



EKVITESTLAB LLC

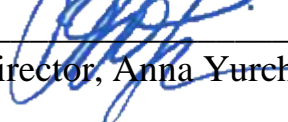
Velyka Vasylkivska St. 114
03150 Kyiv, Ukraine
Tel. 0-800-31-89-87
e-mail: info@equitest.com.ua
www.equitest.com.ua

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 2024

Signature: 
Director, Anna Yurchuk



Сертифікат
Certificate

№ Q1M 804 255 C1



Система управління якістю виробника:
Quality management system of manufacturer

Товариство з обмеженою відповідальністю
«ЕКВІТЕСТЛАБ»
«EKVITESTLAB» Limited Liability Company

Місцезнаходження юридичної особи: вул. Велика Васильківська 114, м. Київ, 03150, Україна
Location of the legal entity: 114 Velyka Vasylkivska St., Kyiv, 03150, Ukraine
Фактичне місцезнаходження: Україна, 03057, м. Київ, проспект Берестейський 60/2
Actual location: 60/2 Beresteysky Avenue, Kyiv, 03057, Ukraine

Відповідає вимогам:
meets the requirements of

ДСТУ EN ISO 13485:2018
Вироби медичні. Системи управління якістю.
Вимоги щодо регулювання
(EN ISO 13485:2016, IDT; ISO 13485:2016, IDT
Medical devices – Quality management systems –
Requirements for regulatory purposes)

Сфера застосування:
Scope

Проектування, розробка, виробництво, зберігання та реалізація ІФА-наборів
для діагностики in vitro
Design, development, production, storage and sale of ELISA kits for in vitro diagnostics

Сертифікат виданий ТОВ «Український Інститут Стандартів», місцезнаходження: будинок 1, вулиця Олександрівська, місто Київ, 03062, Україна.
Атестат акредитації НААУ від 30 червня 2020 року № 80141.
Certificate is issued by LLC Ukrainian Standards Institution: building 1, Oleksandrivska street, Kyiv, 03062, Ukraine.
Accreditation certificate registered on June 30, 2020 No. 80141

Рішення №: 255-000
Decision No.:

Дійсний з: 01.04.2024
Effective date:

Дата видачі: 01.04.2024
Issue date:

Дійсний до: 31.03.2027
Expiry date:



Директор
Director

Наталія СТЕПАНКІВСЬКА
Natalia STEPANKIVSKA

80141
Сертифікація систем
менеджменту

Сертифікат чинний за умови проведення щорічного наглядового аудиту.
Чинність сертифікату необхідно перевірити на офіційному веб-сайті
www.usi.biz.ua або за телефоном: +38-050- 818-7-333
Certificate is valid if the annual surveillance audit has been conducted
The validity of the certificate shall be checked on the official website
www.usi.biz.ua or by tel.: +38-050- 818-7-333

E.A.R.-CERTIFICATE

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

REF. NO. : RP 2901-2021

ORDER NO. : DK 2491-2021

DATE: 11/01/2022

MANUFACTURER:

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

FACILITIES:

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

**PRODUCT
CATEGORIES:**

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

MODELS:

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

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



G. ELKAYAM
C.E.O.

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

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

Mr. G. Elkayam CEO

Obelis sa

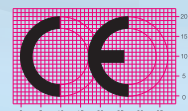


Obelis European Authorized Representative Center is a member of the European Association of Authorized Representatives (E.A.A.R.), ISO 9001 : 2015 and ISO 13485 : 2016 certified in accordance to the profession of a European Authorized Representative.

*This 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)

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

Date: 11 January 2022

CEO Of Obelis

Gideon Elkayam


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

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



Declaration of Conformity

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

EKVITESTLAB LLC

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

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

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

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

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

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

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

Our current Quality System is formatted to international standards:

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

Corporate Contact Information

EKVITESTLAB LLC

Velyka Vasytkivska St. 114, Kyiv, Ukraine, 03150

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

e-mail: info@equitest.com.ua

RESPONSIBLE PERSON'S name: Anna Yurchuk

Position: Director

SIGNATURE :



Date : October 25, 2021

Stamp



European Authorized Representative:

Registered Address:

Obelis s.a.

Bd. Général Wahis 53

B-1030 Brussels, Belgium

Phone: 32.2.732.59.54

Fax: 32.2.732.60.03

E-mail: mail@obelis.net

Representative: Mr. Gideon ELKAYAM (CEO)



Declaration of Conformity

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

EKVITESTLAB LLC

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

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

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

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

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

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

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

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

Our current Quality System is formatted to international standards:

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

Corporate Contact Information

EKVITESTLAB LLC

Velyka Vasylykivska St. 114, Kyiv, Ukraine, 03150

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

e-mail: info@equitest.com.ua

RESPONSIBLE PERSON'S name: Anna Yurchuk

Position: Director

SIGNATURE :



Date : October 25, 2021

Stamp



European Authorized Representative:

Registered Address:

Obelis s.a.

Bd. Général Wahis 53

B-1030 Brussels, Belgium

Phone: 32.2.732.59.54

Fax: 32.2.732.60.03

E-mail: mail@obelis.net

Representative: Mr. Gideon ELKAYAM (CEO)



Declaration of Conformity

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

EKVITESTLAB LLC

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

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

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

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

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

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

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

Our current Quality System is formatted to international standards:

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

Corporate Contact Information

EKVITESTLAB LLC

Velyka Vasytkivska St. 114, Kyiv, Ukraine, 03150

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

e-mail: info@equitest.com.ua

RESPONSIBLE PERSON'S name: Anna Yurchuk

Position: Director

SIGNATURE :



Date : October 25, 2021

Stamp



European Authorized Representative:

Registered Address:

Obelis s.a.

Bd. Général Wahis 53

B-1030 Brussels, Belgium

Phone: 32.2.732.59.54

Fax: 32.2.732.60.03

E-mail: mail@obelis.net

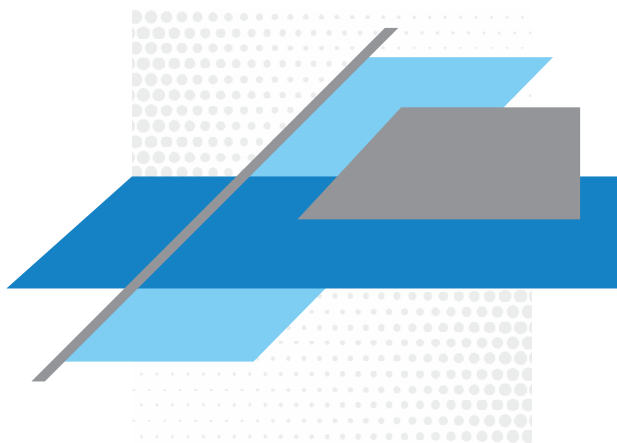
Representative: Mr. Gideon ELKAYAM (CEO)



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 пристеночное 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-Lambliа» основано на принципе «непрямого» твердофазного ИФА в двухэтапной инкубации. В лунках планшета засорбированы очищенные антигены *Giardia lamblia*. Во время первого этапа инкубации исследуемых образцов в лунках планшета ИФА специфические антитела к *Giardia lamblia*, если они присутствуют в образцах, связываются с антигенами на твердой фазе. Лунки отмываются для удаления несвязанных антител, остаются только специфические комплексы антиген-антитело. После этого добавляется смесь антивидных конъюгатов (анти-IgG и анти-IgA) моноклональных антител с пероксидазой хрена, которые связываются с иммунными комплексами на твердой фазе. Несвязанные компоненты удаляются при отмывании. Комплексы антиген-антитело обнаруживаются путем добавления раствора хромогена 3,3',5,5'-тетраметилбензидина (ТМБ) с перекисью водорода. После 30-минутной инкубации реакция останавливается добавлением стоп-раствора. Оптическая плотность (ОП) в лунках определяется на спектрофотометре при длине волны 450/620-695 nm. Интенсивность желтой окраски пропорциональна количеству антител в образце.

4. МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

4.1. Состав набора

		Планшет ИФА
STRIPS	1 x 96 лунок	В каждой лунке планшета засорбированы очищенные антигены <i>Giardia lamblia</i> . Лунки можно отделять. После первого открытия храните неиспользованные стрипы в упаковке при температуре 2-8°C не более 6 месяцев.
		Позитивный контроль
CONTROL +	1 x 0,35 ml	Раствор конъюгированных специфических моноклональных антител с консервантом (розовый). Хранить при температуре 2-8°C
		Негативный контроль
CONTROL -	1 x 1,2 ml	Негативная сыворотка крови человека с консервантом (желтый). Хранить при температуре 2-8°C
		Раствор для разведения сывороток
DIL SAMPLE	1 x 11 ml	Буферный раствор с экстрактом молока, детергентом и консервантом (фиолетовый). Хранить при температуре 2-8°C
		Раствор конъюгата (готов к использованию)
SOLN CONJ	1 x 13 ml	Буферный раствор моноклональных антител к IgG и IgA человека, конъюгированных с пероксидазой хрена, со стабилизаторами и консервантом (зеленый). Хранить при температуре 2-8°C
		Раствор ТМБ (готов к использованию)
SOLN TMB	1 x 13 ml	Раствор ТМБ, H ₂ O ₂ , стабилизатор, консервант (бесцветный). Хранить при температуре 2-8°C
		Раствор для промывки TWEEN (20x концентрат)
TWEEN WASH 20x	1 x 50 ml	20-кратный концентрат фосфатного буфера с Твином-20 (бесцветный). Развести раствор для промывки TWEEN (20x) 1:20 дистиллированной или деионизированной водой (например, 5 мл концентрата + 95 мл воды для 8 лунок) перед использованием. Разбавленный раствор хранить при температуре 2-8°C не более 7 суток
		Стоп-раствор (готов к использованию)
SOLN STOP	1 x 13 ml	Раствор 0,5 mol H ₂ SO ₄ (бесцветный). Хранить при температуре 2-8°C

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

4.2. Дополнительные реактивы, материалы и оборудование

Автоматические пипетки переменного объема на 10–1000 µl и наконечники к ним, мерная лабораторная посуда (10–1000 ml), деионизированная или дистиллированная вода, термошейкер на 37°C или термостат на 42°C, автоматический или полуавтоматический промыватель планшетов (вошер), спектрофотометр (ридер) для микропланшетов на 450/620-695

пм, соответствующие контейнеры для отходов потенциально зараженного материала, таймер, фильтровальная бумага, одноразовые неопудренные перчатки, дезинфицирующие средства.

5. ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ И ТЕХНИКА БЕЗОПАСНОСТИ

5.1. Предостережение

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

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

5.2. Техника безопасности

- все реагенты набора предназначены только для лабораторного профессионального применения в *in vitro* диагностике и могут использоваться только квалифицированным персоналом;

- постановку анализа проводить только в одноразовых неопудренных перчатках и защитных очках;
- не допускается принимать пищу, пить, курить или пользоваться косметикой в комнате проведения теста;
- не пипетировать растворы ртом;
- контроли ИФА-набора «EQUI anti-Lambliа» протестированы и признаны негативными на HBsAg и антитела к ВИЧ1/2, ВГС, *Treponema pallidum*, однако обращаться с контролями и исследуемыми образцами следует как с потенциально опасным инфекционным материалом;
- некоторые компоненты набора содержат низкие концентрации вредных веществ и могут вызвать раздражение кожи и слизистых. При попадании [SOLN|TMB], [SOLN|STOP] и [SOLN|CONJ] на слизистые или кожу необходимо немедленно промыть пораженное место большим количеством воды;
- в случае разбрызгивания растворов, не содержащих кислоту, например сывороток, обработать поверхность дезинфицирующим средством, затем вытереть досуха фильтровальной бумагой. В противном случае кислоту сначала нужно нейтрализовать раствором бикарбоната натрия, а затем вытереть поверхность, как описано выше.

5.3. Инактивация и утилизация отходов

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

6. ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВКА

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

7. РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ОТБОРУ, ТРАНСПОРТИРОВКЕ И ХРАНЕНИЮ ОБРАЗЦОВ

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

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

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

8. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

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

8.1. Подготовка планшета ИФА

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

8.2. Приготовление промывочного раствора

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

9. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

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

9.2. Заполните схему внесения образцов.

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

- 9.4. Внесите во все лунки планшета по 80 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 (\bar{Nc}), уровень граничного значения (Cut off - CO) и индекс позитивности образца (IP_{sample}).

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

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

10.2. Контроль достоверности результатов анализа

Данные теста считаются достоверными, если они отвечают следующим требованиям:

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

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

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

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

10.3. Интерпретация результатов

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

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

11. ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

11.1. Аналитические характеристики

Прецизионность

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

Коэффициент вариации (CV) для двух сывороток с разным уровнем специфических антител оценивали в 32 повторах одной серии ИФА-наборов.

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

Воспроизводимость результатов между разными постановками анализа (Inter assay reproducibility)

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

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

Аналитическая специфичность

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

11.2. Диагностические характеристики

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

12. ОГРАНИЧЕНИЕ АНАЛИЗА

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

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

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

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

13. ТРУДНОСТИ, КОТОРЫЕ МОГУТ ВОЗНИКНУТЬ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ИФА

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

14. ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОМОЩЬ И ОБСЛУЖИВАНИЕ КЛИЕНТОВ

В случае возникновения технических проблем необходимо обратиться к производителю.

ЛИТЕРАТУРА

1. Adam R. D. Biology of *Giardia lamblia* // *Clinical Microbiology Reviews*. - 2001. - Vol. 14(3). - P. 447–475.
2. CDC - *Giardia* // <https://www.cdc.gov/parasites/giardia/index.html>.
3. Choy S. H., Al-Mekhlafi H. M. et al. Prevalence and Associated Risk Factors of *Giardia* Infection among Indigenous Communities in Rural Malaysia // *Scientific Reports*. - 2014. - Vol. 4, Article number: 6909.
4. DuPont H. L. *Giardia*: both a harmless commensal and a devastating pathogen // *Journal of Clinical Investigation*. - 2013. - Vol. 123(6). - P. 2352–2354.
5. Faubert G. Immune Response to *Giardia duodenalis* // *Clinical Microbiology Reviews*. - 2000. - Vol. 13(1). - P. 35–54.
6. Lopez-Romero G., Quintero J. et al. Host defences against *Giardia lamblia* // *Parasite Immunology*. - 2015. -Vol. 37(8). - P. 394-406.
7. Saghaug C. S., Sørnes S. et al. Human Memory CD4+ T Cell Immune Responses against *Giardia lamblia* // *Clinical and Vaccine Immunology*. - 2016. - Vol. 23, No. 1. - P. 11-18.
8. Solaymani-Mohammadi S. and Singer S. M. *Giardia duodenalis*: The Double-edged Sword of Immune Responses in Giardiasis // *Experimental Parasitology*. - 2010. - Vol. 126 (3). - P. 292–297.
9. Regulation (EU) 2017/746 of the European Parliament and of the Council of 5 April 2017 on in vitro diagnostic medical devices and repealing Directive 98/79/EC and Commission Decision 2010/227/EU.
10. Закон України «Про відходи» // Відомості Верховної Ради України. - 1998. - №36-37.
11. Наказ МОЗ України №325 від 08.06.2015 «Про затвердження Державних санітарно-протиепідемічних правил і норм щодо поводження з медичними відходами».
12. Постанова КМУ від 02 жовтня 2013р. №754 «Про затвердження технічного регламенту щодо медичних виробів для діагностики in vitro».
13. Hanna Tolonen, Kari Kuulasmaa, Tiina Laatikainen, Hermann Wolf and the European Health Risk Monitoring Project. Recommendation for indicators, international collaboration, protocol and manual of operations for chronic disease risk factor surveys Part 4.Storage and transfer of serum/plasma samples// Finnish National Public Health Institute 2002// https://thl.fi/publications/ehrm/product2/part_iii4.htm
14. Surveillance Guidelines for Measles, Rubella and Congenital Rubella Syndrome in the WHO European Region. Annex 3.Collection, storage and shipment of specimens for laboratory diagnosis and interpretation of results//Geneva: World Health Organization, 2012 Dec.



Производитель



Уполномоченный представитель на территории ЕС



Медицинское изделие для диагностики *in vitro*



Номер по каталогу



Дата изготовления



Использовать до



Код партии



Температурное ограничение



Содержит достаточно для (n-) испытаний



Предостережение, ознакомьтесь с сопроводительными документами



Нестерильно



Ознакомление с инструкцией по применению



Беречь от прямых солнечных лучей



Хранить в сухом месте



Знак соответствия техническим регламентам



Знак соответствия требованиям безопасности ЕС

Редакция 7 от 18.02.2022г.

С вопросами и пожеланиями по работе набора обращайтесь к производителю:



ООО «Эквипестлаб»

ул. Большая Васильковская 114, г. Киев, Украина, 03150
проспект Победы 60/2, г. Киев, Украина, 03057 (адрес производства)
тел.: 0(800)31-89-87, +38 (044)334-89-87,
e-mail: info@equitest.com.ua, www.equitest.com.ua



Obelis s.a.

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

СХЕМА ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА

Выдержать реагенты 30 min при температуре 18-25°C

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

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

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

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

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

CO - Уровень граничного значения (Cut off)

IP_{sample} - Индекс позитивности образца

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

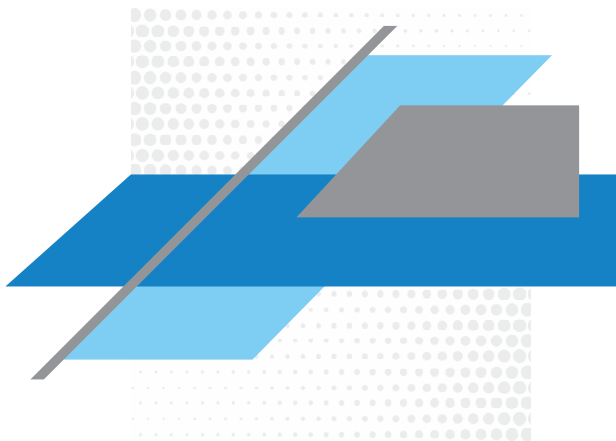
$IP_{sample} > 1,1$	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ
$0,9 \leq IP_{sample} \leq 1,1$	НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ
$IP_{sample} < 0,9$	ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ



Ascaris lumbricoides IgG

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

Инструкция по применению



IVD

REF
EI-601

Σ 96
анализов



CE

EQUI *Ascaris lumbricoides* IgG

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

1. НАЗНАЧЕНИЕ

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

Целевая группа: дети, деревенские обитатели, дачники.

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

2. КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

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

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

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

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

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

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

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

3. ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Обнаружение антител класса IgG к *Ascaris lumbricoides* в наборе ИФА «EQUI *Ascaris lumbricoides* IgG» базируется на принципе «непрямого» твердофазного ИФА в двухэтапной инкубации. В лунках планшета засорбированы антигены *Ascaris lumbricoides*. Во время первого этапа инкубации исследуемых образцов в лунках планшета ИФА специфические антитела *Ascaris lumbricoides*, если они присутствуют в образцах, связываются с антигенами на твердой фазе. Лунки отмываются для удаления несвязанных антител, остаются только специфические комплексы антиген-антитело. После этого добавляется конъюгат антивидовых анти-IgG моноклональных антител с пероксидазой хрена, который связывается с иммунными комплексами на твердой фазе. Несвязанные компоненты удаляются при отмывании. Комплексы антиген-антитело обнаруживаются путем добавления раствора хромогена 3,3',5,5'-тетраметилбензидина (ТМБ) с перекисью водорода. После 30-минутной инкубации реакция останавливается добавлением стоп-раствора. Оптическая плотность (ОП) в лунках определяется на

спектрофотометре при длине волны 450/620-695 nm. Интенсивность желтой окраски пропорциональна количеству антител в образце.

4. МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

4.1. Состав набора

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

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

4.2. Дополнительные реактивы, материалы и оборудование

Автоматические пипетки переменного объема на 10–1000 µl и наконечники к ним, мерная лабораторная посуда (10–1000 ml), деионизированная

Редакция 8 от 10.02.2022г.

или дистиллированная вода, термошейкер на 37°C или термостат на 42°C, автоматический или полуавтоматический промыватель планшетов (вошер), спектрофотометр (ридер) для микропланшетов на 450/620-695 nm, соответствующие контейнеры для отходов потенциально зараженного материала, таймер, фильтровальная бумага, одноразовые неопудренные перчатки, дезинфицирующие средства.

5. ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ И ТЕХНИКА БЕЗОПАСНОСТИ

5.1. Предостережение

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

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

5.2. Техника безопасности

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

5.3. Инактивация и утилизация отходов

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

6. ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВКА

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

7. РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ОТБОРУ, ТРАНСПОРТИРОВКЕ И ХРАНЕНИЮ ОБРАЗЦОВ

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

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

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

8. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

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

8.1. Подготовка планшета ИФА

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

8.2. Приготовление промывочного раствора

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

9. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

- 9.1. Подготовьте необходимое количество лунок для анализа (четыре лунки для контролей и необходимое количество для исследуемых образцов), вставьте их в рамку планшета ИФА. Лунки с контролями обязательно включайте в каждую постановку анализа.
- 9.2. Заполните схему внесения образцов.
- 9.3. Приготовьте раствор для промывания в соответствии с пунктом 8.2.
- 9.4. Внесите во все лунки планшета по 90 µl **[DIL|SAMPLE]**.
- 9.5. Внесите в лунки по 10 µl контролей и исследуемых образцов:
[CONTROL|+] – в лунку A1,
[CONTROL|-] – в лунки B1, C1, D1,
в остальные лунки – исследуемые образцы.
При внесении происходит изменение цвета раствора с коричневого на синий. Осторожно пипетируйте смесь в лунках, не допуская пенообразования.
- 9.6. Заклейте стрипы клейкой пленкой и инкубируйте в течение 30 минут при температуре 37°C.
- 9.7. По окончании инкубации аккуратно снимите клейкую пленку и промойте лунки пять раз с использованием автоматического промывателя или 8-канальной пипетки следующим образом:
– удалите содержимое лунок в контейнер для жидких отходов;
– наполните лунки стрипов не менее чем по 300 µl раствором для промывания, оставьте не менее, чем на 30 секунд;
– аспирируйте раствор из лунок. Остаточный объем раствора после каждого этапа аспирации должен составлять не больше 5 µl;
– повторите процедуру промывания еще пять раз;
– после последней аспирации избавьтесь от лишней влаги, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге.
- 9.8. Внесите в лунки по 100 µl **[SOLN|CONJ]**. Стрипы накройте новой клейкой пленкой и инкубируйте в течение 30 минут при 37°C.
- 9.9. По окончании инкубации аккуратно снимите клейкую пленку и промойте лунки пять раз, как описано в пункте 9.7.
- 9.10. Внесите в лунки по 100 µl **[SOLN|TMB]**, не касаясь дна и стенок лунок планшета.
- 9.11. Инкубируйте стрипы в течение 30 минут в темном месте при комнатной температуре 18-25°C. Не используйте клейкую пленку на данном этапе.
- 9.12. Внесите в лунки стрипов по 100 µl **[SOLN|STOP]** для остановки ферментативной реакции, придерживаясь той же последовательности, что и при внесении **[SOLN|TMB]**. Во время внесения происходит изменение цвета раствора с голубого на желтый, в лунках с прозрачным раствором незначительно меняется оттенок.

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

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

10. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ И ИХ ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

10.1. Учет результатов анализа

Рассчитать среднее значение ОП негативного контроля (\bar{Nc}), уровень граничного значения (Cut off - CO) и индекс позитивности образца (IP_{sample}).

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

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

10.2. Контроль достоверности результатов анализа

Данные теста считаются достоверными, если они отвечают следующим требованиям:

$$[CONTROL|+] \quad ОП \geq 1,0$$

$$[CONTROL|-] \quad ОП \leq 0,150$$

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

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

10.3. Интерпретация результатов

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

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

11. ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

11.1. Аналитические характеристики

Прецизионность

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

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

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

Воспроизводимость результатов между разными постановками анализа (Inter assay reproducibility)

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

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

Аналитическая специфичность

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

11.2. Диагностические характеристики

Для определения клинической чувствительности и специфичности наборов ИФА «EQUI *Ascaris lumbricoides* IgG» использовали 55 образцов сывороток, полученных от пациентов с клиническими симптомами, характерными для аскаридоза, и 60 образцов сывороток пациентов без клинических проявлений (серонегативных по отношению к *Ascaris lum*). Клиническая чувствительность ИФА-наборов «EQUI *Ascaris lumbricoides* IgG» составляла 94,55%, а клиническая специфичность – 93,3%.

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

12. ОГРАНИЧЕНИЕ АНАЛИЗА

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

новорожденных не является подтверждением инвазии *Ascaris lumbricoides*.

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

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

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

13. ТРУДНОСТИ, КОТОРЫЕ МОГУТ ВОЗНИКНУТЬ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ИФА

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

















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

14. ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОМОЩЬ И ОБСЛУЖИВАНИЕ КЛИЕНТОВ

В случае возникновения технических проблем необходимо обратиться к производителю.

ЛИТЕРАТУРА

1. CDC - Ascariasis // <https://www.cdc.gov/parasites/ascariasis/index.html>.
2. Cooper P. J., Chico M. E. et al. Human Infection with *Ascaris lumbricoides* Is Associated with a Polarized Cytokine Response // *The Journal of Infectious Diseases*. - 2003. - Vol. 182 (4). - P. 1207–1213.
3. Gupta S., Kumar S. et al. *Ascaris lumbricoides*: an unusual aetiology of gastric perforation // *Journal of Surgical Case Reports*. - 2012. - Vol. 2012. - rjs008.
4. Li Q., Zhao D. et al. Life-threatening complications of ascariasis in trauma patients: a review of the literature // *World Journal of Emergency Medicine*. - 2014. - Vol. 5 (3). - P. 165–170.
5. McSharry C., Xia Y. et al. Natural Immunity to *Ascaris lumbricoides* Associated with Immunoglobulin E Antibody to ABA-1 Allergen and Inflammation Indicators in Children // *Infection and Immunity*. - 1999. - Vol. 67(2). - P. 484–489.
6. Palmer L. J., Celedón J. C. et al. *Ascaris lumbricoides* Infection Is Associated with Increased Risk of Childhood Asthma and Atopy in Rural China // *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. - 2002. - Vol. 165, No. 11. - P. 1489–1493.
7. Shalaby N. Effect of *Ascaris lumbricoides* infection on T helper cell type 2 in rural Egyptian children // *Therapeutics and Clinical Risk Management*. - 2016. - Vol. 12. - P. 379–385.
8. WHO. Water related diseases: ascariasis. 2013 // http://www.who.int/water_sanitation_health/diseases/ascariasis/en/.
9. Regulation (EU) 2017/746 of the European Parliament and of the Council of 5 April 2017 on in vitro diagnostic medical devices and repealing Directive 98/79/EC and Commission Decision 2010/227/EU.
10. Закон України «Про відходи» // Відомості Верховної Ради України. - 1998. - №36-37.
11. Наказ МОЗ України №325 від 08.06.2015 «Про затвердження Державних санітарно-протиепідемічних правил і норм щодо поводження з медичними відходами».
12. Постанова КМУ від 02 жовтня 2013р. №754 «Про затвердження технічного регламенту щодо медичних виробів для діагностики in vitro».
13. Hanna Tolonen, Kari Kuulasmaa, Tiina Laatikainen, Hermann Wolf and the European Health Risk Monitoring Project. Recommendation for indicators, international collaboration, protocol and manual of operations for chronic disease risk factor surveys Part 4.Storage and transfer of serum/plasma samples// Finnish National Public Health Institute 2002// https://thl.fi/publications/ehrm/product2/part_iii4.htm
14. Surveillance Guidelines for Measles, Rubella and Congenital Rubella Syndrome in the WHO European Region. Annex 3.Collection, storage and shipment of specimens for laboratory diagnosis and interpretation of results//Geneva: World Health Organization; 2012 Dec.

	Производитель
	Уполномоченный представитель на территории ЕС
	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>
	Номер по каталогу
	Дата изготовления
	Использовать до
	Код партии
	Температурное ограничение
	Содержит достаточно для (n-) испытаний
	Предостережение, ознакомиться с сопроводительными документами
	Нестерильно
	Ознакомление с инструкцией по применению
	Беречь от прямых солнечных лучей
	Хранить в сухом месте
	Знак соответствия техническим регламентам
	Знак соответствия требованиям безопасности ЕС

Редакция 8 от 10.02.2022г.

С вопросами и пожеланиями по работе набора обращайтесь к производителю:



ООО «Эквипестлаб»
ул. Большая Васильковская 114, г. Киев, Украина, 03150
проспект Победы 60/2, г. Киев, Украина, 03057 (адрес производства)
тел.: 0(800)31-89-87, +38 (044)334-89-87,
e-mail: info@equitest.com.ua, www.equitest.com.ua



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

СХЕМА ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА

Выдержать реагенты 30 min при температуре 18-25°C

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

Внести по 10 µl контролей и исследуемых образцов в лунки:
A1 – [CONTROL|+], B1, C1, D1 – [CONTROL|-],
E1 и в остальные лунки - исследуемые образцы
(происходит изменение цвета с коричневого на синий)

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

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

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

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

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

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

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

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

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

УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

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

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

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

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

CO - Уровень граничного значения (Cut off)

IP_{sample} - Индекс позитивности образца

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

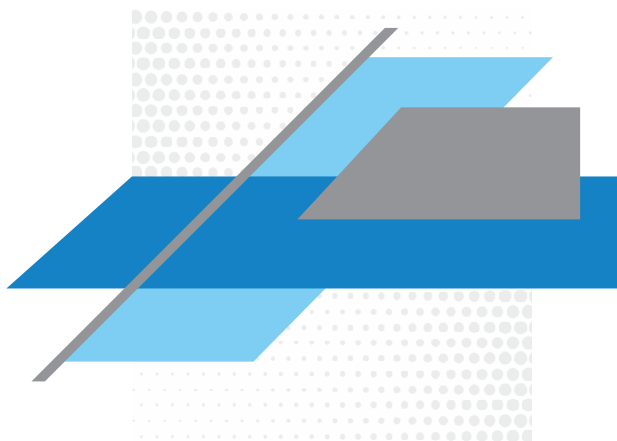
$IP_{sample} > 1,1$	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ
$0,9 \leq IP_{sample} \leq 1,1$	НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ
$IP_{sample} < 0,9$	ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ



Toxocara canis IgG

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

Инструкция по применению



IVD

REF
EI-603

Σ 96
анализов



CE

EQUI *Toxocara canis* IgG

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

1. НАЗНАЧЕНИЕ

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

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

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

2. КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

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

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

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

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

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

3. ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Выявление антител класса IgG к *Toxocara canis* в ИФА-наборе «EQUI Toxocara canis IgG» базируется на принципе «непрямого» твердофазного ИФА в двухэтапной инкубации. В лунках планшета засорбированы антигены личинок *Toxocara canis*. Во время первого этапа инкубации исследуемых образцов в лунках планшета ИФА специфические антитела к *Toxocara canis*, если они присутствуют в образцах, связываются с антигенами на твердой фазе. Лунки отмываются для удаления несвязанных антител, остаются только специфические комплексы антиген-антитело. После этого добавляется конъюгат антивидовых анти-IgG моноклональных антител с пероксидазой хрена, который связывается с иммунными комплексами на твердой фазе. Несвязанные компоненты удаляются при отмывании. Комплексы антиген-антитело обнаруживаются путем добавления раствора хромогена 3,3',5,5'-тетраметилбензидина (ТМБ) с перекисью водорода. После 30-минутной инкубации реакция останавливается добавлением стоп-раствора. Оптическая плотность (ОП) в лунках определяется на спектрофотометре при длине волны 450/620-695 nm. Интенсивность желтой окраски пропорциональна количеству антител в образце.

4. МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

4.1. Состав набора

STRIPS	1 x 96 лунок	Планшет ИФА В лунках планшета засорбированы антигены личинок <i>Toxocara canis</i> . Лунки можно отделять. После первого открытия храните неиспользованные стрипы в упаковке при температуре 2-8°C не более 6 месяцев
		Позитивный контроль Раствор конъюгированных специфических моноклональных антител с консервантом (розовый). Хранить при температуре 2-8°C
CONTROL +	1 x 0,25 ml	Негативный контроль Негативная сыворотка крови человека с консервантом (желтый). Хранить при температуре 2-8°C
CONTROL -	1 x 0,6 ml	Раствор для разведения сывороток Буферный раствор с экстрактом молока, детергентом и консервантом (коричневый). Хранить при температуре 2-8°C
DIL SAMPLE	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 CONJ	1 x 13 ml	Раствор ТМБ (готов к использованию) Раствор ТМБ, H ₂ O ₂ , стабилизатор, консервант (бесцветный). Хранить при температуре 2-8°C
SOLN TMB	1 x 13 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
TWEEN WASH 20x	1 x 50 ml	Стоп-раствор (готов к использованию) Раствор 0,5 mol H ₂ SO ₄ (бесцветный). Хранить при температуре 2-8°C
SOLN STOP	1 x 13 ml	

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

4.2. Дополнительные реактивы, материалы и оборудование

Автоматические пипетки переменного объема на 10–1000 µl и наконечники к ним, мерная лабораторная посуда (10–1000 ml), деионизированная или дистиллированная вода, термошейкер на 37°C или термостат на 42°C, автоматический или полуавтоматический промыватель планшетов

(вошер), спектрофотометр (ридер) для микропланшетов на 450/620-695 nm, соответствующие контейнеры для отходов потенциально зараженного материала, таймер, фильтровальная бумага, одноразовые неопудренные перчатки, дезинфицирующие средства.

5. ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ И ТЕХНИКА БЕЗОПАСНОСТИ

5.1. Предостережение

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

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

5.2. Техника безопасности

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

5.3. Инактивация и утилизация отходов

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

6. ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВКА

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

7. РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ОТБОРУ, ТРАНСПОРТИРОВКЕ И ХРАНЕНИЮ ОБРАЗЦОВ

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

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

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

8. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

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

8.1. Подготовка планшета ИФА

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

8.2. Приготовление промывочного раствора

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

9. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

- 9.1. Подготовьте необходимое количество лунок для анализа (четыре лунки для контролей и необходимое количество для исследуемых образцов), вставьте их в рамку планшета ИФА. Лунки с контролями обязательно включайте в каждую постановку анализа.
- 9.2. Заполните схему внесения образцов.
- 9.3. Приготовьте раствор для промывания в соответствии с пунктом 8.2.
- 9.4. Внесите во все лунки планшета по 90 µl [DIL|SAMPLE].
- 9.5. Внесите в лунки по 10 µl контролей и исследуемых образцов:
[CONTROL|+] – в лунку A1,
[CONTROL|-] – в лунки B1, C1, D1,
в остальные лунки – исследуемые образцы.
При внесении происходит изменение цвета раствора с коричневого на синий. Осторожно пипетируйте смесь в лунках, не допуская пенообразования.
- 9.6. Заклейте стрипы клейкой пленкой и инкубируйте в течение 30 минут при температуре 37°C.
- 9.7. По окончании инкубации аккуратно снимите клейкую пленку и промойте лунки пять раз с использованием автоматического промывателя или 8-канальной пипетки следующим образом:
– удалите содержимое лунок в контейнер для жидких отходов;
– наполните лунки стрипов не менее чем по 300 µl раствором для промывания, оставьте не менее, чем на 30 секунд;
– аспирируйте раствор из лунок. Остаточный объем раствора после каждого этапа аспирации должен составлять не больше 5 µl;
– повторите процедуру промывания еще пять раз;
– после последней аспирации избавьтесь от лишней влаги, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге.
- 9.8. Внесите в лунки по 100 µl [SOLN|CONJ]. Стрипы накройте новой клейкой пленкой и инкубируйте в течение 30 минут при 37°C.
- 9.9. По окончании инкубации аккуратно снимите клейкую пленку и промойте лунки пять раз, как описано в пункте 9.7.
- 9.10. Внесите в лунки по 100 µl [SOLN|TMB], не касаясь дна и стенок лунок планшета.
- 9.11. Инкубируйте стрипы в течение 30 минут в темном месте при комнатной температуре 18-25°C. Не используйте клейкую пленку на данном этапе.
- 9.12. Внесите в лунки стрипов по 100 µl [SOLN|STOP] для остановки ферментативной реакции, придерживаясь той же последовательности, что и при внесении [SOLN|TMB]. Во время внесения происходит изменение цвета раствора с голубого на желтый, в лунках с прозрачным раствором незначительно меняется оттенок.

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

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

10. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ И ИХ ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

10.1. Учет результатов анализа

Рассчитать среднее значение ОП негативного контроля (\bar{Nc}), уровень граничного значения (Cut off - CO) и индекс позитивности образца (IP_{sample}).

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

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

10.2. Контроль достоверности результатов анализа

Данные теста считаются достоверными, если они отвечают следующим требованиям:

$$[CONTROL|+] \quad ОП \geq 1,0$$

$$[CONTROL|-] \quad ОП \leq 0,150$$

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

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

10.3. Интерпретация результатов

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

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

11. ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

11.1. Аналитические характеристики

Прецизионность

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

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

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

Воспроизводимость результатов между разными постановками анализа (Inter assay reproducibility)

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

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

Аналитическая специфичность

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

11.2. Диагностические характеристики

Для оценки диагностических характеристик ИФА-наборов «EQUI *Toxocara canis* IgG» использовали 78 образцов сывороток, полученных от пациентов с клиническими симптомами, характерными для токсокароза, и 60 образцов сывороток пациентов без клинических проявлений (сероотрицательных относительно *Toxocara canis*). Клиническая чувствительность ИФА-наборов «EQUI *Toxocara canis* IgG» составила 98,7%, клиническая специфичность – 96,7%.

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

12. ОГРАНИЧЕНИЕ АНАЛИЗА

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

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

Негативный результат в ИФА-наборе «EQUI *Toxocara canis* IgG» свидетельствует об отсутствии в исследуемом образце антител, специфичных к *Toxocara canis*, или концентрация специфических антител ниже предела чувствительности анализа.

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

13. ТРУДНОСТИ, КОТОРЫЕ МОГУТ ВОЗНИКНУТЬ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ИФА

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

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

14. ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОМОЩЬ И ОБСЛУЖИВАНИЕ КЛИЕНТОВ

В случае возникновения технических проблем необходимо обратиться к производителю.

ЛИТЕРАТУРА

1. Cobzaru R. G., Rîpă C. et al. Correlation between asthma and *Toxocara canis* infection // *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi*. - 2012. - Vol. 116(3). - P. 727–730.
2. Despommier D. Toxocariasis: Clinical Aspects, Epidemiology, Medical Ecology, and Molecular Aspects // *Clinical Microbiology Reviews*. - 2003. - Vol. 16, No. 2. - P. 265–272.
3. Havasiová-Reiterová K., Tomašovicová O. and Dubinský P. Effect of various doses of infective *Toxocara canis* and *Toxocara cati* eggs on the humoral response and distribution of larvae in mice // *Parasitology Research*. - 1995. - Vol. 81. - P. 13–17.
4. Iddawela D., Ehambaram K., and Bandara P. Prevalence of *Toxocara* antibodies among patients clinically suspected to have ocular toxocariasis: A retrospective descriptive study in Sri Lanka // *BMC Ophthalmology*. - 2017. - Vol. 17. - 6 p.
5. Maizels R. M. *Toxocara canis*: Molecular basis of immune recognition and evasion // *Veterinary Parasitology*. - 2013. - Vol. 193 (4). - P. 365–374.
6. Magnaval J.-F., Glickman L. T. et al. Highlights of human toxocariasis // *Korean Journal of Parasitology*. - 2001. - Vol. 39 (1). - P. 1–11.
7. McGuinness S. L., Leder K. Global Burden of Toxocariasis: A Common Neglected Infection of Poverty // *Current Tropical Medicine Reports*. - 2014. - Vol. 1 (1). - P. 52–61.
8. Núñez C. R., Mendoza Martínez G. D. et al. Prevalence and Risk Factors Associated with *Toxocara canis* Infection in Children // *The Scientific World Journal*. - Volume 2013. - Article ID 572089. - 4 p.
9. Okulewicz A., Perec-Matysiak A. et al. *Toxocara canis*, *Toxocara cati* and *Toxascaris leonina* in wild and domestic carnivores // *Helminthologia*. - 2012. - Vol. 49. - P. 3–10.
10. Regulation (EU) 2017/746 of the European Parliament and of the Council of 5 April 2017 on in vitro diagnostic medical devices and repealing Directive 98/79/EC and Commission Decision 2010/227/EU.
11. Закон України «Про відходи» // *Відомості Верховної Ради України*. - 1998. - №36-37.
12. Наказ МОЗ України №325 від 08.06.2015 «Про затвердження Державних санітарно-протиепідемічних правил і норм щодо поводження з медичними відходами».
13. Постанова КМУ від 02 жовтня 2013р. №754 «Про затвердження технічного регламенту щодо медичних виробів для діагностики in vitro».
14. Hanna Tolonen, Kari Kuulasmaa, Tiina Laatikainen, Hermann Wolf and the European Health Risk Monitoring Project. Recommendation for indicators, international collaboration, protocol and manual of operations for chronic disease risk factor surveys Part 4.Storage and transfer of serum/plasma samples// Finnish National Public Health Institute 2002// https://thl.fi/publications/ehrm/product2/part_iii4.htm
15. Surveillance Guidelines for Measles, Rubella and Congenital Rubella Syndrome in the WHO European Region. Annex 3.Collection, storage and shipment of specimens for laboratory diagnosis and interpretation of results//Geneva: World Health Organization; 2012 Dec.



Производитель



Уполномоченный представитель на территории ЕС



Медицинское изделие для диагностики *in vitro*



Номер по каталогу



Дата изготовления



Использовать до



Код партии



Температурное ограничение



Содержит достаточно для (n-) испытаний



Предостережение, ознакомиться с сопроводительными документами



Нестерильно



Ознакомление с инструкцией по применению



Беречь от прямых солнечных лучей



Хранить в сухом месте



Знак соответствия техническим регламентам



Знак соответствия требованиям безопасности ЕС

Редакция 8 от 04.04.2022г.

С вопросами и пожеланиями по работе набора обращайтесь к производителю:



ООО «Эквипестлаб»

ул. Большая Васильковская 114, г. Киев, Украина, 03150
проспект Победы 60/2, г. Киев, Украина, 03057 (адрес производства)
тел.: 0(800)31-89-87, +38 (044)334-89-87,
e-mail: info@equitest.com.ua, www.equitest.com.ua



Obelis s.a.

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

СХЕМА ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА

Выдержать реагенты 30 min при температуре 18-25°C

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

Внести по 10 µl контролей и исследуемых образцов в лунки:
A1 – [CONTROL|+], B1, C1, D1 – [CONTROL|-],
E1 и в остальные лунки - исследуемые образцы
(происходит изменение цвета с коричневого на синий)

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

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

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

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

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

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

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

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

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

УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

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

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

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

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

CO - Уровень граничного значения (Cut off)

IP_{sample} - Индекс позитивности образца

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

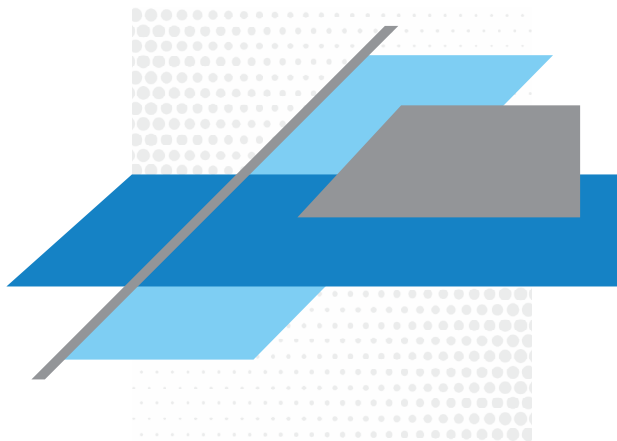
$IP_{sample} > 1,1$	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ
$0,9 \leq IP_{sample} \leq 1,1$	НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ
$IP_{sample} < 0,9$	ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ



Toxoplasma gondii IgG

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

Инструкция по применению



IVD

REF
EI-041

Σ 96
анализов


UA.TR.130

EQUI *Toxoplasma gondii* IgG

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

1. НАЗНАЧЕНИЕ

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

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

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

2. КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

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

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

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

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

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

3. ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Определение антител класса IgG к *T. gondii* в ИФА-наборе «EQUI Toxoplasma gondii IgG» базируется на принципе «непрямого» твердофазного ИФА в двухэтапной инкубации. В лунках планшета засорбированы очищенные антигены *T. gondii*. Во время первого этапа инкубации исследуемых образцов в лунках ИФА-планшета специфичны к *T. gondii* антитела, если они присутствуют в образцах, связываются с антигенами на твердой фазе. Лунки отмываются для удаления несвязанных антител, остаются только специфические комплексы антиген-антитело. После этого добавляется конъюгат антивидовых анти-IgG моноклональных антител с пероксидазой хрена, который связывается с иммунными комплексами на твердой фазе. Несвязанные компоненты удаляются при отмывании. Комплексы антиген-антитело обнаруживаются путем добавления раствора хромогена 3,3',5,5'-тетраметилбензидина (ТМБ) с перекисью водорода. После 30-минутной инкубации реакция останавливается добавлением стоп-раствора. Оптическая плотность (ОП) в лунках определяется на спектрофотометре при длине волны 450/620-695 nm. Интенсивность желтой окраски пропорциональна количеству антител в образце.

4. МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

4.1. Состав набора

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

CAL 10	1 x 0,25 ml	Калибратор 10 Раствор иммуноглобулинов, специфичных к <i>T. gondii</i> , 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 <i>T. gondii</i> , 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 <i>T. gondii</i> , 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 <i>T. gondii</i> , 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 ₂ O ₂ , стабилизатор, консервант (бесцветный). Хранить при температуре 2-8°C
TWEEN WASH 20x	1 x 50 ml	Раствор для промывки TWEEN (20x концентрат) 20-кратный концентрат фосфатного буфера с Твином-20 (бесцветный). Развести раствор для промывки TWEEN (20x) 1:20 дистиллированной или деионизированной водой (например, 5 мл концентрата + 95 мл воды для 8 лунок) перед использованием. Разбавленный раствор хранить при температуре 2-8°C не более 7 суток
SOLN STOP	1 x 13 ml	Стоп-раствор (готов к использованию) Раствор 0,5 mol H ₂ SO ₄ (бесцветный). Хранить при температуре 2-8°C

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

4.2. Дополнительные реактивы, материалы и оборудование

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

5. ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ И ТЕХНИКА БЕЗОПАСНОСТИ

5.1. Предостережение

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

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

- дополнительное оборудование, находящееся в непосредственном контакте с биологическим материалом или компонентами набора, считается загрязненным и нуждается в очищении и обеззараживании;
- ИФА-набор предназначен для 96 анализов. Компоненты после использования и остатки неиспользованных компонентов должны быть утилизированы.

5.2. Техника безопасности

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

5.3. Инактивация и утилизация отходов

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

6. ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВКА

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

7. РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ОТБОРУ, ТРАНСПОРТИРОВКЕ И ХРАНЕНИЮ ОБРАЗЦОВ

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

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

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

8. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

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

8.1. Подготовка планшета ИФА

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

8.2. Приготовление промывочного раствора

Для приготовления промывочного раствора разведите **TWEEN|WASH|20x** 1:20 (1+19) дистиллированной или деионизированной водой, потом перемешайте. Например, 5 ml концентрата + 95 ml воды, чего достаточно для

8 лунок. При наличии кристаллов в концентрате раствора для промывания прогрейте флакон при температуре 37°C до полного растворения кристаллов (15–20 минут). Разведенный раствор можно хранить при температуре 2-8°C не более 7 суток.

8.3. Предварительное разведение образцов и калибраторов

Тестируемые образцы и калибраторы предварительно разведите в 10 раз [PREDIL|SAMPLE]. Для этого в необходимое количество лунок (комплектуются в наборе) внесите по 90 µl [PREDIL|SAMPLE] и добавьте по 10 µl образцов и калибраторов. При внесении образцов и калибраторов осторожно пипетируйте смесь, при этом цвет раствора в лунках должен измениться с коричневого на синий. Процедуру разведения образцов и контролей следует проводить непосредственно перед анализом.

Образцы пациентов с ожидаемой концентрацией специфических антител выше [CAL|200] (200 IU/ml (МЕ/мл)) рекомендуем исследовать в двух разведениях 1:100 и 1:1000. Чтобы исследовать образец в разведении 1:1000, приготовьте предварительное разведение образца 1:100, для этого добавьте 10 µl образца к 990 µl [PREDIL|SAMPLE].

Однако встречаются образцы с высоким содержанием специфических к *T. gondii* IgG (выше 1000 IU/ml (МЕ/мл)). Для таких образцов ОП, полученная при исследовании в разведении 1:1000, будет больше оптической плотности [CAL|200]. Поэтому для корректного определения концентрации специфических антител в таких образцах следует исследовать их в конечном разведении 1:3000, а для этого приготовить предварительное разведение этих образцов 1:300. К примеру: 2990 µl [PREDIL|SAMPLE] + 10 µl исследуемого образца.

9. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

9.1. Подготовьте необходимое количество лунок для анализа (пять лунок для калибраторов и необходимое количество для исследуемых образцов), вставьте их в рамку планшета ИФА. Лунки с калибраторами обязательно включайте в каждую постановку анализа.

9.2. Заполните схему внесения образцов.

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

9.4. Приготовьте предварительное разведение образцов и калибраторов, как описано в пункте 8.3.

9.5. Внесите во все лунки планшета по 90 µl [DIL|SAMPLE].

9.6. Внесите в лунки по 10 µl предварительно разведенных 1:10 калибраторов и исследуемых образцов:

[CAL|0] – в лунку A1, [CAL|10] – в лунку B1, [CAL|50] – в лунку C1, [CAL|100] – в лунку D1, [CAL|200] – в лунку E1, в остальные лунки – исследуемые образцы. Таким образом, конечное разведение образцов в лунках должно составлять 1:100. При внесении происходит изменение цвета раствора с желтого на зеленый. Осторожно пипетируйте смесь в лунках, не допуская пенообразования.

- 9.7. Заклейте стрипы клейкой пленкой и инкубируйте в течение 30 минут при температуре 37°C.
- 9.8. По окончании инкубации аккуратно снимите клейкую пленку и промойте лунки пять раз с использованием автоматического промывателя или 8-канальной пипетки следующим образом:
- удалите содержимое лунок в контейнер для жидких отходов;
 - наполните лунки стрипов не менее чем по 300 µl раствором для промывания, оставьте не менее, чем на 30 секунд;
 - аспирируйте раствор из лунок. Остаточный объем раствора после каждого этапа аспирации должен составлять не больше 5 µl;
 - повторите процедуру промывания еще пять раз;
 - после последней аспирации избавьтесь от лишней влаги, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге.
- 9.9. Внесите в лунки по 100 µl [SOLN|CONJ]. Стрипы накройте новой клейкой пленкой и инкубируйте в течение 30 минут при 37°C.
- 9.10. По окончании инкубации аккуратно снимите клейкую пленку и промойте лунки пять раз, как описано в пункте 9.8.
- 9.11. Внесите в лунки по 100 µl [SOLN|TMB], не касаясь дна и стенок лунок планшета.
- 9.12. Инкубируйте стрипы в течение 30 минут в темном месте при комнатной температуре 18-25°C. Не используйте клейкую пленку на данном этапе.
- 9.13. Внесите в лунки стрипов по 100 µl [SOLN|STOP] для остановки ферментативной реакции, придерживаясь той же последовательности, что и при внесении [SOLN|TMB]. Во время внесения происходит изменение цвета раствора с голубого на желтый, в лунках с прозрачным раствором незначительно меняется оттенок.
- 9.14. Измерьте на ридере ОП в каждой лунке при длине волны 450/620-695 nm в течение 5 минут после остановки реакции. До проведения измерения убедитесь в чистоте внешней поверхности дна лунок и отсутствии пузырьков.

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

10. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ И ИХ ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

10.1. Контроль достоверности результатов анализа

Данные теста считаются достоверными, если они отвечают следующим требованиям:

[CAL 0]	ОП < 0,120
[CAL 10]	ОП ≥ 0,150
[CAL 50]	ОП ≥ ОП [CAL 10] x 3

CAL 100

ОП ≥ ОПГ CAL 50 x 1,2

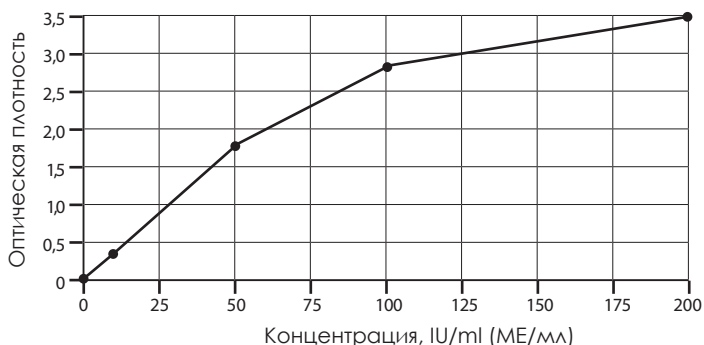
CAL 200

ОП ≥ 2,0

10.2. Учет результатов анализа

Для получения количественных результатов определения концентрации антител класса IgG в IU/ml (МЕ/мл) постройте калибровочную кривую: на оси ОУ отложите полученные значения ОП пяти калибраторов CAL 0, CAL 10, CAL 50, CAL 100 и CAL 200, а на оси ОХ – соответствующие им концентрации – 0, 10, 50, 100, 200 IU/ml (МЕ/мл) соответственно. С помощью калибровочного графика определите концентрацию IU/ml (МЕ/мл) специфических IgG в исследуемых образцах, соответствующую значению полученной ОП.

Пример калибровочного графика приведен на рисунок



Примечание: Не используйте этот график для определения концентрации специфических антител в анализе. Для каждой постановки анализа необходимо строить отдельную калибровочную кривую!

Для образцов, исследовавшихся в разведении 1:1000 и 1:3000, определенную по графику концентрацию специфических антител следует перемножить на степень разбавления, т.е.

конечная концентрация = концентрация по графику × 10 (или × 30)

Для удобства учета результатов реакции можно использовать компьютерные программы считывания и исчисления результатов исследований.

10.3. Интерпретация результатов

Концентрация IgG в образце

Интерпретация

> 10 IU/ml (МЕ/мл)

ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ

8-10 IU/ml (МЕ/мл)

НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ*

< 8 IU/ml (МЕ/мл)

ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ

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

10.4. Метрологическая прослеживаемость калибраторов

Концентрации калибраторов ИФА-набора «EQUI Toxoplasma gondii IgG» соответствуют Третьему Международному Стандарту Anti-Toxoplasma serum, Human TOXM (NIBSC, WHO) в диапазоне 10–200 IU/ml (МЕ/мл) (slope = 1,015; $R^2 = 0,978$). Это свидетельствует о метрологической прослеживаемости калибраторов ИФА-набора «EQUI Toxoplasma gondii IgG» в международно согласованном калибровочном материале (Стандарт TOXM).

11. ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

11.1. Аналитические характеристики

Прецизионность

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

Коэффициент вариации (CV) для двух сывороток с разным уровнем специфических антител оценивали в 32 повторях на одной серии ИФА-наборов.

№ сыворотки	ОП _{ср}	Концентрация IgG, IU/ml (МЕ/мл)	CV, %
291	1,002	32,7	5,9
292	1,453	48,7	12,9

Воспроизводимость результатов между разными постановками анализа (Inter assay reproducibility)

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

№ сыворотки	ОП _{ср}	Концентрация IgG, IU/ml (МЕ/мл)	CV, %
291	1,100	30,6	13,1
292	1,317	36,8	11,7

Аналитическая чувствительность

«Граница обнаружения» (LoD) – наименьшая концентрация анализируемого вещества в образце, выявляемом с заявленной вероятностью, для ИФА-набора «EQUI Toxoplasma gondii IgG» составляет 5,0 IU/ml (МЕ/мл).

«Граница количественного определения» (LoQ) – наименьшая концентрация аналита в образце, определяемая количественно с заявленной приемлемой точностью и правильностью, для ИФА-набора «EQUI Toxoplasma gondii IgG» составляет 5 IU/ml (МЕ/мл).

«Граница отрицательного значения» (LoB) составляет 0,4 IU/ml (МЕ/мл).

Диапазон линейности

Диапазон линейности ИФА-набора «EQUI Toxoplasma gondii IgG» находится в пределах 10–160 IU/ml (МЕ/мл). При исследовании образцов сывороток с высокой концентрацией IgG антител к *T. gondii* (более 200 IU/ml (МЕ/мл)) hook-эффект не обнаружен до концентрации 6000 IU/ml (МЕ/мл).

Аналитическая специфичность

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

В результате проведенных исследований не выявлено перекрестных реакций с антителами класса IgG к вирусам краснухи, Эпштейна-Барр, простому герпесу 1 и 2 типа и цитомегаловируса. Также не выявлено влияния на результат анализа ревматоидного фактора в образцах до концентрации 1390 IU/мл (МЕ/мл). Результат анализа, полученный для каждого образца, сравнивали с результатом, полученным в коммерческой тест-системе, имеющей СЕ-маркировку, и рассчитывали относительную специфичность ИФА-наборов «EQUI Toxoplasma gondii IgG».

11.2. Диагностические характеристики

Для определения чувствительности и специфичности ИФА-набора использовали 31 образец сывороток, полученных от пациентов с клиническими симптомами, которые могут наблюдаться при токсоплазмозе и 97 сывороток клинически здоровых пациентов. Чувствительность и специфичность ИФА-набора «EQUI Toxoplasma gondii IgG» составляли 100%.

Также характеристики метода исследовали на целевой группе беременных женщин (190 образцов) и выборке доноров (287 образцов) по сравнению с аналогичными коммерческими наборами, имеющими СЕ-маркировку. Для выборки беременных женщин относительная чувствительность и специфичность составила 98,9%, процент совпадения – 98,9%. Для выборки доноров относительная чувствительность составила 99,4%, относительная специфичность – 99,0%, процент совпадения – 99,3%. Общая распространенность в популяции составила 57,98%, что полностью соответствует литературным данным.

Позитивная прогностическая ценность (PPV) ИФА-набора «EQUI Toxoplasma gondii IgG» составляет 100%, отрицательная прогностическая ценность (NPV) – 100%.

12. ОГРАНИЧЕНИЕ АНАЛИЗА

Положительный результат в ИФА-наборе «EQUI Toxoplasma gondii IgG» является свидетельством наличия у пациента антител класса IgG, специфичных к *T. gondii*, которые продуцируются организмом при инфицировании возбудителем токсоплазмоза. Наличие антител этого класса у новорожденных не является подтверждением их инфицирования *T. gondii*. Однократное обнаружение даже высоких титров антител класса IgG нельзя считать доказательством недавнего инфицирования.

Негативный результат в наборе EQUI Toxoplasma gondii IgG показывает, что тестируемый образец не содержит специфических антител или их концентрация ниже уровня чувствительности анализа. Например,

если образец получен через небольшой промежуток времени после инфицирования, то антитела класса IgG могут не обнаруживаться. При наличии клинических симптомов необходимо провести повторное тестирование пациента через 2-4 нед.

Для корректной диагностики активной инфекции следует провести исследование наличия IgG антител в парных образцах, полученных с интервалом забора крови не менее двух недель, а также провести тестирование на наличие специфических антител класса IgM, например, в ИФА-наборе «EQUI *Toxoplasma gondii* IgM». Для дифференциации первичной и паст-инфекции рекомендуется дополнительно провести определение индекса avidности специфических IgG антител (например, в ИФА-наборе «EQUI *Toxoplasma gondii* IgG avidity»).

Окончательный диагноз не может быть установлен только исходя из результатов серологического теста. При установлении диагноза следует учитывать результаты комплекса лабораторных и инструментальных исследований, а также клинические проявления заболевания.

13. ТРУДНОСТИ, КОТОРЫЕ МОГУТ ВОЗНИКНУТЬ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ИФА

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

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

Высокий фон в отдельных рядах может быть связан с:

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

Полученное значение ОП положительного контроля ниже установленной границы, если:

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

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Hartmann K., Addie D. et al. *Toxoplasma gondii* infection in cats: ABCD guidelines on prevention and management // *Journal of Feline Medicine and Surgery*. - 2013. - Vol. 15(1). - P.631-637.
2. Hughes J.M., Colley D.G. Preventing congenital toxoplasmosis. // *CDC Recommendations and Reports*. - 2000. - 49 (RR02). – P. 57-75.
3. Flegr J., Prandota J., Sovičková M., Israili Z. H. Toxoplasmosis - a global threat. Correlation of latent toxoplasmosis with specific disease burden in a set of 88 countries // *Public Library of Science ONE*. – 2014. – Vol.9, No.3. – P. e90203.
4. Paquet C., Judin M.H. Toxoplasmosis in Pregnancy: Prevention, Screening, and Treatment // *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada*. - 2013. - Vol. 285(1). - P.78-81.
5. Robert-Gangneux, F.; Dardé, M.L. Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. *Clinical Microbiological Reviews*. – 2012. – Vol.25. – P.264–296.
6. Montoya, J.G.; Liesenfeld, O. Toxoplasmosis // *Lancet*. – 2004. – Vol.363. – P. 1965–1976.
7. Montoya J.G., Remington J.S. Management of *Toxoplasma gondii* infection during pregnancy.// *Clin Infect Dis*. – 2008. - 47. - P.554–566.
8. Tenter A.M., Heckeroth A.R., Weiss L.M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans // *International Journal for Parasitology*. - 2000. - Vol. 30(12-13). - P.1217-1258.
9. Torgerson P. R., Mastroiacovo P. The global burden of congenital toxoplasmosis: a systematic review.// *Bulletin of the World Health Organization*. – 2013. – 91. - P. 501-508.
10. Regulation (EU) 2017/746 of the European Parliament and of the Council of 5 April 2017 on in vitro diagnostic medical devices and repealing Directive 98/79/EC and Commission Decision 2010/227/EU.
11. Закон Украины «Об отходах» // *Российская юстиция*. – 1998. – №36-37.
12. Приказ Минздрава Украины №325 от 08.06.2015 «Об утверждении Государственных санитарно-противоэпидемических правил и норм по обращению с медицинскими отходами».
13. Постановление КМУ от 02 октября 2013г. №754 «Об утверждении технического регламента по медицинским изделиям для диагностики in vitro».
14. ДСТУ EN ISO 17511:2015 - Изделия медицинские для диагностики in vitro Измерение величин в биологических пробах. Метрологическая прослеживаемость значений, приписанных калибраторам и контрольным материалам (EN ISO 17511:2003, IDT)
15. Hanna Tolonen, Kari Kuulasmaa, Tiina Laatikainen, Hermann Wolf and the European Health Risk Monitoring Project. Recommendation for indicators, international collaboration, protocol and manual of operations for chronic disease risk factor surveys Part 4.Storage and transfer of serum/plasma samples// Finnish National Public Health Institute 2002// https://thl.fi/publications/ehrm/product2/part_iii4.htm
16. Surveillance Guidelines for Measles, Rubella and Congenital Rubella Syndrome in the WHO European Region. Annex 3.Collection, storage and shipment of specimens for laboratory diagnosis and interpretation of results//Geneva: World Health Organization; 2012 Dec.



Производитель



Медицинское изделие для диагностики *in vitro*



Номер по каталогу



Дата изготовления



Использовать до



Код партии



Температурное ограничение



Содержит достаточно для (n-) испытаний



Предостережение, ознакомиться с сопроводительными документами



Ознакомление с инструкцией по применению



Беречь от прямых солнечных лучей



Знак соответствия техническим регламентам

Редакция 8 от 07.02.2023г.

С вопросами и пожеланиями по работе набора обращайтесь к производителю:



ООО «Эквитестлаб»

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

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

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

СХЕМА ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА

Выдержать реагенты 30 min при температуре 18-25°C

В лунки [PREDIL|PLATE] внести по 90 µl [PREDIL|SAMPLE] и по 10 µl исследуемых образцов и калибраторов
(происходит изменение цвета с коричневого на синий)

В лунки [STRIPS] внести по 90 µl [DIL|SAMPLE]
(желтый цвет)

Внести по 10 µl предварительно разбавленных калибраторов и исследуемых образцов:
A1 – [CAL|0], B1 – [CAL|10], C1 – [CAL|50], D1 – [CAL|100], E1 – [CAL|200],
в остальные лунки - исследуемые образцы
(происходит изменение цвета с желтого на зеленый)

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

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

В лунки стрипов внести по 100 µl [SOLN|CONJ]
(фиолетовый цвет)

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

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

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

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

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

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

УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

Построить калибровочную кривую, определить концентрацию IU/ml (МЕ/мл) специфических к *Toxoplasma gondii* антител класса IgG в исследуемых образцах

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

> 10 IU/ml (МЕ/мл)	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ
8-10 IU/ml (МЕ/мл)	НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ
< 8 IU/ml (МЕ/мл)	ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ