Declaration of Conformity

ACON Laboratories, Incorporated
5850 Oberlin Drive #340
San Diego, CA 92121, USA

We, the manufacturer, declare under our sole responsibility that the *in vitro* diagnostic device:

Mission® Urinalysis Reagent Strips (U031-XX1)

classified as Others in the directive 98/79/EC,

meets all the provisions of the directive 98/79/EC on *in vitro* diagnostic medical devices which apply to it

The self-declaration is according to Annex III (excluding Section 6) of the Directive.

Authorized Representative:
Medical Device Safety Service GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover, Germany

Signed this 11 day of February, 2020
in San Diego, CA USA

Qiyi Xie, MD, MPH
Senior Staff, Regulatory Affairs & Clinical Affairs
Acon Laboratories, Inc.

Digitally signed by Monastîrschii Viorica
Date: 2023.12.13 12:33:11 EET
Reason: MoldSign Signature
Location: Moldova

ZERTIFIKAT ◆ CERTIFICATE ◆ 認證證書 ◆ СЕРТИФИКАТ ◆ CERTIFICADO ◆ CERTIFICAT

DAkkS
Deutsche
Akkreditierungsstelle
D-ZM-11321-01-00

Product Service

Certificate

No. Q5 104507 0001 Rev. 03

Holder of Certificate: **ACON Laboratories, Inc.**
5850 Oberlin Drive, #340
San Diego CA 92121
USA

Certification Mark:

Scope of Certificate: **Design and Development, Manufacture and distribution of In Vitro Diagnostic Test Kits and Reagents for the Determination of Infectious Diseases, Clinical Chemistry, Drugs of Abuse, Tumor/Cardiac Marker, Fertility/Pregnancy and Blood Glucose Monitoring System, Lancing Devices and Lancets**

The Certification Body of TÜV SÜD Product Service GmbH certifies that the company mentioned above has established and is maintaining a quality management system, which meets the requirements of the listed standard(s). All applicable requirements of the testing and certification regulation of TÜV SÜD Group have to be complied with. For details and certificate validity see: www.tuvsud.com/ps-cert?q=cert:Q5 104507 0001 Rev. 03

Report No.: SH22743A01

Valid from: 2022-09-15
Valid until: 2025-09-06

Date, 2022-09-15

Christoph Dicks
Head of Certification/Notified Body

TÜV SÜD Product Service GmbH • Certification Body • Ridlerstraße 65 • 80339 Munich • Germany

ZERTIFIKAT ◆ CERTIFICATE ◆ 認證證書 ◆ СЕРТИФИКАТ ◆ CERTIFICADO ◆ CERTIFICAT

DAkkS Deutsche Akkreditierungsstelle D-ZM-11321-01-00

TÜV SÜD Product Service

Certificate

No. Q5 104507 0001 Rev. 03

Applied Standard(s):

EN ISO 13485:2016
Medical devices - Quality management systems - Requirements for regulatory purposes
(ISO 13485:2016)
DIN EN ISO 13485:2016

Facility(ies):

ACON Laboratories, Inc.
5850 Oberlin Drive, #340, San Diego CA 92121, USA

Address holder for registration only

ACON Laboratories, Inc.
10125 Mesa Rim Road, San Diego CA 92121, USA

Manufacture and distribution of
In Vitro Diagnostic Test Kits and Reagents for the Determination of Infectious Diseases, Clinical Chemistry, Drugs of Abuse, Tumor/Cardiac Marker, Fertility/Pregnancy and Blood Glucose Monitoring System, Lancing Devices and Lancets

ACON Laboratories, Inc.
6865 Flanders Dr., Suite B, San Diego CA 92121, USA

Storage of
In Vitro Diagnostic Test Kits and Reagents for the Determination of Infectious Diseases, Clinical Chemistry, Drugs of Abuse, Tumor/Cardiac Marker, Fertility/Pregnancy and Blood Glucose Monitoring System, Lancing Devices and Lancets

AZURE Institute, Inc.
10125 Mesa Rim Road, San Diego CA 92121, USA

Design and Development of
In Vitro Diagnostic Test Kits and Reagents for the Determination of Infectious Diseases, Clinical Chemistry, Drugs of Abuse, Tumor/Cardiac Marker, Fertility/Pregnancy and Blood Glucose Monitoring System, Lancing Devices and Lancets

Acon Laboratories Inc.
Guerrero Negro 9942 Parque Industrial Pacifico IV, 22644
Tijuana B.C. CP, MEXICO

Manufacture of
blood glucose test strips, antigen rapid test and IgG/IgM antibody rapid test for infectious disease.

.

TÜV SÜD Product Service GmbH • Certification Body • Ridlerstraße 65 • 80339 Munich • Germany
TÜV®

STATEMENT

We, ACON Laboratories, Inc., having a registered office at *5850 Oberlin Drive #340, San Diego, CA 92121* authorize SRL Sanmedico having a registered office at *A. Corobceanu street 7A, apt. 9, Chisinău, MD-2012, Moldova*

to register, notify, renew or modify the registration of medical devices on the territory of the Republic of Moldova.

Date: January 3, 2023

Signature: _____

Qiyi Xie, Md, MPH
Sr. Officer, Regulatory & Clinical Affairs
ACON Laboratories, Inc.
Ph: 858-875-8011
Email: qxie@aconlabs.com

Mission® Urinalysis Reagent Strips and Urine Analyzers

Obtain reliable and cost-effective results with *Mission*® Urinalysis Reagent Strips and Urine Analyzers!

- *Accurate*
- *Reliable*
- *Convenient*

ACON®

Global Diagnostics for Local Markets™

Urinalysis Reagent Strips

Simple and Accurate

- Analytical sensitivity better than or comparable to market leaders
- High quality color chart ensures accurate visual reading

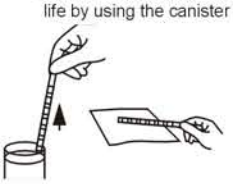
Flexible

- Compatible for visual and analyzer reading
- More than 30 different combinations available

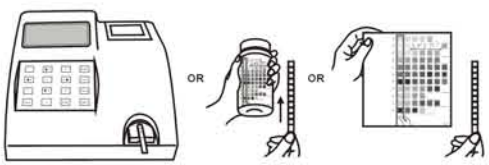
Multiple Packaging Options and Long Shelf Life

- Canister Packaging
  - Available in 25, 50, 100 and 150 strips per kit
  - 2 year shelf life for unopened canisters which offers cost savings and convenience for high volume testing
  - 3 month shelf life for strips in opened canisters
- Pouch Packaging *New!*
  - Single-strip Pouch
    - Individually packaged strips with 1, 3, 6 and 20 strips and 1 color chart per kit for OTC or low volume testing
    - Unique packaging maintains 2 year shelf life for all strips in the kit compared to 3 months for remaining strips in an opened canister
  - Multi-strip Pouch
    - Canister Refill Kits with 25 strips/pouch uniquely packaged to save cost for low volume testing and extended shelf life by using the canister for refills

Step 1: Immerse strip into urine



Step 2: Remove excess urine



Step 3: Obtain results by analyzer or visual reading

Catalog No.	No. of Parameters	Type of Strip♦		Strips per Canister◊	Pouch Packaging▲	Reading Method			Analyzer-Read Strips: Standard (S) or Additional (A)	Parameters												
		For Visual Reading	For Analyzer Reading (U120/U500)			Visual	U120	U500		ASC	GLU	BIL	KET	SG	BLO	pH	PRO	URO	NIT	LEU	ALB	CRE
U031-131	13	13C	NA	100■	✓	✓	NA	NA	A	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
U031-111	11	11A		100	✓	✓	✓	✓	S	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		
U031-101	10	10U		100	✓	✓	✓	✓	S		*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		
		10A				✓	✓	✓	A	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*			
		10C		100■		✓	✓	✓	S		*		*	*	*	*	*		*	*	*	*
U031-091	9	9U		100	✓	✓	✓	✓	S		*	*	*	*	*	*	*	*	*			
U031-081	8	8U		100	✓	✓	✓	✓	A		*	*	*		*	*	*	*	*			
		8N				✓	✓	✓	S		*		*	*	*	*	*		*	*		
		8S				✓	✓	✓	A		*			*	*	*	*	*	*	*		
U031-071	7	7N		100	✓	✓	✓	✓	A		*		*		*	*	*		*	*		
U031-061	6	6N	6NE	100	✓	✓	✓	✓	A		*				*	*	*		*	*		
		6U	6UE			✓	✓	✓				*		*	*		*	*	*			
U031-051	5	5B	5BE	100	✓	✓	✓		A		*		*		*	*	*					
		5N	5NE			✓	✓	✓			*				*		*		*	*		
		5S	5SE			✓	✓				*			*	*	*	*					
		5U	5UE			✓	✓					*			*			*	*	*		
U031-041	4	4S	4SE	100	✓	✓	✓	✓	A		*			*		*	*					
		4B	4BE			✓	✓				*				*	*	*					
		4K	4KE			✓	✓	✓			*		*			*	*					
		4G	4GE			✓	✓				*				*		*			*		
		4N	4NE			✓	✓	✓							*		*		*	*		
		4P	4PE			✓	✓	✓			*						*		*	*		
U031-031	3	3P	3PE	100	✓	✓	✓	✓	A		*					*	*					
		3K	3KE			✓	✓	✓			*		*				*					
		3G	3GE			✓	✓	✓			*		*			*						
		3N	3NE			✓	✓	✓							*				*	*		
U031-021	2	2G	2GE	100	✓	✓	✓	✓	A		*						*					
		2K	2KE			✓	✓	✓			*		*									
		2N	2NE			✓	✓	✓							*					*		
		2B	2BE			✓	✓	✓			*		*									
		2U	2UE			✓	✓	✓											*	*		
		2S	2SE			✓	✓	✓						*		*						
		2C	2CE	100■		✓	✓	✓													*	*
U031-011	1	1B	1BE	100	✓	✓	✓		A						*							
		1P	1PE			✓	✓	✓								*						
		1G	1GE			✓	✓	✓			*											
		1K	1KE			✓	✓	✓					*									
		1R	1RE			✓	✓	✓									*					

♦Type of Strip:
Visual Strip Size
1-6 Parameters: 5 mm x 80 mm; 7-11 Parameters: 5 mm x 108 mm;
12-13 Parameters: 5 mm x 121 mm
U120/U500 Strip Size
1-11 Parameters: 5 mm x 108 mm;
"E" means extended strip length for 1-6 Parameters

◊ Also available in canisters of 25, 50 and 150 strips
■ Not available in canisters of 150 strips
▲ Single-strip Pouch available in 1,3, 6 and 20 strip kit
Canister Refill Kit, with 25 strips per pouch or canister, available in 3-pouch and 1- canister kit, or 4-pouch kit

CE Marked for sale in the European Community
Cleared for US 510(k)

U120 Urine Analyzer

Accurate
- Up to 120 tests/hour in Continuous Test Option
- Capable of reading 1 strip at a time in Single Test Option
- Test modes include Routine, STAT and QC
- Automatic calibration for accurate results and easy operation

Reliable
- Can read up to 4 Strip combinations with 8, 9, 10, 11 parameters, additional strips with 1-11 parameters available upon request
- Minimal training required

Convenient Operation
- Saves and recalls the last 2,000 results automatically
- Audible beep signals operator to dip strips in urine
- Can print up to 3 copies per test for convenient reviewing and easy record keeping
- Option to print results on sticker paper for quick and simple record management

Easy Data Management
- Includes RS232C port for easy data transfer to an external computer or LIS
- Optional Barcode Reader to record patient ID

Unique Lockout Functions *new!*
- Strip Lockout
  - Prevents using strips of another brand on the U120 Urine Analyzer
  - Requires barcode reader scan or manual entry of the canister code
- User Lockout
  - Eliminates unapproved users from testing
  - Up to 10 lab operators can perform testing, but only the lab administrator can change analyzer settings
- QC Lockout
  - Prevents testing without passing QC
  - QC tests can be performed once every 8 hours, day, week or month
  - Analyzer will alert when to run QC test
  - If QC tests fail, analyzer will switch to STAT mode and list "E" at the end of each test number

Specifications

Feature	Specifications
Analyzer Type	Manual
Methodology	Reflectance Photometry
Detection	Photosensitive Diode
Throughput	Single Test Option: 60 tests/hour Continuous Test Option: 120 tests/hour
Test Modes	Routine, STAT and QC
Lockout Functions	Strip Lockout: Available Upon Request; User/QC Lockout: Included with option to turn ON/OFF
Memory	Last 2,000 results
Strip Incubation Time	1 Minute
Wavelength of Monochromatic LED	525 nm and 635 nm
Standard Strips	8, 9, 10, 11 Parameters (5 mm x 108 mm)
Additional Strips Available	1-11 Parameters (5 mm x 108 mm); see URS Parameters
Total Combinations Per Analyzer	4 Combinations
Analyzer Ports	Standard RS232C Port for Barcode Reader or Data Transfer USB Port for Data Transfer 25 Pin Parallel Port for External Printer
Capabilities	Internal Thermal Printer (included) RS232C Barcode Reader (optional) Optional External Printer (not included) USB or RS232C Data Transfer Cable (optional)
Major Readable Barcodes	Code 128, Code 39, Codabar (NW-7), Interleaved 25, UPC-A, UPC-E, EAN 8, EAN 13
Calibration	Automatic
Available Languages on the Screen	English and additional language(s)
Operating Conditions	0-40°C (32-104°F); ≤85% RH
Storage Conditions	-5-50°C (23-122°F); ≤90% RH
Power Source	100-240 VAC, 50-60 Hz
Dimensions (L x W x H)	27.2 cm x 26.9 cm x 14.6 cm (10.7" x 10.6" x 5.7")
Display Dimensions (L x W)	10.8 cm x 5.7 cm (4.2" x 2.2")
Weight	2.6 kg (5.7 lbs)

Ordering Information

Product Name	Catalog No.	Components		Kit Box Dimensions (L x W x H) & Weight	Carton Dimensions (L x W x H) & Weight	Number of Kits/Carton
U120 Urine Analyzer	U111-101✓†	1 Urine Analyzer 1 Strip holder 2 Printer Paper Rolls	2 Fuses (2.0A) 1 Power Cord 1 Quick Start Guide 1 Instruction Manual	42.0 cm x 41.5 cm x 31 cm; 5.0 kg 16.4" x 16.2" x 12.1"; 176.4 oz		1
U120 Urine Analyzer with Barcode Reader	U111-111✓†	1 Urine Analyzer 1 Strip holder 2 Printer Paper Rolls 1 Barcode Reader (RS232C)	2 Fuses (2.0A) 1 Power Cord 1 Serial Splitter Cable (RS232C) 1 Quick Start Guide 1 Instruction Manual	44.5cm x 44.5cm x 40.0cm; 5.5 kg 17.5" x 17.5" x 15.7"; 194 oz		1
Barcode Reader	U221-111✓†	1 Barcode Reader (RS232C)	1 Serial Splitter Cable (RS232C)	23.6 cm x 10.8 cm x 7.8 cm; 0.482 kg 9.3" x 4.3" x 3.1"; 17.0 oz	63.0 cm x 37.0 cm x 30.0 cm; 12.0 kg 24.8" x 14.6" x 11.8"; 423.3 oz	22
Printer Paper Rolls	U121-101	4 Printer Paper Rolls	Thermal Paper (0.06 m x 20 m): 200 results/roll	12.0 cm x 12.0 cm x 6.5 cm; 0.36kg 4.7" x 4.7" x 2.6"; 12.7oz	63.0 cm x 37.0 cm x 30.0 cm; 19.4 kg 24.8" x 14.6" x 11.8"; 684.3 oz	50
			Sticker Paper (0.06 m x 9 m): 100 results/roll	12.0 cm x 12.0 cm x 6.5 cm; 0.4 kg 4.7" x 4.7" x 2.6"; 14.1 oz	63.0 cm x 37.0 cm x 30.0 cm; 21.4 kg 24.8" x 14.6" x 11.8"; 684.3 oz; 754.9 oz	
U120 Data Transfer Kit	U221-131✓†	1 Data Transfer Cable (RS232C)	1 Package Insert	16.0 cm x 13.0 cm x 3.5 cm; 0.147 kg 6.3" x 5.1" x 1.4"; 5.2 oz	25.0 cm x 21.0 cm x 15.0 cm; 1.36 kg 9.8" x 8.3" x 5.9"; 48.0 oz	8

✓CE Marked for sale in the European Community CE

† Cleared for US 510(k)

U500 Urine Analyzer

Accurate and Efficient
- Up to 500 tests/hour for medium/large volume sample testing
- Professional accuracy equivalent to market leader
- Automatic strip detection and alignment for better efficiency
- Test modes include Routine, STAT and QC

Easy to Operate
- Large touch screen LCD offers simple menu navigation
- Uniquely designed strip platform/waste tray unit for easy one-step cleaning

Convenient
- Automatic calibration and waste disposal reduce hands-on time
- Can read strips with 8, 9, 10, 11 parameters, additional strips with 1-11 parameters available upon request
- Strip selection of up to 4 combinations for analyzer reading
- Stores up to 2,000 records and automatically flags abnormal results
- Capable of printing results on sticker paper for quick and easy record management

Data Management Capability
- Includes RS232C port for easy data transfer to an external computer or LIS
- Optional Barcode Reader to record patient ID

Unique Lockout Functions *Coming Soon!*
- Strip Lockout
  - Prevents using strips of another brand on the U500 Urine Analyzer
  - Requires barcode reader scan or manual entry of the canister code
- User Lockout
  - Eliminates unapproved users from testing
  - Up to 10 lab operators can perform testing, but only the lab administrator can change analyzer settings
- QC Lockout
  - Prevents testing without passing QC
  - QC tests can be performed once every 8 hours, day, week or month
  - Analyzer will alert when to run QC test
  - If QC tests fail, analyzer will switch to STAT mode and list "E" at the end of each test number

Specifications

Feature	Specifications
Analyzer Type	Semi-Automatic
Methodology	Reflectance Photometry
Detection	Photosensitive Diode
Throughput	500 tests/hour (Measuring cycle: 7 seconds/test)
Test Modes	Routine, STAT and QC
Lockout Functions	Strip Lockout: Available Upon Request; User/QC Lockout: Included with option to turn ON/OFF
Memory	Last 2,000 Records
Strip Incubation Time	1 Minute
Wavelength	525 and 635 nm
Standard Strips	8, 9, 10, 11 Parameters (5 mm x 108 mm)
Additional Strips Available	1-11 Parameters (5 mm x 108 mm); see URS Parameters
Total Combinations Per Analyzer	4 Combinations
Waste Disposal Capacity	Up to 150 Strips
Analyzer Ports	Standard RS232C Port for Barcode Reader or Data Transfer 25 Pin Parallel Port for External Printer
Capabilities	Internal Thermal Printer (included) RS232C Barcode Reader (optional) Optional External Printer (not included) RS232C Data Transfer Cable (optional)
Major Readable Barcodes	Code 128, Code 39, Codabar (NW-7), Interleaved 25, UPC-A, UPC-E, EAN 8, EAN 13
Calibration	Automatic
Available Languages on the Screen	English and additional language(s)
Operating Conditions	0-40°C (32-104°F); ≤85% RH
Storage Conditions	-5-50°C (23-122°F); ≤ 90% RH
Power Source	100-240 VAC, 50-60 Hz
Dimensions (L x W x H)	36.6 cm x 28.3 cm x 19.5cm (14.4" x 11.1" x 7.7")
Display Dimensions (L x W)	11.5 cm x 9.0 cm (4.5" x 3.5")
Weight	4.0 kg (8.8 lbs)

Ordering Information

Product Name	Catalog No.	Components		Kit Box Dimensions (L x W x H) & Weight	Carton Dimensions (L x W x H) & Weight	Number of Kits/Carton
U500 Urine Analyzer	U211-101√	1 Urine Analyzer 1 Strip Platform/Waste Tray 2 Printer Paper Rolls	2 Fuses (2.0A) 1 Power Cord 1 Instruction Manual	51.0 cm x 42.0 cm x 38.5 cm; 7 kg 20.1" X 16.5" x 15.2"; 246.9 oz		1
U500 Urine Analyzer with Barcode Reader	U211-111√	1 Urine Analyzer 1 Strip Platform/Waste Tray 2 Printer Paper Rolls 1 Barcode Reader (RS232C)	2 Fuses (2.0A) 1 Power Cord 1 Serial Splitter Cable (RS232C) 1 Instruction Manual	55.0 cm x 55.0 cm x 55.0cm; 9.2 kg 21.7" x 21.7" x 21.7"; 324.5 oz		1
Barcode Reader	U221-111√†	1 Barcode Reader (RS232C)	1 Serial Splitter Cable (RS232C)	23.6 cm x10.8 cm x 7.8 cm; 0. 482 kg 9.3" x 4.3" x 3.1"; 17.0 oz	63.0 cm x 37.0 cm x 30.0 cm; 12 kg 24.8" x 14.6" x 11.8"; 423.3 oz	22
Printer Paper Rolls	U121-101	4 Printer Paper Rolls	Thermal Paper (0.06 m x 20 m): 200 results/roll	12.0 cm x 12.0 cm x 6.5 cm; 0.360 kg 4.7" x 4.7" x 2.6"; 12.7oz	63.0 cm x 37.0 cm x 30.0 cm; 19.4 kg 24.8" x 14.6" x 11.8"; 684.3 oz	50
			Sticker Paper (0.06 m x 9 m): 100 results/roll	12.0 cm x 12.0 cm x 6.5 cm; 0.40 kg 4.7" x 4.7" x 2.6"; 14.1oz	63.0 cm x 37.0 cm x 30.0 cm; 21.4 kg 24.8" x 14.6" x 11.8"; 684.3 oz; 754.9 oz	
U500 Data Transfer Kit	U221-131√	1 Data Transfer Cable (RS232C)	1 Package Insert	16.0 cm x 13.0 cm x 3.5 cm; 0.147kg 6.3" x 5.1" x 1.4"; 5.2 oz	25.0 cm x 21.0 cm x 15.0 cm; 1.36 kg 9.8" x 8.3" x 5.9"; 48.0 oz	8

We also offer other rapid diagnostic and medical products:

Blood Glucose Monitoring Systems, Immunoassay EIA/ELISA and more.

√CE Marked for sale in the European Community CE

† Cleared for US 510(k)

ACON®

ACON Laboratories, Inc., 10125 Mesa Rim Road, San Diego, CA 92121, U.S.A. • Tel: 1-858-875-8000 • Fax: 1-858-200-0729 • E-mail: info@aconlabs.com
Please visit our website for details: www.aconlabs.com

1150449703

© 2011 *ACON* Laboratories, Inc.

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-Lamblia - 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 Vasylkivska 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 Vasylkivska 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 Vasylkivska 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)

Obelis SA
EUROPEAN AUTHORIZED REPRESENTATIVE CENTER

EUROPEAN RESPONSIBLE PERSON CENTER
Obelis SA
SINCE 1988

E.A.R.-CERTIFICATE

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

REF. NO. : RP 2901-2021
ORDER NO. : DK 2491-2021

DATE: 11/01/2022

MANUFACTURER:
EKVITESTLAB LLC
Velyka Vasylkivska street, 114
03150, Kyiv, Ukraine

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

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

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

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

G.ELKAYAM
C.E.O.

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

Mr. G. Elkayam CEO
Obelis sa

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

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

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

ANNEX to IVDD EAR Certificate

Order No.: DK 2491-2021

Reference No.: RP 2901-2021

Manufacturer: Ekvitestlab LLC

Country: Ukraine

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

EUROPEAN AUTHORIZED REPRESENTATIVE CENTRE
obelis SA
SINCE 1988

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

Date: 11 January 2022

CEO Of Obelis

Gideon Elkayam

G. ELKAYAM
C.E.O.

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

СЕРТИФІКАТ

ОРГАН З СЕРТИФІКАЦІЇ СИСТЕМ МЕНЕДЖМЕНТУ
ТОВ «Орган з оцінки відповідності «ПРОМСТАНДАРТ»

засвідчує, що підприємство

ТОВАРИСТВО З ОБМЕЖЕНОЮ ВІДПОВІДАЛЬНІСТЮ «ЕКВІТЕСТЛАБ»

місцезнаходження юридичної особи:
Україна, 03150, м. Київ, вул. Велика Васильківська, 114
фактичне місцезнаходження:
Україна, 03057, м. Київ, проспект Перемоги, 60/2

код ЄДРПОУ 38745936

впровадило та використовує систему управління якістю
стосовно сфери діяльності:

Розробка, виробництво, зберігання та реалізація ІФА-наборів для діагностики in vitro

Аудит, № звіту 2020/015-20.2.1
підтвердив, що вимоги

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

виконуються.

Контроль відповідності сертифікованої системи управління якістю вимогам зазначеного стандарту здійснюється шляхом періодичних наглядових аудитів.

Реєстраційний номер сертифікату	**№ UA.QMS.00014-21**
Чинний з	**06 квітня 2021 р.**
Чинний до	**05 квітня 2024 р.**

8О156
ДСТУ EN ISO/IEC 17021-1

210020

Керівник ОС СМ
ТОВ «ООВ «ПРОМСТАНДАРТ» МП _____ *(підпис)* ***С. В. Дубровський***

ОРГАН З ОЦІНКИ ВІДПОВІДНОСТІ «ПРОМСТАНДАРТ» ТОВАРИСТВО З ОБМЕЖЕНОЮ ВІДПОВІДАЛЬНІСТЮ Україна м.Дніпро код 43598237

Чинність сертифіката можна перевірити за тел. (056) 742-82-39 та
на сайті ТОВ «Орган з оцінки відповідності «ПРОМСТАНДАРТ» prom-standart.com.ua

ПРОМСТАНДАРТ ☐ PROMSTANDART ☐ ПРОМСТАНДАРТ ☐ PROMSTANDART ☐ ПРОМСТАНДАРТ

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

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

STRIPS	1 x 96 лунок	**Планшет ИФА** В каждой лунке планшета засорбированы очищенные антигены *Giardia lamblia*. Лунки можно отделять. После первого открытия храните неиспользованные стрипы в упаковке при температуре 2-8°C не более 6 месяцев.
CONTROL +	1 x 0,35 ml	**Позитивный контроль** Раствор конъюгированных специфических моноклональных антител с консервантом (розовый). Хранить при температуре 2-8°C
CONTROL -	1 x 1,2 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 (фиолетовый). Хранить при температуре 2-8°C
SOLN CONJ	1 x 13 ml	**Раствор конъюгата (готов к использованию)** Буферный раствор моноклональных антител к IgG и IgA человека, конъюгированных 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_2O_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_2SO_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 anti-Lamblia»;
- 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 неопудреных 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-Lamblia» протестированы и признаны негативными на HBsAg и антитела к ВИЧ1/2, ВГС, *Treponema pallidum*, однако обращаться с контрольами 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°С;
– 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°С. Транспортировать набор при температуре 2-8°С. Допускается одноразовая транспортировка при температуре не выше 23°С 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°С, не допуская замораживания.

Сыворотку или плазму крови можно хранить при температуре 2-8°С не более 3 суток. Допускается более продолжительное хранение замороженной сыворотки при температуре -20°С или -70°С. ЗЗамороженные 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°С 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°С. 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°С до полного растворения кристаллов (15–20 минут). Разведенный раствор можно хранить при температуре 2-8°С не более 7 суток.

9. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

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

9.2. Заполните схему внесения образцов.

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

9.4. Внесите во все лунки планшета по 80 µl DIL SAMPLE.

9.5. Внесите в лунки по 20 µl контролей и исследуемых образцов:
CONTROL + – в лунку A1,
CONTROL - – в лунки B1, C1, D1,
в остальные лунки – исследуемые образцы.
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 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 ($\overline{Nc}$), уровень граничного значения (Cut off - CO) и индекс позитивности образца (IP_{sample}).

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

$$IP_{sample} = OD_{sample}/CO, \text{ где } OD_{sample} \text{ – ОП обзразца}$$

10.2. Контроль достоверности результатов анализа

Данные теста считаются достоверными, если они отвечают следующим требованиям:

CONTROL +	ОП ≥ 1,0
CONTROL -	ОП ≤ 0,150
CONTROL -	$\overline{Nc} \times 0,5 \le Ncn \le \overline{Nc} \times 2,0$ где Ncn – ОП каждого повтора Nc

Если одно из значений ОП негативного контроля выходит за пределы указанного выше интервала, его отбрасывают и рассчитывают $\overline{Nc}$ 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

$IP_{sample} > 1,1$	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ
$0,9 \le IP_{sample} \le 1,1$	НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ*
$IP_{sample} < 0,9$	ОТРИЦАТЕЬНЫЙ

* 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 µmol/l), гемоглобина в концентрации до 10 mg/ml и триглицеридов в концентрации до 10 mg/ml (11,3 mmol/l).

11.2. Диагностические характеристики

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-Lamblia» 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-Lamblia», а значит относительная чувствительность составляет 100%. Для выборки из 148 сывороток детей, проверенных и охарактеризованных в коммерческих аналогах, относительная специфичность ИФА-наборов «EQUI anti-Lamblia» 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 ≥ 10 MΩ · 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
EC REP	Уполномоченный представитель на территории ЕС
IVD	Медицинское изделие для диагностики *in vitro*
REF	Номер по каталогу
	Дата изготовления
	Использовать до
LOT	Код партии
	Температурное ограничение
Σ	Содержит достаточно для (n-) испытаний
	Предостережение, ознакомиться с сопроводительными документами
NON STERILE	Нестерильно
	Ознакомление с инструкцией по применению
	Беречь от прямых солнечных лучей
	Хранить в сухом месте
	Знак соответствия техническим регламентам
CE	Знак соответствия требованиям безопасности ЕС

Редакция 7 от 18.02.2022г.

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

EC REP

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

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

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

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

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

CO - Уровень граничного значения (Cut off)

IP_{sample} - Индекс позитивности образца

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

$IP_{sample} > 1{,}1$	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ
$0{,}9 \le IP_{sample} \le 1{,}1$	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 аскарида 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 массовостью 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 *Ascaris lumbricoides*. 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_2O_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_2SO_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 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 неопудреных 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 контрольами 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°С;
– 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°С. Транспортировать набор при температуре 2-8°С. Допускается одноразовая транспортировка при температуре не выше 23°С 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°С, не допуская замораживания.

Сыворотку или плазму крови можно хранить при температуре 2-8°С не более 3 суток. Допускается более продолжительное хранение замороженной сыворотки при температуре -20°С или -70°С. ЗЗамороженные 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°С 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°С. 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°С до полного растворения кристаллов (15–20 минут). Разведенный раствор можно хранить при температуре 2-8°С 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 ($\overline{Nc}$), уровень граничного значения (Cut off - CO) и индекс позитивности образца (IP_{sample}).

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

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

10.2. Контроль достоверности результатов анализа

Данные теста считаются достоверными, если они отвечают следующим требованиям:

CONTROL + ОП ≥ 1,0

CONTROL - ОП ≤ 0,150

CONTROL - $\overline{Nc} \times 0,5 \leq Ncn \leq \overline{Nc} \times 2,0$ где Ncn – ОП каждого повтора Nc

Если одно из значений ОП негативного контроля выходит за пределы указанного выше интервала, его отбрасывают и рассчитывают $\overline{Nc}$ 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

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

* 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 μmol/l), гемоглобина в концентрации до 10 mg/ml и триглицеридов в концентрации до 10 mg/ml (11,3 mmol/ l).

11.2. Диагностические характеристики

Для определения клинической чувствительности 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 ≥ 10 MΩ · 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. 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
EC REP	Уполномоченный представитель на территории ЕС
IVD	Медицинское изделие для диагностики *in vitro*
REF	Номер по каталогу
	Дата изготовления
	Использовать до
LOT	Код партии
	Температурное ограничение
Σ	Содержит достаточно для (n-) испытаний
	Предостережение, ознакомиться с сопроводительными документами
NON STERILE	Нестерильно
	Ознакомление с инструкцией по применению
	Беречь от прямых солнечных лучей
	Хранить в сухом месте
	Знак соответствия техническим регламентам
CE	Знак соответствия требованиям безопасности ЕС

Редакция 8 от 10.02.2022г.

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

EC REP

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
$0,9 \le IP_{sample} \le 1,1$	НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ
$IP_{sample} < 0,9$	ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ

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 паратенических 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 паратенических 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 и 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

STRIPS	1 x 96 лунок	**Планшет ИФА** В лунках планшета засорбированы антигены личинок *Toxocara canis*. 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_2O_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_2SO_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 Toxocara 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 неопудреных 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 контрольами 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°С;
– 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°С. Транспортировать набор при температуре 2-8°С. Допускается одноразовая транспортировка при температуре не выше 23°С 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. ЗЗамороженные 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 ($\overline{Nc}$), уровень граничного значения (Cut off - CO) и индекс позитивности образца (IP_{sample}).

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

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

10.2. Контроль достоверности результатов анализа

Данные теста считаются достоверными, если они отвечают следующим требованиям:

CONTROL +	ОП ≥ 1,0	
CONTROL -	ОП ≤ 0,150	
CONTROL -	$\overline{Nc} \times 0,5 \le Ncn \le \overline{Nc} \times 2,0$	где Ncn – ОП каждого повтора Nc

Если одно из значений ОП негативного контроля выходит за пределы указанного выше интервала, его отбрасывают и рассчитывают $\overline{Nc}$ 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

$IP_{sample} > 1,1$	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ
$0,9 \le IP_{sample} \le 1,1$	НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ*
$IP_{sample} < 0,9$	ОТРИЦАТЕЬНЫЙ

* 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 μmol/l), гемоглобина в концентрации до 10 mg/ml и триглицеридов в концентрации до 10 mg/ml (11,3 mmol/l).

11.2. Диагностические характеристики

Для 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
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 ≥ 10 MΩ · 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. 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
EC REP	Уполномоченный представитель на территории ЕС
IVD	Медицинское изделие для диагностики *in vitro*
REF	Номер по каталогу
	Дата изготовления
	Использовать до
LOT	Код партии
	Температурное ограничение
Σ	Содержит достаточно для (n-) испытаний
!	Предостережение, ознакомиться с сопроводительными документами
NON STERILE	Нестерильно
	Ознакомление с инструкцией по применению
	Беречь от прямых солнечных лучей
	Хранить в сухом месте
	Знак соответствия техническим регламентам
CE	Знак соответствия требованиям безопасности ЕС

Редакция 8 от 04.04.2022г.

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

EC REP

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

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

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

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

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

CO - Уровень граничного значения (Cut off)

IP_{sample} - Индекс позитивности образца

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

$IP_{sample} > 1,1$	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ
$0,9 \le IP_{sample} \le 1,1$	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 авидности 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 авидности (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 *T. gondii*. 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

CAL 10	1 x 0,25 ml	**Калибратор 10** 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
CAL 50	1 x 0,25 ml	**Калибратор 50** 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
CAL 100	1 x 0,25 ml	**Калибратор 100** 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
CAL 200	1 x 0,25 ml	**Калибратор 200** 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
PREDIL SAMPLE	1 x 21 ml	**Раствор для предварительного разведения сывороток** Буферный раствор с детергентом и консервантом (коричневый). Хранить при температуре 2-8°C
DIL SAMPLE	1 x 13 ml	**Раствор для разведения сывороток** Буферный раствор с экстрактом молока, детергентом и консервантом (желтый). 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 (фиолетовый). Хранить при температуре 2-8°C
SOLN TMB	1 x 13 ml	**Раствор ТМБ (готов к использованию)** Раствор ТМБ, H_2O_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_2SO_4 (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 неопудреных 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 контрольами 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. ЗЗамороженные 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 (комплектуется 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

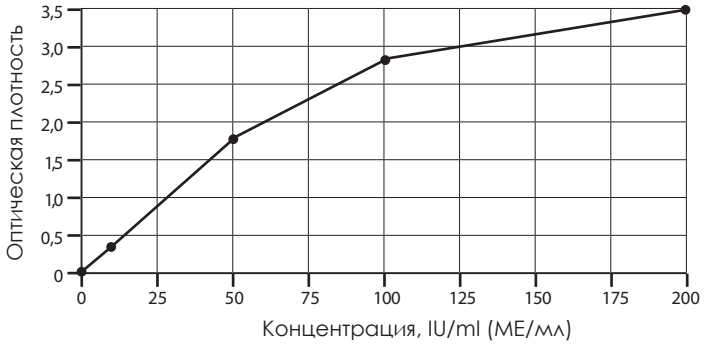
CAL 100 ОП ≥ ОПГ CAL 50 x 1,2

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 OY отложите полученные значения ОП пяти калибраторов CAL 0, CAL 10, CAL 50, CAL 100 и CAL 200, а на оси OX – 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 рисунк



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)	ОТРИЦАТЕЬНЫЙ

* 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 повторах 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 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 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 CE-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 CE-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 авидности 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
IVD	Медицинское изделие для диагностики *in vitro*
REF	Номер по каталогу
	Дата изготовления
	Использовать до
LOT	Код партии
	Температурное ограничение
Σ	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

EC Declaration of Conformity

according to Directive 98/79/EC, on in vitro diagnostic medical devices

Ref. No.:20220513-B03

Manufacturer
(Name, Address)

Getein Biotech, Inc.
No. 9 Bofu Road, Luhe District, Nanjing, 211505, China

Authorized Representative
(Name, Address)

CMC Medical Devices & Drugs S.L.
Add: C/ Horacio Lengo Nº 18, CP 29006, Málaga, Spain

Medical device

No.	Product Name
1	FIA 8000 Quantitative Immunoassay Analyzer
2	Cardiac Troponin I Fast Test Kit
3	One Step Test for cTnI (Colloidal Gold)
4	One Step Test for NT-proBNP (Colloidal Gold)
5	One Step Test for hs-CRP+CRP (Colloidal Gold)
6	One Step Test for NT-proBNP/cTnI (Colloidal Gold)
7	One Step Test for CK-MB/cTnI/Myo (Colloidal Gold)
8	One Step Test for D-Dimer (Colloidal Gold)
9	One Step Test for PCT (Colloidal Gold)
10	One Step Test for CysC (Colloidal Gold)
11	One Step Test for mAlb (Colloidal Gold)
12	One Step Test for NGAL (Colloidal Gold)
13	One Step Test for β_2-MG (Colloidal Gold)
14	One Step Test for HbA1c (Colloidal Gold)
15	One Step Test for H-FABP (Colloidal Gold)
16	One Step Test for PCT/CRP (Colloidal Gold)
17	One Step Test for CK-MB/cTnI/H-FABP (Colloidal Gold)
18	One Step Test for HCG+β (Colloidal Gold)
19	One Step Test for CK-MB (Colloidal Gold)
20	One Step Test for CK-MB/cTnI (Colloidal Gold)
21	One Step Test for T3 (Colloidal Gold)
22	One Step Test for T4 (Colloidal Gold)
23	One Step Test for TSH (Colloidal Gold)
24	One Step Test for Scr (Colloidal Gold)
25	One Step Test for PLGF (Colloidal Gold)
26	One Step Test for HCY (Colloidal Gold)

27	One Step Test for Anti-CCP (Colloidal Gold)
28	One Step Test for 25-OH-VD (Colloidal Gold)
29	One Step Test for Lp-PLA2 (Colloidal Gold)
30	One Step Test for FOB (Colloidal Gold)
31	One Step Test for *H. pylori* /FOB (Colloidal Gold)
32	One Step Test for SAA (Colloidal Gold)
33	One Step Test for *H. pylori* (Colloidal Gold)
34	One Step Test for PRL (Colloidal Gold)
35	One Step Test for AFP (Colloidal Gold)
36	One Step Test for CEA (Colloidal Gold)
37	Cardiac Troponin I Fast Test Kit Qualitative
38	cTnI Rapid Test (Colloidal Gold Assay)
39	Dengue NS1 Ag Rapid Test (Colloidal Gold Assay)
40	Dengue IgG/IgM Combo Rapid Test (Colloidal Gold Assay)
41	Dengue NS1 Ag-IgG/IgM Combo Rapid Test (Colloidal Gold Assay)
42	Malaria P.f/P.v Ag Rapid Test (Colloidal Gold Assay)
43	Malaria P.f/Pan Ag Rapid Test (Colloidal Gold Assay)
44	Malaria P.f Ag Rapid Test (Colloidal Gold Assay)
45	HSV-I IgG/IgM Rapid Test (Colloidal Gold Assay)
46	HSV-II IgG/IgM Rapid Test (Colloidal Gold Assay)
47	Influenza A/B Rapid Test (Colloidal Gold Assay)
48	Strep A Rapid Test (Colloidal Gold Assay)
49	Strep B Rapid Test (Colloidal Gold Assay)
50	RSV/Influenza A/B Combo Rapid Test (Colloidal Gold Assay)
51	RSV Rapid Test (Colloidal Gold Assay)
52	Dengue IgG/IgM Rapid Test
53	Dengue NS1 Ag-IgG/IgM Rapid Test
54	Dengue NS1 Ag Rapid Test
55	Influenza A/B Rapid Test
56	HSV-I IgG/IgM Rapid Test
57	HSV-II IgG/IgM Rapid Test
58	Malaria P.f Ag Rapid Test
59	Malaria P.f/P.v Ag Rapid Test
60	Malaria P.f/Pan Ag Rapid Test
61	RSV/Influenza A/B Rapid Test
62	RSV Rapid Test
63	Strep A Rapid Test
64	Strep B Rapid Test

Classification Other device (according to Annex II of the directive 98/79/EC)

Conformity assessment route	Annex III of the 98/79/EC		
Applicable coordination standards	EN 13612:2002	EN ISO 14971:2019	EN ISO15223-1:2016
	EN ISO 18113-1:2011	EN ISO 18113-2:2011	EN ISO 18113-3:2011
	EN ISO 23640:2015	EN ISO 13485:2016	ISO 780:2015
	EN 61326-2-6:2006	IEC 61326-1:2013	
	EN 61010-2-101:2002	IEC 61010-1:2010	

Signatory representative declares herein the above-mentioned device meets the basic requirements of the European Parliament and the Council's in vitro diagnostic medical devices directive: 98/79/EC Annex I.

This declaration of conformity is based on European Parliament and the Council's 98/79/EC directive Annex III. The compiled technical file and quality system document according to 98/79/EC directive Annex III are testified and the quality system certificate has issued by BSI Group The Netherlands B. V. The manufacturer is exclusively responsible for the declaration of conformity.

General Manager Enben Su

Nanjing
13th, May, 2022
(place and date of issue)

Enben Su
(name and signature or equivalent marking of authorized person)

CE

By Royal Charter

Certificate of Registration

QUALITY MANAGEMENT SYSTEM - ISO 13485:2016

This is to certify that:

Getein Biotech, Inc.
No.9 Bofu Road
Luhe District
Nanjing
Jiangsu
211505
China

基蛋生物科技股份有限公司
中国
江苏省
南京市
六合区
沿江工业开发区
博富路9号
邮编：211505

Holds Certificate No: **MD 728432**

and operates a Quality Management System which complies with the requirements of ISO 13485:2016 for the following scope:

Please see scope page.

For and on behalf of BSI:

Graeme Tunbridge, Senior Vice President Medical Devices

Original Registration Date: 2020-05-29
Latest Revision Date: 2023-04-26

Effective Date: 2023-07-26
Expiry Date: 2026-07-25

...making excellence a habit.™

This certificate was issued electronically and remains the property of BSI and is bound by the conditions of contract.
An electronic certificate can be authenticated online.
Printed copies can be validated at www.bsi-global.com/ClientDirectory or telephone +86 10 8507 3000.

Information and Contact: BSI, John M. Keynesplein 9, 1066 EP Amsterdam The Netherlands. Tel: +31 (0) 20 3460 780
BSI Group The Netherlands B.V., registered in the Netherlands under number 33264284, at John M. Keynesplein 9, 1066 EP Amsterdam, The Netherlands
A Member of the BSI Group of Companies.

Certificate No: **MD 728432**

Registered Scope:

Design & Development, Manufacture and Distribution of Chemiluminescence Immunoassay, Biochemistry Assay, Point of Care Assay (including Colloidal Gold Assay, Immunofluorescence Assay, Dry Chemistry Assay), PCR Assay and Colloidal Gold self-testing Assay to detect infectious disease. Design & Development, Manufacture and Distribution of Analyzers in use of Chemiluminescence Immunoassay, Biochemistry Assay, Point of Care Assay (including Colloidal Gold Assay, Immunofluorescence Assay, Dry Chemistry Assay), PCR Assay to detect infectious disease, Immunofluorescence self-testing Assay to detect dyslipidemia disease, Blood Coagulation Assay to detect thrombotic disease.
研发，生产和销售化学发光法试剂，生化试剂，即时诊断（包括胶体金法，免疫荧光法，干式化学法）试剂，传染病相关PCR分子诊断试剂和胶体金自测试剂。 研发，生产和销售用于化学发光法试剂，生化试剂，即时诊断（包括胶体金法，免疫荧光法，干式化学法）试剂，传染病相关PCR分子诊断试剂，血脂异常疾病相关免疫荧光自测试剂，血栓疾病相关血凝试剂配套使用的分析仪。

Original Registration Date: 2020-05-29

Latest Revision Date: 2023-04-26

Effective Date: 2023-07-26

Expiry Date: 2026-07-25

This certificate was issued electronically and remains the property of BSI and is bound by the conditions of contract.
An electronic certificate can be authenticated online.
Printed copies can be validated at www.bsi-global.com/ClientDirectory or telephone +86 10 8507 3000.

Information and Contact: BSI, John M. Keynesplein 9, 1066 EP Amsterdam The Netherlands. Tel: +31 (0) 20 3460 780
BSI Group The Netherlands B.V., registered in the Netherlands under number 33264284, at John M. Keynesplein 9, 1066 EP Amsterdam, The Netherlands
A Member of the BSI Group of Companies.

Certificate No: **MD 728432**

Location	Registered Activities
Getein Biotech, Inc. No.9 Bofu Road Luhe District Nanjing Jiangsu 211505 China 基蛋生物科技股份有限公司 中国 江苏省 南京市 六合区 沿江工业开发区 博富路9号 邮编：211505	Design & Development, Manufacture and Distribution of Chemiluminescence Immunoassay, Biochemistry Assay, Point of Care Assay (including Colloidal Gold Assay, Immunofluorescence Assay, Dry Chemistry Assay), PCR Assay and Colloidal Gold self-testing Assay to detect infectious disease. Design & Development, Manufacture and Distribution of Analyzers in use of Chemiluminescence Immunoassay, Biochemistry Assay, Point of Care Assay (including Colloidal Gold Assay, Immunofluorescence Assay, Dry Chemistry Assay), PCR Assay to detect infectious disease, Immunofluorescence self-testing Assay to detect dyslipidemia disease, Blood Coagulation Assay to detect thrombotic disease. 研发，生产和销售化学发光法试剂，生化试剂，即时诊断（包括胶体金法，免疫荧光法，干式化学法）试剂，传染病相关PCR分子诊断试剂和胶体金自测试剂。 研发，生产和销售用于化学发光法试剂，生化试剂，即时诊断（包括胶体金法，免疫荧光法，干式化学法）试剂，传染病相关PCR分子诊断试剂，血脂异常疾病相关免疫荧光自测试剂，血栓疾病相关血凝试剂配套使用的分析仪。
Getein Biotech, Inc. No. 6 KeFeng Road Jiangbei New District Nanjing Jiangsu 211505 China 基蛋生物科技股份有限公司 中国 江苏省 南京 江北新区 科丰路6号 邮编：211505	Manufacture of Chemiluminescence Immunoassay, Biochemistry Assay, Point of Care Assay (including Colloidal Gold Assay, Immunofluorescence Assay, Dry Chemistry Assay), Colloidal Gold self-testing Assay to detect infectious disease. Manufacture of Analyzers in use of Chemiluminescence Immunoassay, Biochemistry Assay, Point of Care Assay (including Colloidal Gold Assay, Immunofluorescence Assay, Dry Chemistry Assay), PCR Assay to detect infectious disease, Immunofluorescence self-testing Assay to detect dyslipidemia disease, Blood Coagulation Assay to detect thrombotic disease. 生产化学发光法试剂，生化试剂，即时诊断（包括胶体金法，免疫荧光法，干式化学法）试剂和传染病相关胶体金自测试剂。 生产用于化学发光法试剂，生化试剂，即时诊断（包括胶体金法，免疫荧光法，干式化学法）试剂，传染病相关PCR分子诊断试剂，血脂异常疾病相关免疫荧光自测试剂，血栓疾病相关血凝试剂配套使用的分析仪。

Original Registration Date: 2020-05-29

Latest Revision Date: 2023-04-26

Effective Date: 2023-07-26

Expiry Date: 2026-07-25

This certificate was issued electronically and remains the property of BSI and is bound by the conditions of contract.
An electronic certificate can be authenticated online.
Printed copies can be validated at www.bsi-global.com/ClientDirectory or telephone +86 10 8507 3000.

Information and Contact: BSI, John M. Keynesplein 9, 1066 EP Amsterdam The Netherlands. Tel: +31 (0) 20 3460 780
BSI Group The Netherlands B.V., registered in the Netherlands under number 33264284, at John M. Keynesplein 9, 1066 EP Amsterdam, The Netherlands
A Member of the BSI Group of Companies.

Reference Code：GP-DT-018-07-19 Issued by 07/26/2019

CERTIFICATE

Getein Biotech

hereby certifies

Mr. Vitalie Goreacii

from Sanmedico SRL.

Completion of Getein Products Technical and Operational Training
& Qualification of After-sales Service

基蛋生物科技股份有限公司
GETEIN BIOTECH, INC.

Getein
Biotech, Inc.

GP

CE IVD

One Step Test for D-Dimer

(Colloidal Gold)

User Manual **Cat.# CG1006**

IINTENDED USE

One Step Test for D-Dimer (Colloidal Gold) is intended for *in vitro* quantitative determination of D-Dimer in plasma or whole blood. The test is used as an aid in the assessment and evaluation of patients suspected of deep-vein thrombosis or pulmonary embolism.

SUMMARY

Deep-vein thrombosis is a common condition, with a lifetime cumulative incidence of 2 to 5 percent. Untreated deep-vein thrombosis can result in pulmonary embolism, a potentially fatal outcome. Anticoagulant therapy reduces both morbidity and mortality from venous thromboembolism, and early diagnosis is therefore important. Accurate diagnosis of deep-vein thrombosis minimizes the risk of thromboembolic complications and averts the exposure of patients without thrombosis to the risks of anticoagulant therapy.
D-Dimer is a marker of endogenous fibrinolysis and should therefore be detectable in patients with deep-vein thrombosis. In recent years, an increasing number of studies have shown the D-Dimer assay has a high negative predictive value and D-Dimer is a sensitive but nonspecific marker of deep-vein thrombosis. Negative D-Dimer can exclude deep-vein thrombosis and pulmonary embolism.

PRINCIPLE

The test uses an anti-human D-Dimer monoclonal antibody conjugated with colloidal gold and another anti-human D-Dimer monoclonal antibody coated on the test line. After the sample has been applied to the test strip, the gold-labelled anti-human D-Dimer monoclonal antibody binds with the D-Dimer in sample and forms a marked antigen-antibody complex. This complex moves to the test card detection zone by capillary action. Then marked antigen-antibody complex is captured on the test line by the anti-human D-Dimer monoclonal antibody resulting in a purplish red streak appears on the test line. The color intensity of the test line increases in proportion to the amount of D-Dimer in sample.
Then insert test card into FIA8000 Quantitative Immunoassay Analyzer (hereinafter referred to as FIA8000), the concentration of D-Dimer in sample will be measured and displayed on the screen. The value will be stored in FIA8000 and available for downloading. The result can be easily transmitted to the laboratory or hospital information system.

CONTENTS

A kit contains:

1. Getein D-Dimer test card in a sealed pouch with desiccant 25
2. Disposable pipet 25
3. User manual 1
4. SD card 1
5. Sample diluent 25

A test card consists of:
A plastic shell and a reagent strip which is composed of a sample pad, a colloidal gold pad (coated with a gold-labelled anti-human D-Dimer monoclonal antibody), nitrocellulose membrane (the test line is coated with another anti-human D-Dimer monoclonal antibody, and the control line is coated with rabbit anti-mouse IgG antibody), absorbent paper and liner.
Sample diluent composition:
Phosphate buffered saline, proteins, detergent, preservative, stabilizer.

Note: Do not mix or interchange different batches of kits.

APPLICABLE DEVICE

FIA8000 Quantitative Immunoassay Analyzer

STORAGE AND STABILITY

Store the test card at 4~30˚C with a valid period of 24 months.
Use the test card within 1 hour once the foil pouch is opened.
Store the sample diluent at 0~30˚C with a valid period of 24 months.
Store the sample diluent at 2~8˚C for better results.

PRECAUTIONS

1. For *in vitro* diagnostic use only.
2. For professional use only.
3. Do not use the kit beyond the expiration date.
4. Do not use the test card if the foil pouch is damaged.
5. Do not open pouches until ready to perform the test.
6. Do not reuse the test card.
7. Do not reuse the pipet.
8. Handle all specimens as potentially infectious. Proper handling and disposal methods should be followed in accordance with local regulations.
9. Carefully read and follow user manual to ensure proper test performance.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

1. This test can be used for ***plasma and whole blood samples. Sodium citrate*** should be used as the anticoagulant for plasma and whole blood. Samples should be free of hemolysis.
2. Suggest using plasma for better results.
3. If testing will be delayed, plasma sample may be stored up to 3 days at 2~8˚C or stored at -20˚C for 1 months before testing (whole blood sample may be stored up to 3 days at 2~8˚C).
4. Refrigerated or frozen sample should reach room temperature and be homogeneous before testing. Avoid multiple freeze-thaw cycles.
5. Do not use heat-inactivated samples.
6. SAMPLE VOLUME: ***120 μl***.

TEST PROCEDURE

1. Collect specimens according to user manual.

2. Test card, sample and reagent should be brought to room temperature before testing.
3. Confirm SD card lot No. in accordance with test kit lot No.. Perform "QC (SD)" calibration when necessary (Details refer to 8.2.1 of FIA8000 User Manual).
4. On the main interface of FIA8000, press "ENT" button to enter testing interface.
5. Remove the test card from the sealed pouch immediately before use. Label the test card with patient or control identification.
6. Put the test card on a clean table, horizontally placed.
7. Using sample transfer pipette, deliver ***120 μl*** of sample into one tube of sample diluent, mix gently and thoroughly. Then drop 120 μl (or 4 drops of sample when using disposable pipet) of sample mixture into the sample port on the test card.
8. ***Reaction time: 7 minutes.*** Insert the test card into FIA8000 and press "ENT" button after reaction time is elapsed. The result will be shown on the screen and printed automatically.

Notes:
1. It is required to perform "QC (SD)" calibration when using a new batch of kits.
2. It is suggested to calibrate once for one batch of kits.
3. Make sure the test card insertion is correct and complete.

TEST RESULTS

Valid: When a purplish-red band appears at the control area (C), use FIA8000 to analyze the test card and get the result.
Invalid: If no colored band appears in the control area (C), the test result is invalid. The test should be repeated and if the same situation happened again, please stop using this batch of products and contact your supplier.

EXPECTED VALUE

The expected normal value for D-Dimer was determined by testing samples from 500 apparently healthy individuals. The 95th percentile of the concentration for D-Dimer is 0.5 mg/L. (The probability that value of a normal person below 0.5 mg/L is 95%.)
It is recommended that each laboratory establish its own expected values for the population it serves.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Measuring Range	0.1~10.0 mg/L
Lower Detection Limit	≤0.1 mg/L
Within-Run Precision (n=10)	≤10%
Between-Run Precision	≤15%
Recovery	99%

Method Comparison:
The assay was compared with SIEMENS CA-7000 and its matching D-Dimer test kits with 200 plasma samples (60 positive samples and 140 negative samples). The correlation coefficient (r) for D-Dimer is 0.978.

LIMITATIONS

1. As with all diagnostic tests, a definitive clinical diagnosis should not be made based on the result of a single test. The test results should be interpreted considering all other test results and clinical information such as clinical signs and symptoms.
2. Samples containing interferents such as rheumatoid factor, human anti-mouse antibody and heterophile antibody may influence the results. In this case, results of this test should be used in conjunction with clinical findings and other tests. The table below listed the maximum allowance of these potential interferents.

Interferent	Hemoglobin	Triglyceride	Bilirubin
Concentration (Max)	5 g/L	25 g/L	0.1 g/L

REFERENCES

1. Sarig G, Klil-Drori AJ, Chap-Marshak D, Brenner B, Drugan A. Activation of coagulation in amniotic fluid during normal human pregnancy.Thromb Res. 2011 Apr 18.
2. Roldán V, Marín F, Muiña B, Torregrosa JM, Hernández-Romero D, Valdés M, Vicente V, Lip GY. Plasma von Willebrand Factor Levels Are an Independent Risk Factor for Adverse Events Including Mortality and Major Bleeding in Anticoagulated Atrial Fibrillation Patients. J Am Coll Cardiol. 2011 Apr 11.
3. Sakamoto K, Yamamoto Y, Okamatsu H, Okabe M. D-dimer is helpful for differentiating acute aortic dissection and acute pulmonary embolism from acute myocardial infarction. Hellenic J Cardiol. 2011 Mar-Apr; 52(2):123~127.
4. EN ISO 18113-1:2009 *In vitro* diagnostic medical devices - Information supplied by the manufacturer (labelling) - Part 1: Terms, definitions and general requirements.
5. EN ISO 18113-2:2009 *In vitro* diagnostic medical devices - Information supplied by the manufacturer (labelling) - Part 2: *In vitro* diagnostic reagents for professional use (ISO 18113-2:2009).

DESCRIPTION OF SYMBOLS USED

The following graphical symbols used in or found on One Step Test for D-Dimer (Colloidal Gold) are the most common ones appearing on medical devices and their packaging. They are explained in more details in the European Standard EN 980:2008 and International Standard ISO 15223-1:2007.

Key to symbols used			
	Manufacturer		Expiration date
	Do not reuse		Date of manufacture
	Consult instructions for use	LOT	Batch code
	Temperature limitation	IVD	*In vitro* diagnostic medical device
Σ	Sufficient for	EC REP	Authorized representative in the European Community
CE	CE mark		Do not use if package is damaged

Thank you for purchasing One Step Test for D-Dimer (Colloidal Gold). Please read this user manual carefully before operating to ensure proper use.

Version: WCG05-DL-S-01

Getein Biotech, Inc.
Add: No.9 Bofu Road, Luhe District, Nanjing, 211505, China
Tel: +86-25-68568508
Fax: +86-25-68568500
E-mail: tech@getein.com.cn
overseas@getein.com.cn
Website: www.bio-GP.com.cn

CE IVD

One Step Test for PCT

(Colloidal Gold)

User Manual **Cat.# CG1007**

INTENDED USE

One Step Test for PCT (Colloidal Gold) is intended for *in vitro* quantitative determination of Procalcitonin (PCT) in serum, plasma or whole blood. The test is used as an aid in the assessment and evaluation of patients suspected of bacterial infection, trauma or shock.

SUMMARY

PCT is a peptide precursor of the hormone calcitonin, the latter being involved with calcium homeostasis. It is composed of 116 amino acids and is produced by parafollicular cells (C cells) of the thyroid and by the neuroendocrine cells of the lung and the intestine.
Measurement of PCT can be used as a marker of severe sepsis and generally grades well with the degree of sepsis, although levels of PCT in the blood are very low. PCT has the greatest sensitivity and specificity for differentiating patients with systemic inflammatory response syndrome (SIRS) from those with sepsis.
PCT levels may be useful to distinguish bacterial infections from nonbacterial infections. It has shown that PCT may help guide therapy and reduce antibiotic use, which can help save on cost of antibiotic prescriptions and drug resistance.

PRINCIPLE

The test uses an anti-human PCT monoclonal antibody conjugated with colloidal gold. For PCT product, test line 1 was coated with anti-human PCT polyclonal antibody and test line 2 was coated with another anti-human PCT monoclonal antibody. After the sample has been applied to the test strip, the gold-labelled anti-human PCT monoclonal antibody or polyclonal antibody binds with the PCT in sample and forms a marked antigen antibody complex. This complex moves to the test card detection zone by capillary action. Then marked antigen antibody complex is captured on the test line by the other anti-human PCT monoclonal antibody or the polyclonal antibody. The color intensity of the test line increases in proportion to the amount of PCT in sample.
Then insert test card into FIA8000 Quantitative Immunoassay Analyzer (hereinafter referred to as FIA8000), the concentration of PCT in sample will be measured and displayed on the screen. The value will be stored in FIA8000 and available for downloading. The result can be easily transmitted to the laboratory or hospital information system.

CONTENTS

A kit contains:
1. Getein PCT test card in a sealed pouch with desiccant 25
2. Disposable pipet 25
3. User manual 1
4. SD card 1
5. Whole blood buffer 1

A test card consists of:
A plastic shell and a reagent strip which is composed of a sample pad, a colloidal gold pad, nitrocellulose membrane (coated with a gold-labelled anti-human PCT monoclonal antibody), nitrocellulose membrane (the test lines are coated with another anti-human PCT monoclonal antibody and polyclonal antibody, and the control line is coated with rabbit anti-mouse IgG antibody), absorbent paper and liner.
Whole blood buffer composition:
Phosphate buffered saline, proteins, detergent, preservative, stabilizer.

Note: Do not mix or interchange different batches of kits.

APPLICABLE DEVICE

FIA8000 Quantitative Immunoassay Analyzer

STORAGE AND STABILITY

Store the test card at 4~30℃ with a valid period of 24 months.
Use the test card within 1 hour once the foil pouch is opened.
Store the whole blood buffer at 0~30℃ with a valid period of 24 months.
Store the whole blood buffer at 2~8℃ for better results.

PRECAUTIONS

1. For *in vitro* diagnostic use only.
2. For professional use only.
3. Do not use the kit beyond the expiration date.
4. Do not use the test card if the foil pouch is damaged.
5. Do not open pouches until ready to perform the test.
6. Do not reuse the test card.
7. Do not reuse the pipet.
8. Handle all specimens as potentially infectious. Proper handling and disposal methods should be followed in accordance with local regulations.
9. Carefully read and follow user manual to ensure proper test performance.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

1. This test can be used for ***serum, plasma and whole blood samples. Heparin and sodium citrate*** can be used as the anticoagulant for plasma and whole blood. Samples should be free of hemolysis.
2. Suggest using serum or plasma for better results.
3. Serum or plasma can be used directly. For whole blood sample, one drop of whole blood buffer must be added before testing.
4. If testing will be delayed, serum and plasma samples may be stored up to 7 days at 2~8℃ or stored at -20℃ for 6 months before testing (whole blood sample may be stored up to 3 days at 2~8℃).
5. Refrigerated or frozen sample should be cooled to room temperature and be homogeneous before testing. Avoid multiple freeze-thaw cycles.
6. Do not use heat-inactivated samples.
7. SAMPLE VOLUME: ***120 μl***.

TEST PROCEDURE

1. Collect specimens according to user manual.
2. Test card, sample and reagent should be brought to room temperature before testing.
3. Confirm SD card lot No. in accordance with test kit lot No.. Perform "QC (SD)" calibration when necessary (Details refer to 8.2.1 of FIA8000 User Manual).
4. On the main interface of FIA8000, press "ENT" button to enter testing interface.
5. Remove the test card from the sealed pouch immediately before use. Label the test card with patient or control

identification.

6. Put the test card on a clean table, horizontally placed.
7. Using sample transfer pipette, deliver ***120 μl*** of sample (or 4 drops of sample when using disposable pipet) into the sample port on the test card (for whole blood sample, one drop of whole blood buffer must be added after loading 120 μl sample on the test card).
8. ***Reaction time: 15 minutes.*** Insert the test card into FIA8000 and press "ENT" button after reaction time is elapsed. The result will be shown on the screen and printed automatically.

Notes:

1. It is required to perform "QC (SD)" calibration when using a new batch of kits.
2. It is suggested to calibrate once for one batch of kits.
3. Make sure the test card insertion is correct and complete.

TEST RESULTS

Valid: When a purplish-red band appears at the control area (C), use FIA8000 to analyze the test card and get the result.
Invalid: If no colored band appears in the control area (C), the test result is invalid. The test should be repeated and if the same situation happened again, please stop using this batch of products and contact your supplier.

EXPECTED VALUE

The expected normal value for PCT was determined by testing samples from 500 apparently healthy individuals. The 99th percentile of the concentration for PCT is 0.1 ng/ml. (The probability that value of a normal person below 0.1 ng/ml is 99%.)
The table below comes from the research of ACCP/SCCM (American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine), showing the PCT value and its clinical meaning [4]:

PCT concentration	Clinical significance
< 0.5 ng/ml	Local bacterial infection is possible, systemic infection (sepsis) is not likely.
≥ 0.5 and < 2.0 ng/ml	Systemic infection (sepsis) is possible, a moderate risk of severe sepsis and/or septic shock.
≥ 2.0 ng/ml	Systemic infection (sepsis) is likely, a high risk of severe sepsis and/or septic shock.

It is recommended that each laboratory establish its own expected values for the population it serves.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Measuring Range	0.1~50.0 ng/ml
Lower Detection Limit	≤0.1 ng/ml
Within-Run Precision	≤10%
Between-Run Precision	≤15%
Recovery	98%

Method Comparison:
The assay was compared with Roche MODULAR ANALYTICS E170 automatic immunoassay system and its matching PCT test kits with 200 serum samples (68 positive samples and 132 negative samples). The correlation coefficient (r) for PCT is 0.983.

LIMITATIONS

1. As with all diagnostic tests, a definitive clinical diagnosis should not be made based on the result of a single test. The test results should be interpreted considering all other test results and clinical information such as clinical signs and symptoms.
2. Samples containing interferents such as rheumatoid factor, human anti-mouse antibody and heterophile antibody may influence the results. In this case, results of this test should be used in conjunction with clinical findings and other tests.

Interferent	Hemoglobin	Triglyceride	Bilirubin
Concentration (Max)	5 g/L	10 g/L	0.2 g/L

REFERENCES

1. Balcl C, Sungurtekin H, Gürses E, Sungurtekin U, Kaptanoglu B. Usefulness of procalcitonin for diagnosis of sepsis in the intensive care unit, Crit Care. 2003 February 7 (1):85–90.
2. Schuetz P, Christ-Crain M, Thomann R, et al. Effect of procalcitonin-based guidelines vs standard guidelines on antibiotic use in lower respiratory tract infections: the ProHOSP randomized controlled trial. JAMA. Sep 9 2009; 302(10):1059-66.
3. Briel M, Schuetz P, Mueller B, et al. Procalcitonin-guided antibiotic use vs a standard approach for acute respiratory tract infections in primary care. Arch Intern Med. Oct 13 2008;168(18):2000-7; discussion 2007-8.
4. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine: Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. Crit Care Med 1992, 20:864-874.
5. EN ISO 18113-1:2009 *In vitro* diagnostic medical devices - Information supplied by the manufacturer (labelling) - Part 1: Terms, definitions and general requirements.
6. EN ISO 18113-2:2009 *In vitro* diagnostic medical devices - Information supplied by the manufacturer (labelling) - Part 2: *In vitro* diagnostic reagents for professional use (ISO 18113-2:2009).

DESCRIPTION OF SYMBOLS USED

The following graphical symbols used in or found on One Step Test for PCT (Colloidal Gold) are the most common ones appearing on medical devices and their packaging. They are explained in more details in the European Standard EN 980:2008 and International Standard ISO 15223-1:2007.

Key to symbols used			
	Manufacturer		Expiration date
	Do not reuse		Date of manufacture
	Consult instructions for use	LOT	Batch code
	Temperature limitation	IVD	*In vitro* diagnostic medical device
	Sufficient for	EC REP	Authorized representative in the European Community
CE	CE mark		Do not use if package is damaged

Thank you for purchasing One Step Test for PCT (Colloidal Gold). Please read this user manual carefully before operating to ensure proper use.

Version: WCG06-DL-S-01

Getein Biotech, Inc.
Add: No.9 Bofu Road, Luhe District, Nanjing, 211505, China
Tel: +86-25-68568508
Fax: +86-25-68568500
E-mail: tech@getein.com.cn
overseas@getein.com.cn
Website: www.bio-GP.com.cn