона ниже 0.12 нмоль/л или выше 100 нмоль/л.

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

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

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

11. ЛИТЕРАТУРА

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

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

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

1. INTENDED USE

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

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

2. SUMMARY AND EXPLANATION

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

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

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

3. PRINCIPLE OF THE TEST

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

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

4.1. For professional use only.

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

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

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

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

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

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

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

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

4.10. Do not mix reagents from different lots.

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

4.12. Do not pipette reagents by mouth.

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

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

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

5.1. Contents of the Kit

5. KIT COMPONENTS

Symbol	Description	Qty	Units	Colour code	Stability of opened/diluted components
1 SORB MTP	17-OH-progesterone EIA strips, 8x12wells	1	pcs		until exp. date
2 CAL 1-6	Calibrator set, 0.8 ml each. The set contains 6 calibrators: 0; 0.5; 1.5; 5; 20, 100 nmol/l	6	pcs	purple (C1 – colourless)	2 months
3 CONTROL	Control serum (0.8 ml)	1	pcs	colourless	2 months
4 CONJ HRP	Conjugate, 14 ml	1	pcs	purple	until exp. date
5 SUBS TMB	Substrate solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp. date
6 BUF WASH 26X	Washing solution concentrate 26X, 22 ml	1	pcs	colourless	Concentrate - until exp. date Diluted washing solution - 45 days at 2-8 °C or 15 days at RT
7 STOP	Stop solution, 14ml	1	pcs	colourless	until exp. date
8 N003	Plate sealing tape	2	pcs		N/A
9 K2171	Instruction 17-OH-progesterone EIA	1	pcs		N/A
10 K217Q	QC datasheet 17-OH-progesterone EIA	1	pcs		N/A

5.2. Equipment and material required but not provided

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

5.3. Storage and stability of the Kit

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

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

6. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

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

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

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

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

7.2. Procedural Note:

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

7.3. Assay flowchart

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

7.4. Alternative units:

1 nmol/l = 0.32 ng/ml

7.5. Assay procedure

1	Put the desired number of microstrips into the frame; allocate 14 wells for the calibrators CAL 1–6 and control samples CONTROL and two wells for each unknown sample. DO NOT REMOVE ADHESIVE SEALING TAPE FROM UNUSED STRIPS.
2	Pipet 50 µl of calibrators CAL 1–6, control samples CONTROL and unknown samples into the wells.
3	Dispense 100 µl of CONJ HRP into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape (included into the kit).
4	Incubate 90 minutes at 37 °C.
5	Prepare washing solution by 26X dilution of washing solution concentrate (BUF WASH 26X) by distilled water. Wash the strips 5 times.
6	Dispense 100 µl of SUBS TMB into the wells
7	Incubate 10–20 minutes at +18...+25 °C
8	Dispense 100 µl of STOP into the wells.
9	Measure OD (optical density) at 450 nm.
10	Set photometer blank on air
11	Apply lin-log method for data reduction.

8. QUALITY CONTROL

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

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

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

9. CALCULATION OF RESULTS

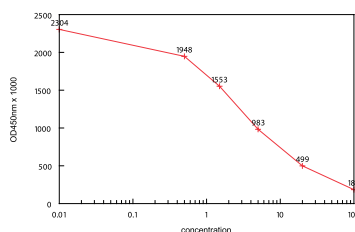
9.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

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

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

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

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



10. EXPECTED VALUES

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

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

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

Analyte	Cross-reactivity, % wt/wt
17-OH-P	100%
11-Deoxycortisol	2.3%
Progesterone	<1.0%
other steroids	<0.1%

11.2. Analytical sensitivity.

Sensitivity of the assay was assessed as being 0.12 nmol/l.

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

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

12. LITERATURE

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

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

Уважаемый Клиент!

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

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

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

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



Russian Diagnostic
Manufacturers Association



Ассоциация российских
производителей средств лабораторной
диагностики



RUSSIAN ASSOCIATION
OF MEDICAL LABORATORY
DIAGNOSTICS



РОССИЙСКАЯ АССОЦИАЦИЯ
МЕДИЦИНСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ
ДИАГНОСТИКИ

Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

8 800 505 23 45

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

Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

105043, г. Москва, а/я 58

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

тел.: +7 (495) 510-57 07, 737-39-36;

факс: +7 (495) 737-00-40

e-mail: info@xema.ru

www.xema-medica.com

ФООО «Хема», тел.: +7 (812) 271-24-41

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

e-mail: spb@xema.ru

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

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

литер А, корп. 8/К, офис 416

e-mail: hemma-test@yandex.ru

ТОВ «Хема», тел.: (044) 422-62-16;

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

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com





Instruction for use



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

«свТЕСТОСТЕРОН-ИФА»

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

free Testosterone EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ REF **K219**

ТУ № 9398-219-18619450-2016

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
№ ФСР 2017/6050 от 04 августа 2017 г.



For 96 determinations/На 96 определений



ТОЛЬКО для *in vitro* диагностики

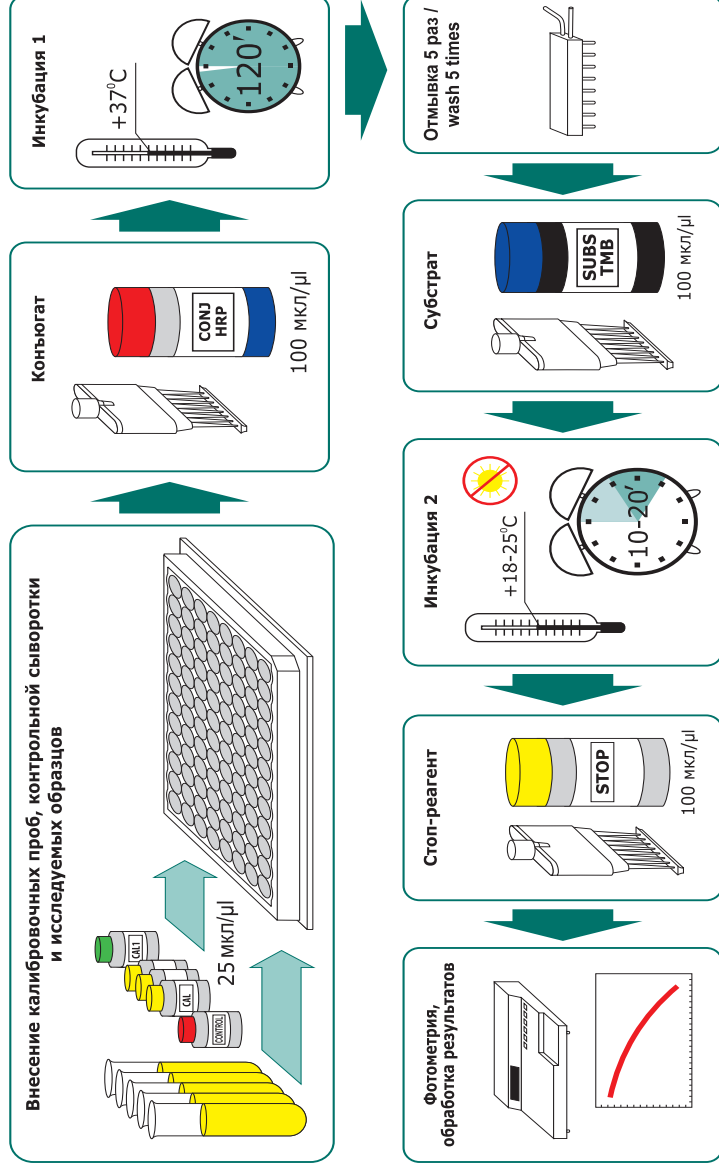


XEMA Co., Ltd.
The 9th Parkovaya str., 48
105264 Moscow, Russia
Tel./fax: +7(495) 510-57-07
e-mail: redkin@xema-medica.com
internet: www.xema-medica.com



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

Схема проведения анализа / Test procedure



K219

СОДЕРЖАНИЕ

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

CONTENT

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

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

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

1. НАЗНАЧЕНИЕ

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

1.2. Тестостерон – стероид с молекулярной массой 288.4 Да. Основным местом образования тестостерона в семенниках являются клетки Лейдига (интерстициальная ткань). У женщин тестостерон синтезируется в надпочечниках, а контроль за его продукцией осуществляет лютеинизирующий гормон. Тестостерон стимулирует развитие мужских половых органов и вторичных половых признаков. Секретия тестостерона имеет определенный циркадный ритм. Наивысший уровень гормона отмечается в 6 часов утра, наименьший – в 20 часов. У женщин продукция тестостерона зависит от фазы менструального цикла: максимальное образование гормона происходит в лютеиновой фазе и в период овуляции.

Тестостерон свободный (Свободный тестостерон, Free testosterone) представляет собой фракцию тестостерона сыворотки крови не связанную ни с глобулином, связывающим половые гормоны (SHBG), ни с альбумином. Свободный тестостерон в количественном отношении составляет 2 – 3% от общего тестостерона. Биологически активным является только тестостерон свободный и связанный с альбумином («биологически доступный тестостерон»). Уровень «биологически доступного тестостерона» отражает количество функционально активного тестостерона в организме.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

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

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Перекрестная реакция антител к тестостерону с другими анализатами приведена в таблице:

Аналит	Перекрестная реакция, %
Тестостерон	100
5-альфа-дегидротестостерон	16
Андростендиол	1.0
Андростендион	0.4
Андростерон	<0.1
Дегидроэпиандростерон	<0.1
Прогестерон	<0.1
Эстрадиол, эстриол	<0.01
Кортизол, прегненолон	<0.01

3.2. Воспроизводимость.

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

3.3. Линейность.

Зависимость концентрации свободного тестостерона в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей тестостерон, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 0.2-100 пг/мл и составляет $\pm 10.0\%$.

3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации тестостерона предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 1 пг/мл. Процент «открытия» составляет 90-110%.

3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «свТЕСТОСТЕРОН-ИФА» концентрация тестостерона в сыворотке (плазме) крови не превышает 0.06 пг/мл.

4. СОСТАВ НАБОРА

	Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1	P219Z	SORB MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт	
2	C219Z	CAL 1 - 6	Калибровочные пробы на основе сыворотки крови человека, содержащие известные количества свободного тестостерона - 0; 0.2; 1; 4; 20; 100 пг/мл , готовы к использованию (по 0.8 мл каждая)	6	шт	прозрачные жидкости красного цвета (калибровочная проба 0 - прозрачная бесцветная жидкость)
3	Q219Z	CONTROL	Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием свободного тестостерона, готова к использованию (по 0.8 мл каждая)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
4	T219Z	CONJ HRP	Конъюгат , готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная жидкость синего цвета
5	R055Z	SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
6	S008Z	BUF WASH 26X	Концентрат отмывочного раствора (солевой раствор с твин-20 и бензойной кислотой) 26х-кратный (22 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
7	R050Z	STOP	Стоп-реагент , готов к использованию (14 мл)	1	шт	прозрачная бесцветная жидкость
8	N003		Бумага для заклеивания планшета	2	шт	—
9	K219I		Инструкция по применению Набора реагентов «свТЕСТОСТЕРОН-ИФА»	1	шт	—
10	K219Q		Паспорт контроля качества Набора реагентов «свТЕСТОСТЕРОН-ИФА»	1	шт	—

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

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

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

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

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

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

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

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

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

10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ

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

Примечание. Значения концентраций тестостерона в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0.06 пг/мл), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (100 пг/мл) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация тестостерона ниже 0.06 пг/мл или выше 100 пг/мл.

Исследуемая группа	Единицы, пг/мл	
	Нижний предел	Верхний предел
Мужчины	4.5	42
Женщины	-	4.1
Женщины постменопауза	0.1	4.7

11. ЛИТЕРАТУРА

1. Tietz, N.W. Textbook of Clinical Chemistry. Saunders, 1986.
2. Joshi, U. M., et al. Steroids 34 (1) 35 (1979)
3. Turkes, A., et al. J Endocrinol. 81 (2) P165 (1979)
4. Ismail, A. A., Niswender, G. D. Midgley, A. R. J. Clin. Endocr. Metab. 34, 177 - 184 (1972)
5. Rajkowski, K. M., Cittanova N., Desfosses, B. and Jayle, M.F. Steroids 29 no 5 1977
6. Widsdom G. B. Clin. Chem. 22/8, 1243 - 1255 (1976)

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

105043, г. Москва, а/я 58

105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1-й под., 5 этаж,
тел/факс (495) 737-39-36, 737-00-40, 510-57-07 (многоканальный)

электронная почта: info@xema.ru;

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

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

Instruction for use

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

1. INTENDED USE

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

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

2. SUMMARY AND EXPLANATION

Testosterone is a steroid with a MW of 288.4 Dalton. The main sites of testosterone secretion are Leydig cells in interstitial tissue of testicles in men. In women testosterone is secreted in the adrenals and is controlled by luteinizing hormone. Testosterone stimulates development of male genital organs and formation of secondary sexual features.

In males, testosterone secretion undergoes circadian rhythms with maximal concentrations seen in the morning (6 am) and minimal – in the evening (8 pm). In females, testosterone secretion is regulated by menstrual cycle with maximal levels found in luteal phase and during ovulation.

Testosterone circulates in the blood bound to three proteins: sex hormone binding globulin (60-80%), albumin and cortisol binding globulin. Only about 1-2% of the total circulating testosterone remains unbound or free. Even though it is still under investigation, most researchers accept the free testosterone determination as a measure of the biologically recommended to overcome the influences caused by variations in transport proteins on the total testosterone concentration.

3. PRINCIPLE OF THE TEST

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

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

4.1. For professional use only.

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

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

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

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

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

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

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

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

4.10. Do not mix reagents from different lots.

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

4.12. Do not pipette reagents by mouth.

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

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

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

5. KIT COMPONENTS

5.1.Contents of the Kit

Symbol	Description	Qty	Units	Colour code	Stability of opened/diluted components*
1 SORB MTP	Free testosterone EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp.date
2 CAL 1 - 6	Calibrator set, 0.8 ml each. The set contains 6 calibrators: 0;0.2; 1; 4, 20; 100 pg/ml	6	pcs	red(C1 - colourless)	2 months
3 CONTROL	Control serum (0.8 ml)	1	pcs	colourless	2 months
4 CONJ HRP	Conjugate, 14 ml	1	pcs	blue	until exp.date
5 SUBS TMB	Substrate solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
6 BUF WASH 26X	Washing solution concentrate 26x, 22 ml	1	pcs	colourless	Concentrate - until exp.date Diluted washing solution - 45 days at 2-8 °C or 15 days at RT
7 STOP	Stop solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
8 N003	Plate sealing tape	2	pcs		N/A
9 K209I	Instruction Free testosterone EIA	1	pcs		N/A
10 K209Q	QC data sheet Free testosterone EIA	1	pcs		N/A

Equipment and material required but not provided

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

5.2. 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.

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

7.3. Assay procedure

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

7.4. Handling notes

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

8. QUALITY CONTROL

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

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

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

9. CALCULATION OF RESULTS

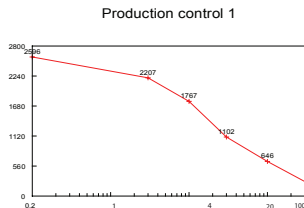
9.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

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

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

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

Calibrators	Value	AbsorbanceUnits (450 nm) x 1000
CAL 1	0 pg/ml	2.596
CAL 2	0.2 pg/ml	2.207
CAL 3	1 pg/ml	1.767
CAL 4	4 pg/ml	1.102
CAL 5	20 pg/ml	0.646
CAL 6	100 pg/ml	0.271



10. EXPECTED VALUES

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

Sex, age	Units, pg/ml	
	Lower limit	Upper limit
Males	4.5	42
Females	-	4.1
Females post menopausal	0.1	4.7

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Analytical specificity / Cross reactivity

Analyte	Cross-reactivity, % wt/wt
Testosterone	100
5-alpha-dehydrotestosterone	16
Androstendiol	1.0
Androstendione	0.4
Androsterone	<0.1
Dehydroepiandrosterone	<0.1
Progesterone	<0.1
Estradiol, Estriol	<0.01
Cortisol, Pregnenolone	<0.01

11.2. Analytical sensitivity

Sensitivity of the assay was assessed as being 0.06 pg/ml.

11.3. Linearity

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

11.4. Recovery

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

12. LITERATURE

1. Tietz, N.W. Textbook of Clinical Chemistry. Saunders, 1986.
2. Joshi, U. M., et al. Steroids 34 (1) 35 (1979)
3. Turkes, A., et al. J Endocrinol. 81 (2) P165 (1979)
4. Ismail, A. A., Niswender, G. D. Midgley, A. R. J. Clin. Endocr. Metab. 34, 177 - 184 (1972)
5. Rajkowski, K. M., Cittanova N., Desfosses, B. and Jayle, M.F. Steroids 29 no 5 1977
6. Widsdom G. B. Clin. Chem. 22/8, 1243 - 1255 (1976)

Символ / Symbol	Значение символа / Symbolize
	Производитель / Manufacturer
	Дата производства / Date of manufacture
REF	Номер по каталогу / Catalogue number
LOT	Номер серии / Batch code
 YYYY-MM	Использовать до (год-месяц) / Use By
	Ограничение температуры / Temperature limitation
IVD	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
SORB MTP	Планшет / EIA strips
CAL	Калибровочные пробы / Calibrator set
CONTROL	Контрольная сыворотка / Control sera
CONJ HRP	Конъюгат / Conjugate
SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) / Substrate solution
BUF WASH 26X	Концентрат отмывочного раствора / Washing solution concentrate
STOP	Стоп-реагент / Stop solution
DIL	ИФА-Буфер / EIA buffer

Уважаемый Клиент!

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

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

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

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



Russian Diagnostic
Manufacturers Association



Ассоциация российских
производителей средств лабораторной
диагностики



RUSSIAN ASSOCIATION
OF MEDICAL LABORATORY
DIAGNOSTICS



РОССИЙСКАЯ АССОЦИАЦИЯ
МЕДИЦИНСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ
ДИАГНОСТИКИ

Номер горячей линии технической поддержки Клиентов:

8 800 505 23 45

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

Ждем Ваших отзывов и предложений по адресам:

Центральный офис ООО «ХЕМА»

Адрес для корреспонденции:

105043, г. Москва, а/я 58

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

тел.: +7 (495) 510-57 07, 737-39-36;

факс: +7 (495) 737-00-40

e-mail: info@xema.ru

www.xema-medica.com

ФООО «Хема», тел.: +7 (812) 271-24-41

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

e-mail: spb@xema.ru

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

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

литер А, корп. 8/К, офис 416

e-mail: hemma-test@yandex.ru

ТОВ «Хема», тел.: (044) 422-62-16;

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

e-mail: info@xema.com.ua



xemahelp



xemahelp@gmail.com





Instruction for use
A solid-phase enzyme immunoassay kit
for the quantitative determination of
dehydroepiandrosterone sulfate
in human serum or plasma

DHEAS EIA

Catalogue number **REF K215**



For 96 determinations



In vitro diagnostic medical device

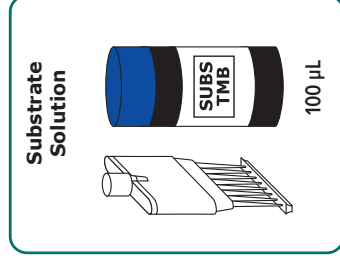
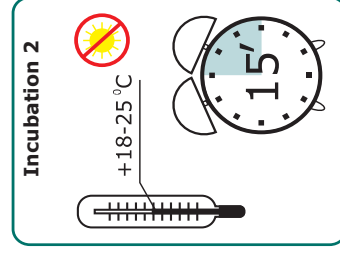
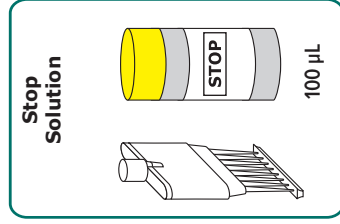
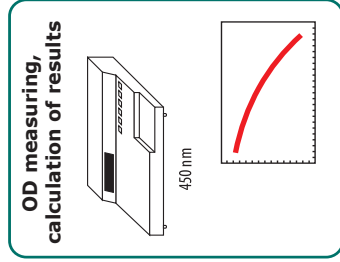
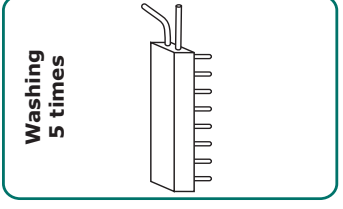
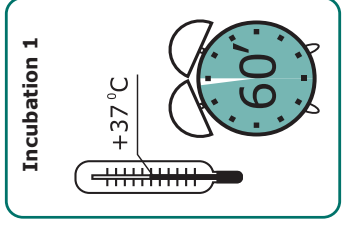
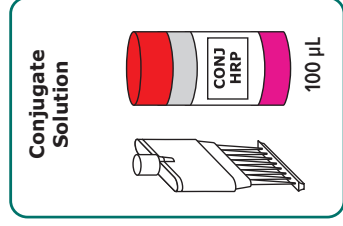
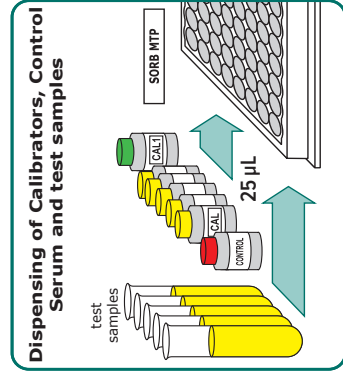


XEMA LLC
Akademika Yefremova St. 23
03179, Kyiv, Ukraine
tel.: +38 044 422-62-16
tel.: +38 044 294-69-78
E-mail: qa@xema.com.ua
www.xema.in.ua



Authorized Representative in EU:
Polmed.de Beata Rozwadowska
Fichtenstr. 12A, 90763 Fuerth, Germany
tel.: +49 911 931 639 67
E-mail: info@polmed.de
www.polmed.de

ASSAY PROCEDURE



K215

CONTENT

1. INTENDED USE	2
2. GENERAL INFORMATION	2
3. TEST PRINCIPLE	2
4. KIT COMPONENTS	3
5. EQUIPMENT AND MATERIAL REQUIRED BUT NOT PROVIDED	4
6. WARNING AND PRECAUTIONS	4
7. SPECIMEN COLLECTION, TRANSPORTATION AND STORAGE OF SAMPLES	5
8. TRANSPORTATION AND STORAGE TERMS OF KIT, WASTE DISPOSAL	5
9. REAGENTS PREPARATION	6
10. ASSAY PROCEDURE	6
11. TEST VALIDITY	7
12. EXPECTED VALUES	7
13. PERFORMANCE CHARACTERISTICS	8
14. REFERENCES	10
SAMPLES IDENTIFICATION PLAN	11

Instruction for use
A solid-phase enzyme immunoassay kit
for the quantitative determination of
dehydroepiandrosterone sulfate
in human serum or plasma
DHEAS EIA

1. INTENDED USE

The DHEAS EIA kit is an enzyme immunoassay, intended for the quantitative determination of dehydroepiandrosterone sulfate in human serum or plasma.

The field of application is clinical laboratory diagnostics.

2. GENERAL INFORMATION

Dehydroepiandrosterone (DHEA) is an androgen with a MW of 288.4 Dalton secreted in adrenals. The main derivate of DHEA present in human tissue is DHEA sulfate (DHEAS). Since birth, DHEAS serum concentration is increasing continuously showing a pronounced peak after puberty and maximal levels at the age of 20. After that, serum DHEAS level continuously decreases. As DHEAS is the main component of 17-ketosteroids in serum, this test may substitute for column tests for determination of 17-ketosteroids in urine.

Elevated DHEAS concentrations are found in adrenogenital syndrome, hirsutism, acne, benign hyperplasia of adrenals and adrenal tumors, Stein-Leventhal syndrome, polycystic ovary syndrome.

Decreased levels of DHEAS are found in hyperlipidemia, psychotic states, psoriasis, adrenal insufficiency.

3. TEST PRINCIPLE

Determination of the DHEAS is based on competition principle of the enzyme immunoassay. Microwells plate is coated with specific rabbit polyclonal to DHEAS-antibodies. DHEAS conjugated to the horseradish peroxidase is used as enzyme conjugate. The analysis procedure includes two stages of incubation:

- during the first stage DHEAS from the specimen competes with the conjugated DHEAS for coating antibodies. As a result, a complex bounded to the solid phase and containing peroxidase is formed.

- during the second stage, the complexes formed due the reaction with the chromogen 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine are visualized.

After stopping the reaction with a stop solution, the intensity of the color of the microwells is measured. Optical density in the microwell is inversely related to the quantity of the measured DHEAS in the specimen of the serum (plasma).

The concentration is determined according to the calibration graph of the dependence of the optical density on the content of DHEAS in the calibration samples.

4. KIT COMPONENTS

Code of component	Symbol	Name	Volume	Qty, pcs.	Description
P215Z	SORB MTP	Microplate	-	1	96-well polystyrene strip microplate coated with rabbit polyclonal antibodies to DHEAS; ready to use
C215Z	CAL 1	Calibrator C1	0.5 mL	1	Solution based on human plasma, free of DHEAS, with preservative, ready to use (yellow liquid)
C215Z	CAL 2-6	Calibrators	0.5 mL	5	Solutions based on human plasma, containing 0.1; 0.3; 1; 3 and 10 µg/mL of DHEAS, with preservative, ready to use (blue liquids)
Q215Z	CONTROL	Control Serum	0.5 mL	1	Solution based on human plasma, containing of known DHEAS content, with preservative, ready to use (colourless liquid)
T215Z	CONJ HRP	Conjugate Solution	14 mL	1	Solution of DHEAS conjugated to the horseradish peroxidase; ready to use (magenta liquid)
R055Z	SUBS TMB	Substrate Solution	14 mL	1	Tetramethylbenzidine (TMB) substrate solution; ready to use (colourless liquid)
S008Z	BUF WASH 26X	26x Concentrate Washing Solution	22 mL	1	Buffer solution with detergent, 26x concentrate (colourless liquid)
R050Z	STOP	Stop Solution	14 mL	1	5.0% solution of sulphuric acid; ready to use (colourless liquid)
The kit also includes instruction for use, quality control data sheet and plate sealing tape (2 pcs.)					

5. EQUIPMENT AND MATERIAL REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- microplate photometer with 450 nm wavelength;
- dry thermostat for $+37^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$;
- automatic plate washer (optional);
- micropipettes with variable volume, range volume 5-1000 μL ;
- graduated cylinder of 1000 mL capacity;
- distilled or deionized water;
- timer;
- vortex mixer;
- disposable gloves;
- absorbent paper.

6. WARNING AND PRECAUTIONS

In order to prevent incorrect results, strictly follow the recommended order and duration of the analysis procedure.

6.1. The kit is for *in vitro* diagnostic use only. For professional laboratory use.

6.2. Follow the rules mentioned below during the kit using:

- do not use kit beyond expire date;
- do not use the kit if its packaging is damaged;
- in order to avoid contamination, use new tips to pipette samples and reagents;
- use only verified equipment;
- close each vial with its own cap, after using the reagent;
- do not use components of other kits or reagents of other manufacturers;
- do not let wells dry after completing the rinsing step; immediately proceed to the next stage;
- avoid bubbles when adding reagents.

ATTENTION! The TMB substrate solution is light sensitive. Avoid prolonged exposure of the component to light.

6.3. Some kit components, such as stop solution, substrate solution, and washing solution, may cause toxic or irritant effects. If they get on the skin or mucosa, the affected area should be washed with plenty of running water.

6.4. 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.

6.5. The Calibrators and Control Serum included in the kit are negative for antibodies to HIV 1,2, hepatitis C virus and HBsAg, but the reagents should be considered as potentially infectious material and handled carefully.

6.6. Specimens must not contain any azide compounds, as they inhibit activity of peroxidase.

6.7. Wear protective gloves, protective clothing, eye protection, face protection.

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

6.9. Safety Data Sheet for this product is available upon request directly from XEMA LLC.

6.10. Serious incidents related to the kit must be reported to the manufacturer, Authorized Representative, and to the Competent Authority of the EU member state(s) where the incident has occurred.

7. SPECIMEN COLLECTION, TRANSPORTATION AND STORAGE OF SAMPLES

7.1. Blood sampling should be carried out from the cubital vein with a disposable needle using a vacuum blood sampling system. Serum or plasma specimens should be clearly labeled and identified. Serum must be separated from the clot as early as possible to avoid hemolysis of red blood cells. If there are any visible particles in the sample, they should be removed by centrifugation at 3000-5000 rpm for 20 minutes at room temperature or by filtration.

Don't use samples with high lipidemia, hemolysis as they may give false test results.

7.2. Specimen should be stored at +2...+8°C up to 3 days. Specimen held for a longer time, should be placed in a freezer at -15°C or below; do not refreeze/thaw samples.

7.3. For the transportation of samples, it is recommended to use triple packaging. The primary package is the labeled tube containing the sample. Secondary packaging is a polyethylene bag that is hermetically closed with a zip-lock. The outer packaging is a heat-insulating container, while the secondary packaging is placed in the outer packaging for transportation in the center of the thermal container. Frozen refrigerants are placed on the bottom, along the side walls of the thermal container, and cover the samples with them.

8. TRANSPORTATION AND STORAGE TERMS OF KIT, WASTE DISPOSAL

Information about the singularity storage conditions, transportation of the kit, and disposal of waste should be taken into account by all persons who participate in these processes.

8.1. Transportation

The DHEAS EIA kit should be transported in the manufacturer's packaging at +2...+8°C. Single transportation at the temperature up to 25°C for 5 days is acceptable.

8.2. Storage

The DHEAS EIA kit should be stored in the manufacturer's packaging at +2...+8°C. Do not freeze.

The kit contains reagents sufficient for 96 determinations including Calibrators and Control Serum.

Once opened test-kit is stable for 2 months when stored properly as intended by manufacturer at 2-8°C.

In case of partial use of the kit, the components should be stored in the following way:

- strips that remain unused must be carefully sealed with the plate sealing tape and stored at +2...+8°C within 2 months;
 - Substrate Solution, Stop Solution, and Washing Solution concentrate after opening the vial, can be stored tightly closed at +2...+8°C until the kit's shelf life;
 - Conjugate Solution, Calibrators and Control Serum after opening the vial, can be stored tightly closed at +2...+8°C within 2 months;
- NOTE: Single freezing of Calibrators and Control Serum in aliquots is allowed*
- diluted washing solution can be stored at room temperature (+18...+25°C) for up to 5 days or at +2...+8°C for up to 14 days.

Kits that were stored in violation of the storage condition cannot be used.

8.3. Disposal

Expired kit components, used reagents and materials, as well as residual samples must be inactivated and disposed of in accordance with legal requirements.

9. REAGENTS PREPARATION

9.1. All reagents (including microstrips) and test samples should be allowed to reach room temperature (+18...+25 °C) for at least 30 minutes before use.

9.2. Microplate preparation

Open the package with the microplate and install the required number of strips into the frame. Unused strips must be sealed with plate sealing tape to prevent moisture from affecting the plate's holes and placed back in the bag.

9.3. Washing Solution preparation

Add the contents of the 22 mL Washing Solution concentrate vial to 550 mL of distilled or deionized water and mix thoroughly. In case of partial use of the kit, take the necessary amount of washing solution concentrate and dilute it 26 times with distilled or deionized water.

The spending of the components in case of partial use of the kit is given in the table:

Quantity of strips	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Volume of the Washing Solution concentrate, mL	1.8	3.6	5.4	7.2	9	10.8	12.6	14.4	16.2	18	19.8	22
Volume of water, mL	45	90	135	180	225	270	315	360	405	450	495	550

10. ASSAY PROCEDURE

10.1 Put the desired number of strips into the frame based on the number of test samples in 2 replicates and 14 wells for Calibrators and Control Serum (2 wells for each calibrator (CAL 1-6) and 2 wells for control serum (Q)).

10.2 Dispense **25 µL of Calibrators and Control Serum as well as 25 µL of test serum/plasma samples (SAMP)** to the wells of the microplate according to the scheme below. The introduction of Calibrators, Control Serum and test samples should be carried out within 5 minutes to ensure equal incubation time for the first and last samples.

Note: during performing several independent series of tests, Calibrators, and Control Sample should be used each time.

Scheme of introduction of samples

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	CAL1	CAL1	SAMP2	SAMP2	SAMP10	SAMP10						
B	CAL2	CAL2	SAMP3	SAMP3	SAMP11	SAMP11						
C	CAL3	CAL3	SAMP4	SAMP4	SAMP12	SAMP12						
D	CAL4	CAL4	SAMP5	SAMP5								
E	CAL5	CAL5	SAMP6	SAMP6								
F	CAL6	CAL6	SAMP7	SAMP7								
G	Q	Q	SAMP8	SAMP8								
H	SAMP1	SAMP1	SAMP9	SAMP9								

- 10.3 Add **100 µL of the Conjugate Solution** to all wells.
- 10.4 Carefully mix the contents of the microplate in a circular motion on a horizontal surface, cover strips with a plate sealing tape and incubate for **60 minutes at +37°C**.
- 10.5 At the end of the incubation period, remove and discard the plate cover. Aspirate and wash each well 5 times using an automatic washer or an 8-channel dispenser. For each washing, add 300 µL of Washing Solution (see 9.3) to all wells, then remove the liquid by aspiration or decantation. The residual volume of the Washing Solution after each aspiration or decantation should be no more than 5µL. After washing, carefully remove the remaining liquid from the wells on the absorbent paper. For the automatic washer/analyzer, the Washing Solution volume can be increased to 350 µL.
- 10.6 Add **100 µL of Substrate Solution** to all wells. The introduction of the substrate solution into the wells must be carried out within 2-3 minutes. Incubate the microplate in the dark **at room temperature (+18...+25°C) for 15 minutes**.
- 10.7 Add **100 µL of Stop Solution** to all wells in the same order as the substrate solution. After adding the Stop Solution, the contents of the wells turn yellow.
- 10.8 Read the optical density (OD) of the wells at 450nm using a microplate photometer within 5 minutes of adding the Stop Solution.
- 10.9 Plot a calibration curve in semi-logarithmic coordinates: (x) is the decimal logarithm of the DHEAS concentration in the calibrators µg/mL, (y) – OD versus DHEAS concentration (OD 450 nm). Manual or computerized data reduction is applicable at this stage. Point-by-point or linear data reduction is recommended due to non-linear shape of curve. Adjust the concentration of CAL1 to an infinitesimally small value, for example, 0.001 µg/mL.
- 10.10 Determine the corresponding concentration of DHEAS in tested samples from the calibration curve.

11. TEST VALIDITY

The test run shall be considered valid if the OD of CAL1 is above 1.2, and the values of the Control Serum fall into the required range (see Quality control Data Sheet).

12. EXPECTED VALUES

12.1 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 DHEAS. Based on data obtained by XEMA, the following normal range is recommended (see below).

NOTE: values of DHEAS concentrations in the tested samples that are below the LoD (0.025 µg/mL) and also exceed the value of the upper calibrator (10 µg/mL) should be provided in the following form : «the DHEAS concentration of tested sample X is «lower than 0.025 µg/mL» or «higher than 10 µg/mL».

12.2 The calibrators concentration values of the DHEAS EIA kit are expressed in µg/mL. To calculate concentrations in µmol/L, the received concentration value in µg/mL shall be multiplied by 2.6.

$$1 \mu\text{g/mL} = 2.6 \mu\text{mol/L}$$

Sex, age	Units, µg/mL		Units alternative, µmol/L	
	Lower limit	Upper limit	Lower limit	Upper limit
Males				
newborn	1.08	4.06	2.81	10.56
1 month-5 yrs	0.01	0.41	0.03	1.07
6-9 yrs	0.03	1.45	0.07	3.77
10-11 yrs	0.12	1.15	0.31	2.99
12-17 yrs	0.2	5.55	0.52	14.43
18-30 yrs	1.25	6.19	3.25	16.09
31-50 yrs	0.59	4.52	1.53	11.75
51-60 yrs	0.2	4.13	0.52	10.74
>61 yrs	0.1	2.35	0.26	6.11
Females				
newborn	0.1	2.48	0.26	6.45
1 month-5 yrs	0.05	0.55	0.13	1.43
6-9 yrs	0.03	1.4	0.07	3.64
10-11 yrs	0.15	2.6	0.39	6.76
12-17 yrs	0.2	5.35	0.52	13.91
18-30 yrs	0.29	7.81	0.75	20.31
31-60 yrs	0.12	3.79	0.31	9.85
post menopausal	0.3	2.6	0.78	6.76
Pregnancy week				
1st trimester	0.38	3.6	0.99	9.36
2nd trimester	0.42	3.0	1.09	7.8
3rd trimester	0.32	2.5	0.83	6.5

13. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

13.1. Analytical performance characteristics

13.1.1 Precision of Measurement

Repeatability (Intra assay repeatability) was determined by evaluation the coefficient of variation (CV) for 2 different samples during 1 day in 24 replicates on one series of ELISA kit.

Sample	Concentration, µg/mL	CV, %
1	4.02	5.9
2	3.38	7.34

Reproducibility (Inter assay reproducibility) was determined by evaluating the coefficients of variation for 2 samples during 5 days in 8-replicate determinations.

Sample	Concentration, µg/mL	CV, %
1	2.49	6.12
2	4.23	7.41

Reproducibility between lots was investigated by testing samples for one day on three lots. Each sample was run in 8 replicates.

Sample	Concentration, µg/mL	Concentration, µg/mL	Concentration, µg/mL	CV, %
1	1.98	1.89	2.03	11.45
2	1.69	1.78	1.64	13.6

13.1.2 Trueness

The trueness of measurement is the degree of closeness of the average value obtained from a large number of measurement results to the true value. The bias of the measurement result (bias of measurements) is the difference between the mathematical expectation of the measurement result and the true value of the measurand. The bias was calculated for each sample and it was determined that it corresponds to the specified limits of $\pm 10\%$.

13.1.3 Linearity

Linearity was determined using sera samples with known DHEAS concentration (low and high) and mixing them with each other and buffer solution in different proportions. According to the measurements, linear range of kit is 0.1-10 µg/mL $\pm 10\%$.

13.1.4 Analytical sensitivity

Limit of detection (LoD) – the lowest DHEAS concentration in the serum or plasma sample that is detected by the DHEAS EIA kit is no lower than 0.05 µg/mL.

Limit of quantification (LoQ) – the lowest concentration of the analyte in the sample that is determined quantitatively with the declared trueness for DHEAS EIA kit is 0.08 µg/mL.

13.1.5 Analytical specificity

For the analysis result is not affected by the presence in the sample of bilirubin in a concentration of up to 0.21 mg/mL and hemoglobin in a concentration of up to 10 mg/mL.

The cross-reactivity of DHEAS with other analytes is shown in the table:

Analyte	Cross-reactivity, %
DHEA	50
other steroids	<0,01

14. REFERENCES

1. P. Tijssen, «Practice & Theory of Enzyme Immunoassays», (1985) Amsterdam:Elsevier.
2. E. Friess, et al., Eur J Clin Invest, (2000) 30 Suppl 3:46-50.
3. C. Longscope, J Endocrinology, (1996) 150 Suppl: S125-S127.
4. J. Herbert, Lancet, (1995) 345:1193-1194.
5. A. Michael, et al., Biol. Psychiatry, (2000) 48(10): 989-95.
6. C.R. Dequet and D.J. Wallace, Current Opin Invest Drugs, (2001) 8: 1045-53.
7. W.M. Jeffries., Med Hypotheses, (1998) 51(2):111-4.
8. National Committee for Clinical Laboratory Standards Evaluation Protocols, SC1, (1989) Villanova, PA: NCCLS.
9. Наказ МОЗ України №325 від 08.06.2015 «Про затвердження Державних санітарно-протиепідемічних правил і норм щодо поведження з медичними відходами».
10. Постанова КМУ від 02 жовтня 2013р. №754 «Про затвердження технічного регламенту щодо медичних виробів для діагностики in vitro».
11. НПАОП 85.14-1.09-81. Правила облаштування, техніки безпеки, виробничої санітарії, протиепідемічного режиму і особистої гігієни при роботі в лабораторіях (відділеннях, відділах) санітарноепідеміологічних установ системи Міністерства охорони здоров`я СРСР (НАОП 9.1.50-1.09-81)

SAMPLES IDENTIFICATION PLAN

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

LOT _____ DATE _____

SAMPLES IDENTIFICATION PLAN

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

LOT

DATE

	Manufacturer
	<i>In vitro</i> diagnostic medical device
	Catalogue number
	Use-by date
	Batch code
	Temperature limit
	Contains sufficient for <n> tests
	Caution
	Consult instructions for use
	Conformity Marking with technical regulations in Ukraine
	Authorized representative in the European Community/European Union
	CE Conformity Marking

**For any issues related to operation of the kit and technical support,
please contact by telefon number**

+38 044 294-69-78

or write to:

qa@xema.com.ua



XEMA LLC

Akademika Yefremova St. 23

03179, Kyiv, Ukraine

tel.:+38 044 422-62-16

tel.:+38 044 294-69-78

E-mail: qa@xema.com.ua

www.xema.in.ua



ТОВ «ХЕМА» код ЄДРПОУ 36038442
Адреса 03179, м. Київ, вул. Академіка Єфремова, 23
Для кореспонденції: 03179, а/с 49
З питань замовлення продукції: 050-422-62-16, 067-422-62-16
Тел.: +38 (095) 60-99-555 Факс: +38 (044) 422-62-16
e-mail: info@xema.com.ua
www.xema.in.ua

STATEMENT

We, XEMA LLC, as a manufacturer of in vitro diagnostic medical devices, having a registered office at Akademika Yefremova St. 23, Kyiv, 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 legislative requirements of the Republic of Moldova.

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.

This Statement shall come into force on the date of its signing. The duration of this Statement is 3 years from the date of signing.

Date: 06.09.2023

Signature:

Director Xema LLC
Oleksandra Zavaliei



Certificate

Of Marketing Authorization of Medical Product

within Germany, the member states of the European Union
and the other states having a contractual agreement with the European Economic Area

Nr. **AR/IVD/XEMA LLC/01/2023**

Issued on the basis of the Declaration of conformity and registration taking into account Article 11 of Regulation (EU) 2017/746 (IVDR) on In Vitro Diagnostic, and Medical Device Implementing Act (MPDG)

Ausgestellt auf Grund der Konformitätserklärung und Registrierung unter Berücksichtigung der der Verordnung (EU) 2017/746 (IVDR) über In-vitro-Diagnostika und Medizinprodukte-Durchführungsgesetz (MPDG)

Manufacturer / Hersteller

XEMA LLC

SRN: UA-MF-000032959

UKRAINE, 03179 KYIV
Akademika Yefremova St. 23
qa@xema.com.ua; www.xema.in.ua

Product name / Produkt

See annex to the Certificate
Siehe Anhang zum Zertifikat

Product Classification:
Produktklassifizierung

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

Category:
Kategorie

Common/ Other IVD
Sonstige IVD-Produkte

Conformity assessment procedure:
Konformitätsbewertungsverfahren:

EC DECLARATION OF CONFORMITY
(Annex III, except point 6, Directive 98/79/EC)
in connection with article 110(3) IVDR

EU- KONFORMITÄTSEKTLARUNG
(Anhang III, außer Nummer 6, Richtlinie 98/79 / EG)
in Verbindung mit Artikel 110 (3) IVDR

State Competent Authority:
Staatliche Zuständige Behörde

BfArM Federal Institute for Drugs and Medical Devices
DMIDS (German Medical Device Information and Database System)

BfArM Das Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte DMIDS
(Deutsches Medizinprodukte-Informations- und Datenbanksystem)

Date of issue : **2023-03-07**
Das Ausstellungsdatum

Valid to : **2025-05-31**
Gültig bis

Represented in the EC by:

Polmed.de Beata Rozwadowska
Fichtenstr. 12A, 90763 Fürth, Germany
email: info@polmed.de
Tel: +49 911 93163967



Polmed.de

SRN: DE-AR-000006947

Annex to the Certificate No.:

Anhang zum Zertifikat Nr.:

AR/IVD/XEMA LLC/01/2023

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

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

#	Nomenclature term Nomenklaturbezeichnung	Catalog No. Katalog-Nr.	Name of device Produktbezeichnung	DMIDS Registration number Registriernummer
1.	ASPERGILLUS	K021	GalMAg EIA	DE/CA64/00115824
2.	HSV IgG	K104	HSV 1/2 IgG EIA	DE/CA64/00115826
3.	HSV IgM	K104M	HSV 1, 2 IgM EIA	DE/CA64/00115833
4.	HSV 2 IgG	K104B	HSV 2 IgG EIA	DE/CA64/00115836
5.	MYCOPLASMA ANTIBODY ASSAYS	K106	Mycoplasma IgG EIA	DE/CA64/00115837
6.	SYPHILIS ANTIBODY ASSAYS TOTAL	K111	anti-Treponema pallidum EIA	DE/CA64/00115839
7.	SYPHILIS ANTIBODY IGG	K111G	Treponema pallidum IgG EIA	DE/CA64/00115840
8.	H. PYLORI ANTIBODY ASSAYS	K119G	Helicobacter pylori IgG EIA	DE/CA64/00115850
9.	OTHER OTHER BACTERIOLOGY IMMUNOASSAY	K126	Ureaplasma IgG EIA	DE/CA64/00115851
10.	THYROID PEROXIDASE (INCL. MICROSOMAL) ANTIBODIES	K131	aTPO EIA	DE/CA64/00115852
11.	THYROGLOBULIN AUTOANTIBODIES	K132	aTG EIA	DE/CA64/00115853
12.	MPO ANCA	K133	aMPO EIA	DE/CA64/00115854
13.	TISSUE TRANSGLUTAMINASE ANTIBODIES	K160 K161	anti-TGlu IgG EIA anti-TGlu IgA EIA	DE/CA64/00115855
14.	GIARDIA LAMBLIA	K171	anti-Giardia lamblia EIA	DE/CA64/00115856
15.	OTHER PARASITOLOGY	K174	Ascaris IgG EIA	DE/CA64/00115857
16.	ECHINOCOCCUS	K175	Echinococcus IgG EIA	DE/CA64/00115858
17.	DISTOMATOSIS	K176	Opisthorchis IgG EIA	DE/CA64/00115859
18.	GLIADIN ANTIBODIES	K180 K181	Gliadin IgG EIA Gliadin IgA EIA	DE/CA64/00115860
19.	IMMUNOGLOBULIN E - TOTAL	K200	Total IgE EIA	DE/CA64/00115861
20.	THYROID STIMULATING HORMONE	K201	TSH EIA	DE/CA64/00115863
21.	LUTEINISING HORMONE	K202	LH EIA	DE/CA64/00115864
22.	FOLLICLE STIMULATING HORMONE	K203	FSH EIA	DE/CA64/00115865
23.	HUMAN GROWTH HORMONE	K204	GH EIA	DE/CA64/00115866
24.	HUMAN CHORIONIC GONADOTROPIN TOTAL	K205	hCG EIA	DE/CA64/00115867
25.	PROLACTIN	K206	Prolactin EIA	DE/CA64/00115868

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

Annex to the Certificate No.:

Anhang zum Zertifikat Nr.:

AR/IVD/XEMA LLC/01/2023

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

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

#	Nomenclature term Nomenklaturbezeichnung	Catalog No. Katalog-Nr.	Name of device Produktbezeichnung	DMIDS Registration number Registriernummer
26.	PROGESTERONE	K207	Progesterone EIA	DE/CA64/00115869
27.	ESTRADIOL	K208	Estradiol EIA	DE/CA64/00115870
28.	TESTOSTERONE (WITH DEHYDRO AND FREE TESTOSTERONE)	K209	Testosterone EIA	DE/CA64/00115871
29.	CORTISOL	K210	Cortisol EIA	DE/CA64/00115872
30.	TRIIODOTHYRONINE	K211	T3 EIA	DE/CA64/00115873
31.	THYROXINE	K212	T4 EIA	DE/CA64/00115874
32.	FREE TRIIODOTHYRONINE	K213	ft3 EIA	DE/CA64/00115875
33.	FREE THYROXINE	K214	ft4 EIA	DE/CA64/00115876
34.	DEHYDRO-EPIANDROSTERONE SULPHATE (INCL. DHEA)	K215	DHEAS EIA	DE/CA64/00115877
35.	17 OH PROGESTERONE	K217	17-OH-progesterone EIA	DE/CA64/00115878
36.	ESTRIOL	K218	free Estriol EIA	DE/CA64/00115880
37.	TESTOSTERONE (WITH DEHYDRO AND FREE TESTOSTERONE)	K219	free Testosterone EIA	DE/CA64/00115881
38.	CANCER ANTIGEN 125	K222	CA 125 EIA	DE/CA64/00115882
39.	CANCER ANTIGEN 19-9	K223	CA 19-9 EIA	DE/CA64/00115883
40.	CARCINOEMBRYONIC ANTIGEN	K224	CEA EIA	DE/CA64/00115884
41.	ALPHAFETOPROTEIN	K225	AFP EIA	DE/CA64/00115885
42.	CANCER ANTIGEN 15-3	K226	CA 15-3 (M12) EIA	DE/CA64/00115886
43.	OTHER OTHER TUMOUR MARKERS	K232	Thyroglobulin EIA	DE/CA64/00115887
44.	β HUMAN CHORIONIC GONADOTROPIN (INCL. SUBUNIT)	K235	free β-HCG EIA	DE/CA64/00115888
45.	CYFRA 21-1	K236	CYFRA 21-1 EIA	DE/CA64/00115889
46.	SQUAMOUS CELL CARCINOMA ANTIGEN	K237	SCC (A) EIA	DE/CA64/00115890
47.	PREGNANCY ASSOCIATED PLASMA PROTEIN - A (DOWNS)	K238	PAPP-A EIA	DE/CA64/00115892
48.	OTHER OTHER TUMOUR MARKERS	K239	HE4 EIA	DE/CA64/00115893
49.	CANCER ANTIGEN 242	K243	CA242 EIA	DE/CA64/00115894
50.	OTHER PREGNANCY TESTING HORMONES	K245	AMH EIA	DE/CA64/00115896

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

Annex to the Certificate No.:

Anhang zum Zertifikat Nr.:

AR/IVD/XEMA LLC/01/2023

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

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

#	Nomenclature term Nomenklaturbezeichnung	Catalog No. Katalog-Nr.	Name of device Produktbezeichnung	DMIDS Registration number Registriernummer
51.	HUMAN PLACENTAL LACTOGEN HPL	K246	Placental lactogen EIA	DE/CA64/00115897
52.	C-REACTIVE PROTEIN	K250	CRP EIA	DE/CA64/00115898
53.	C-PEPTIDE	K267C	C-peptide EIA	DE/CA64/00115900
54.	INSULIN	K267N	Insulin EIA	DE/CA64/00115901
55.	SEX HORMONE BINDING GLOBULIN	K268	SHBG EIA	DE/CA64/00115902
56.	TROPONIN (T + I)	K291	Troponin I EIA	DE/CA64/00115903
57.	LYME ANTIBODY IGG	K118G	Borelia burgdorferi IgG EIA	DE/CA64/00115904
58.	LYME ANTIBODY IGM	K118M	Borelia burgdorferi IgM EIA	DE/CA64/00115905
59.	EBV ANTIBODIES	K108V K108VM K108N	Epstein-Barr virus VCA IgG EIA Epstein-Barr virus VCA IgM EIA Epstein-Barr virus EBNA IgG EIA	DE/CA64/00115906

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

Represented in the EC by:

Polmed.de Beata Rozwadowska
Fichtenstr. 12A, 90763 Fürth, Germany
email: info@polmed.de
Tel: +49 911 93163967

SRN: DE-AR-000006947



Date: **March 07, 2023**


Polmed.de

СЕРТИФІКАТ

про відповідність системи управління якістю

Зареєстрований у Реєстрі

«29» червня 2022 р.

№ UA.SM.214-21

Дійсний до «03» серпня 2024 р.

Перше видання: «04» серпня 2021 р.

ЦИМ СЕРТИФІКАТОМ ВІДПОВІДНОСТІ ПОСВІДЧУЄТЬСЯ,
ЩО СИСТЕМА УПРАВЛІННЯ ЯКОСТІ СТОСОВНО

проектування та розроблення, виробництва та дистрибуції
медичних виробів для діагностики *in vitro*

впроваджена:

ТОВ «ХЕМА»

за адресою: вул. Академіка Єфремова, 23, м. Київ, 03179, Україна

відповідає вимогам ISO 13485:2016;

ДСТУ EN ISO 13485:2018 (EN ISO 13485:2016, IDT; ISO 13485:2016, IDT).

Контроль відповідності сертифікованої системи управління якістю вимогам зазначеного стандарту здійснюється шляхом нагляду, періодичність і процедури якого регламентуються процедурами органу з оцінки відповідності.

Сертифікат видано Органом з оцінки відповідності ТОВ «УКРМЕДСЕРТ», акредитованим Національним агентством з акредитації України, атестат від 24.12.2019 № 80047, адреса: вул. Драгоманова, будинок 1-А, оф. 2, м. Київ, 02059, Україна, тел./факс: +38-067-595-02-30, <https://ukrmedcert.org.ua>.

Директор



І.М. Хотенюк

