

ВЕКТОР



Набор реагентов  
для иммуноферментного выявления  
иммуноглобулинов классов А, М, G  
к антигенам лямблий  
в сыворотке (плазме) крови

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Утверждена 21.07.2011  
приказом Росздравнадзора № 4449-Пр/11

---

**Лямблия-антитела – ИФА – БЕСТ**

НАБОР РЕАГЕНТОВ  
**D-3552**



## 1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов Лямблия-антитела-ИФА-БЕСТ предназначен для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов классов А (IgA), М (IgM), G (IgG) к антигенам лямблий в сыворотке (плазме) крови.

1.2. Лямблиоз – часто встречающееся паразитарное заболевание тонкого кишечника человека, вызываемое *Ciardia lamblia* – представителем семейства *Protozoe*. Лямблии существуют в двух отдельных формах – цистах (статическая форма) и трофозитах (пролиферативная форма).

1.3. Заражение человека происходит оральным путем, при попадании цист лямблий в желудочно-кишечный тракт. Источник инвазии – некипяченая питьевая вода, вода водоемов, немытые фрукты и овощи, грязные руки и контакт с домашними животными.

Традиционно диагностика лямблиоза проводится микроскопическим методом по обнаружению цист или трофозитов в образцах фекалий или дуоденальном содержимом.

Дополнительным методом диагностики лямблиоза является иммуноферментный анализ (ИФА), основанный на обнаружении в крови инвазированного антител, специфичных к антигенам лямблий.

Определение иммуноглобулинов различных классов к антигенам лямблий целесообразно дополнительно включать в комплексное

обследование детей с аллергическими симптомами, дерматитами, с гастродуоденитами, а также часто болеющих детей. Это способствует более надежному выявлению лямблиозной инвазии, позволяет своевременно провести специфическое лечение и в последующем осуществить контроль его эффективности.

**1.4.** Набор рассчитан на проведение 96 анализов образцов сыворотки (плазмы) крови, включая контроли, или 12 независимых постановок ИФА по 8 определений, включая контроли.

## **2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА**

### **2.1. Принцип метода**

Метод определения суммарных антител к антигенам лямблий представляет собой твердофазный иммуноферментный анализ. Специфическими компонентами набора реагентов являются антигены лямблий, иммобилизованные в лунках планшетов, конъюгат моноклональных антител к IgA, IgM, IgG человека с пероксидазой хрена, положительный и отрицательный контрольные образцы.

На первой стадии анализа при взаимодействии исследуемых образцов сывороток крови в лунках стрипов с иммобилизованными антигенами лямблий происходит связывание специфических антител и образование комплекса «антиген-антитело» на поверхности лунок. После удаления несвязавшихся компонентов сыворотки и добавления в лунки планшета конъюгата

моноклональных антител к IgA, IgM, IgG человека с пероксидазой хрена происходит включение ферментной метки в иммунный комплекс. После второй отмывки количество связавшегося конъюгата определяют цветной реакцией с использованием субстрата пероксидазы – перекиси водорода и хромогена – тетраметилбензидина. Реакцию останавливают добавлением стоп-реагента и измеряют оптическую плотность растворов в лунках при длине волны 450 нм, референс-волна в диапазоне 620–655 нм; допускается измерение при длине волны 450 нм. Интенсивность окрашивания пропорциональна концентрации суммарных антител к антигенам лямблий в анализируемом образце сыворотки.

## 2.2. Состав набора

В состав набора входят:

- планшет разборный (12 восьмилуночных стрипов) с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок антигенами лямблий, готовый для использования – 1 шт.;
- положительный контрольный образец ( $K^+$ ) на основе инактивированной сыворотки крови человека, содержащий IgA, IgM, IgG к антигенам лямблий, готовый для использования – 1 флакон (1,5 мл);
- отрицательный контрольный образец ( $K^-$ ) на основе инактивированной сыворотки крови человека, не содержащий IgA, IgM, IgG к антигенам лямблий, готовый для использования – 1 флакон (2,5 мл);

- конъюгат моноклональных антител к IgA, IgM, IgG человека с пероксидазой хрена, концентрат – 1 флакон (1,5 мл);
- раствор для предварительного разведения сывороток (РПРС) – 1 флакон (10,0 мл);
- раствор для разведения сывороток (РРС) – 1 флакон (12,0 мл);
- 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 1 флакон (28,0 мл);
- субстратный буферный раствор (СБР) – 1 флакон (13,0 мл);
- тетраметилбензидин, концентрат (ТМБ) – 1 флакон (1,0 мл);
- стоп-реагент (0,5 М серная кислота), готовый для использования – 1 флакон (12,0 мл).

Набор дополнительно комплектуется:

- пленками для заклеивания планшета – 2 шт.;
- ванночками для реагента – 2 шт.;
- наконечниками для пипеток на 5–200 мкл – 16 шт.

По согласованию с потребителем дополнительно поставляется:

- планшет для предварительного разведения исследуемых образцов – 1 шт.

### **3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ**

**3.1.** Перекрестные реакции при описторхозе, токсокарозе, эхинококкозе, трихинеллезе, аскаридозе не выявлены.

### **3.2. Специфическая активность**

Чувствительность выявления иммуноглобулинов классов А, М, G к антигенам лямблий – соответствие результатов выявления набором IgA, IgM, IgG к антигенам лямблий требованиям стандартной панели предприятия (рег. № 05-2-134), аттестованной ОБТК АО «Вектор-Бест» – составляет 100%: средние арифметические значения оптической плотности для каждой пары лунок с положительными сыворотками больше либо равны величине диагностического значения оптической плотности.

Специфичность выявления иммуноглобулинов классов А, М, G к антигенам лямблий – соответствие результатов выявления набором IgA, IgM, IgG к антигенам лямблий требованиям стандартной панели предприятия (рег. № 05-2-134), аттестованной ОБТК АО «Вектор-Бест» – составляет 100%: средние арифметические значения оптической плотности для каждой пары лунок с отрицательными сыворотками меньше либо равны величине диагностического значения оптической плотности, умноженного на 0,85.

**3.3.** Титр стандартного образца предприятия СОП+ (рег. № 05-2-17), аттестованного ОБТК АО «Вектор-Бест», должен быть не менее 1:800.

## **4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ**

**4.1.** Потенциальный риск применения набора – класс 1 (ГОСТ Р 51609-2000).

**4.2.** Все компоненты набора являются нетоксичными. Стоп-реагент обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента на кожу и слизистые необходимо промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.

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

**4.4.** При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как в состав набора входят компоненты крови человека, которые следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусных инфекций.

**4.5.** Химическая посуда и оборудование, которые используются в работе с набором, должны быть соответствующим образом промаркированы и храниться отдельно.

**4.6.** Запрещается прием пищи, использование косметических средств и курение в помещениях, предназначенных для работы с наборами.

**4.7.** Для дезинфекции посуды и материалов, контактировавших с исследуемыми и контрольными образцами, рекомендуем использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС, спиртов, третичных аминов. Использование дезинфицирующих средств, содержащих активный кислород и хлор ( $H_2O_2$ , дioxлор, хлорамин), приводит к серьезному искажению результатов.

## **5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ**

- спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках стрипов при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–655 нм; допускается измерение при длине волны 450 нм;
- термостат, поддерживающий температуру  $37 \pm 1^\circ C$ ;
- холодильник бытовой;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 5 до 5000 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования;
- пипетки полуавтоматические многоканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать

- объемы жидкостей от 5 мкл до 200 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования;
- промывочное устройство для планшетов;
  - перчатки резиновые или пластиковые;
  - бумага фильтровальная лабораторная;
  - флаконы вместимостью 15 мл;
  - цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 1000 мл;
  - вода дистиллированная;
  - дезинфицирующий раствор.

## **6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ**

**6.1.** Для проведения анализа не следует использовать гемолизованную, мутную сыворотку крови, а также сыворотку, содержащую азид натрия.

**6.2.** Образцы сыворотки (плазмы) крови можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 5 суток или при температуре минус 20°C (и ниже) не более 3 мес. Допускается однократное замораживание-размораживание образцов сыворотки крови. После размораживания образцы тщательно перемешать.

**6.3.** Образцы сыворотки (плазмы) крови, содержащие осадок, необходимо очистить центрифугированием при 5000–10000 об/мин в течение 5 мин при температуре от 18 до 25°C.

## **7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ**

**7.1.** Перед работой извлечь набор из холодильника, вскрыть упаковку и выдержать все компоненты при температуре от 18 до 25°C в течение времени не менее 60 мин.

### **7.2. Подготовка планшета**

Вскрыть пакет с планшетом выше замка. Оставить на рамке необходимое для проведения анализа количество стрипов. Оставшиеся неиспользованными стрипы немедленно поместить вновь в пакет, удалить из него воздух и плотно закрыть замок.

*Неиспользованные стрипы можно хранить при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора.*

### **7.3. Приготовление рабочего буферного раствора**

Внести в мерный цилиндр необходимое количество ФСБ-Т×25 и добавить соответствующее количество дистиллированной воды. При выпадении осадка солей в концентрате необходимо прогреть его при температуре от 30 до 40°C до полного растворения осадка.

В таблице приведен расход реагентов в зависимости от количества используемых стрипов.

*Приготовленный рабочий буферный раствор можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 5 суток.*

#### **7.4. Подготовка положительного ( $K^+$ ) и отрицательного ( $K^-$ ) контрольных образцов**

Контрольные образцы готовы к использованию. Перед использованием встряхнуть.

*Контрольные образцы после первого вскрытия флаконов можно хранить при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора.*

#### **7.5. Предварительное разведение исследуемых образцов**

В лунки планшета для предварительного разведения образцов внести по 90 мкл раствора для предварительного разведения сывороток (РПРС) и добавить по 10 мкл цельного образца сыворотки (плазмы) крови, тщательно перемешать. При этом темно-красный цвет должен измениться на желтый. Если изменения цвета не произошло, ИФА данного образца может дать неправильный результат. При разведении плазмы цвет раствора в лунке меняется незначительно.

Предварительно разведенные исследуемые образцы можно хранить при температуре от 18 до 25°C не более 3 ч.

#### **7.6. Приготовление рабочего раствора конъюгата**

Готовится в отдельном чистом флаконе или в пластиковой ванночке для реагента из концен-

**Таблица расхода компонентов набора реагентов**

Кол-во одновременно используемых стрипов	Рабочий раствор конъюгата		Рабочий раствор тетраметилбензидаина		Рабочий буферный раствор	
	Конъюгат, концентрат, мл	РБР, мл	ТМБ, концентрат, мл	СБР, мл	ФСБ-Т, концентрат, мл	Дистил. вода, мл
1	0,1	1,0	0,05	1,0	2,0	до 50
2	0,2	2,0	0,10	2,0	4,0	до 100
3	0,3	3,0	0,15	3,0	6,0	до 150
4	0,4	4,0	0,20	4,0	8,0	до 200
5	0,5	5,0	0,25	5,0	10,0	до 250
6	0,6	6,0	0,30	6,0	12,0	до 300
7	0,7	7,0	0,35	7,0	14,0	до 350
8	0,8	8,0	0,40	8,0	16,0	до 400
9	0,9	9,0	0,45	9,0	18,0	до 450
10	1,0	10,0	0,50	10,0	20,0	до 500
11	1,1	11,0	0,55	11,0	22,0	до 550
12	1,2	12,0	0,60	12,0	24,0	до 600

трата конъюгата и рабочего буферного раствора не более, чем за 5–10 мин до окончания первой инкубации.

*Рабочий раствор конъюгата можно хранить при температуре от 18 до 25°C не более 3 ч.*

В таблице приведен расход реагентов в зависимости от количества используемых стрипов.

## 7.7. Приготовление рабочего раствора ТМБ

Готовится в отдельном чистом флаконе или в пластиковой ванночке для реагента из концентрата ТМБ и СБР не более, чем за 5-10 мин до окончания первой инкубации.

*Рабочий раствор ТМБ можно хранить при температуре от 18 до 25°C не более 3 ч.*

Необходимо исключить воздействие прямого света на раствор ТМБ.

В таблице приведен расход реагентов в зависимости от количества используемых стрипов.

**Внимание!** *Для работы с раствором ТМБ необходимо использовать только одноразовые наконечники. Посуду, предназначенную для раствора ТМБ, нельзя отмывать с применением синтетических моющих средств, поскольку даже их следы ведут к неконтролируемому окислению ТМБ в ходе реакции. После работы посуду ополоснуть водой, промыть 70% этиловым спиртом и тщательно отмыть дистиллированной водой.*

**7.8.** Стоп-реагент готов к использованию.

## ПРОВЕДЕНИЕ ИФА

### 7.9. Внесение контрольных образцов

В лунку А-1 внести 100 мкл положительно-го контрольного образца ( $K^+$ ). В лунки В-1 и С-1 внести по 100 мкл отрицательного контрольного образца ( $K^-$ ).

## 7.10. Внесение исследуемых образцов сыворотки (плазмы)

В остальные лунки внести по 90 мкл раствора для разведения сывороток и по 10 мкл предварительно разведенных исследуемых образцов (п. 7.5.), тщательно перемешать.

Для повышения достоверности результатов исследуемые образцы рекомендуется анализировать в дублях, используя для каждого образца по две лунки.

*Внесение образцов необходимо производить быстро, в течение времени не более 5–7 мин.*

### 7.10.1. Определение титра исследуемых образцов

При определении титра антител тестирование исследуемых образцов произвести в семи последовательных двукратных разведениях в интервале от 1:100 до 1:12800. В соответствующие лунки горизонтального ряда А внести по 180 мкл РРС и по 20 мкл предварительно разведенных исследуемых образцов (п. 7.5.), тщательно перемешать. В соответствующие лунки рядов В–Н внести по 100 мкл РРС. Каждый образец титровать, перенося по 100 мкл раствора из лунок предыдущего ряда в лунки последующего от А до Н, тщательно перемешивая пипетированием. После раститровки из каждой лунки последнего ряда Н удалить в дезинфицирующий раствор по 100 мкл раствора, оставляя в лунках по 100 мкл.

**7.11.** Планшет заклеить пленкой и инкубировать в течение 30 мин при температуре  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ .

**7.12.** По окончании инкубации снять липкую пленку и поместить ее в сосуд с дезинфицирующим раствором. С помощью промывочного устройства промыть лунки планшета 5 раз промывочным раствором (п. 7.3.), чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок каждого стрипа. В каждую лунку вносить не менее 400 мкл жидкости в процессе каждого цикла промывки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. *Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого цикла промывки.* По окончании промывки остатки влаги из лунок тщательно удалить, постукивая перевернутым планшетом по фильтровальной бумаге.

**7.13.** Внести во все лунки по 100 мкл рабочего раствора конъюгата.

*Для внесения рабочего раствора конъюгата использовать ванночку для реагента и одноразовые наконечники.*

Оставшийся после проведения ИФА рабочий раствор конъюгата из флакона или пластиковой ванночки удалить в сосуд с дезинфицирующим раствором.

**7.14.** Планшет заклеить пленкой и инкубировать в течение 30 мин при температуре  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ .

**7.15.** По окончании второй инкубации удалить содержимое лунок и промыть планшет, как указано в п. 7.12.

**7.16.** Внести во все лунки по 100 мкл рабочего раствора ТМБ (см п. 7.7.).

*Для внесения рабочего раствора ТМБ использовать ванночку для реагента и одноразовые наконечники.*

Планшет инкубировать в защищенном от света месте в течение 25 мин при температуре от 18 до 25°C.

Оставшийся после проведения ИФА рабочий раствор ТМБ удалить из стеклянного флакона или пластиковой ванночки в сосуд с дезинфицирующим раствором.

**7.17.** Внести во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор ТМБ, по 100 мкл стоп-реагента.

## **8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ**

**8.1.** Измерить величину оптической плотности растворов в лунках на спектрофотометре вертикального сканирования в двухволновом режиме: при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–655 нм; допускается измерение при длине волны 450 нм (выведение спектрофотометра на нулевой уровень («бланк»)) осуществлять по воздуху). Измерение проводить не позднее 5 мин после остановки реакции.

## **9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ**

**9.1.** Рассчитать средние арифметические значения оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом ( $ОП_{cp}K^-$ ).

**9.2.** Среднее значение ОП в лунках с  $K^-$  не должно превышать 0,30 ед. опт. пл.

Значение ОП в лунке с  $K^+$  должно быть не менее, чем 0,80 ед. опт. пл.

**9.3.** Только при соблюдении положений п. 9.2. можно учитывать результаты, полученные для анализируемых образцов сыворотки (плазмы) крови.

**9.4.** На основании полученных данных вычислить диагностическое значение оптической плотности (ОП<sub>д</sub>).

$$\text{ОП}_d = \text{ОП}_{\text{ср. } K^-} + 0,2$$

**9.5.** Результат анализа считается **положительным**, если  $\text{ОП}_{\text{обр.}} \geq \text{ОП}_d$ .

Результат анализа считается **отрицательным**, если  $\text{ОП}_{\text{обр.}} \leq 0,85 \times \text{ОП}_d$ .

где ОП<sub>обр.</sub> – оптическая плотность в лунке с анализируемым образцом сыворотки (плазмы) крови.

Результат анализа считается **сомнительным**, если  $0,85 \times \text{ОП}_d < \text{ОП}_{\text{обр.}} < \text{ОП}_d$ . Рекомендуется повторно провести иммуноферментный анализ данного образца.

**9.6.** За титр положительной сыворотки (плазмы) принимают ее наибольшее разведение, при котором оптическая плотность образца  $\text{ОП}_{\text{обр.}} \geq \text{ОП}_d$ .

## **10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА**

**10.1.** Транспортирование набора должно проводиться при температуре от 2 до 8°C. Допускается транспортирование при температуре до 25°C не более 10 сут. Замораживание компонентов набора не допускается.

**10.2.** Набор реагентов должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности (9 мес). Замораживание компонентов набора не допускается.

**10.3.** Дробное использование набора может быть реализовано в течение всего срока годности набора:

- неиспользованные стрипы после первого вскрытия пакета можно хранить в закрытом на замок пакете при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора;
- 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином, субстратный буферный раствор, раствор для разведения сывороток, раствор для предварительного разведения сывороток, концентрат конъюгата, концентрат тетраметилбензидина и стоп-реагент после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора;
- положительный и отрицательный контрольные образцы можно хранить при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора;

- рабочий буферный раствор можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 5 суток;
- рабочий раствор конъюгата можно хранить при температуре от 18 до 25°C не более 3 ч;
- рабочий раствор тетраметилбензидина можно хранить при температуре от 18 до 25°C не более 3 ч.

**10.4.** Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

**10.5.** При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (ФСБ-Т×25, СБР, РПРС, стоп-реагент), которые взаимозаменяемы во всех наборах АО «Вектор-Бест».

*Нельзя использовать реагенты из наборов других фирм-производителей.*

**По вопросам, касающимся качества набора «Лямблия-антитела-ИФА-БЕСТ»,**  
обращаться в АО «Вектор-Бест» по адресу:  
630559, Новосибирская обл.,  
Новосибирский район, п. Кольцово, а/я 121,  
тел. (383) 363-13-46,  
E-mail: vbobtk@vector-best.ru

## **ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ**

Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом.

Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

Все реагенты наборов, содержащиеся в своем составе материалы человеческого происхождения, инактивированы.

Антитела к ВИЧ-1,2 и вирусу гепатита С и HBsAg отсутствуют.

Не применять набор реагентов по назначению после окончания срока годности.

Транспортирование должно проводиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида.

При динамическом наблюдении пациента для получения результатов, адекватно отражающих изменение концентрации иммуноглобулинов классов А, М и G в крови, необходимо использовать наборы реагентов одного наименования (одного предприятия-изготовителя).

### **1. Гарантийные обязательства**

Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

## **2. Обеспечение безопасности персонала**

Обращение с материалами, контактирующими с исследуемыми образцами

Материалы, контактирующие с исследуемыми образцами, следует дезинфицировать в соответствии п. 4.7 настоящей инструкции и согласно МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения» (утв. департаментом госсанэпиднадзора Минздрава РФ от 30.12.1998).

Порядок утилизации или уничтожения компонентов набора

При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии

с СанПиНом 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами». Дезинфекцию наборов реагентов следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

### **3. Обеспечение получения правильных результатов анализа**

**Достоверность и воспроизводимость результатов анализа зависят от выполнения следующих основных правил:**

– не проводите ИФА в присутствии паров кислот, щелочей, альдегидов или пыли, которые могут менять ферментативную активность конъюгатов;

– ферментативная реакция чувствительна к присутствию ионов металлов, поэтому не допускайте контактов каких-либо металлических предметов с конъюгатом и раствором субстрата;

– избегайте загрязнения компонентов набора микроорганизмами и химическими примесями, для этого используйте в работе чистую посуду и чистые одноразовые наконечники для каждого реагента, контроля, образца;

– рабочие поверхности столов, оборудования следует обрабатывать 70% этиловым спиртом (не допускается использование перекиси водорода, хлорсодержащих растворов);

- никогда не используйте одну и ту же емкость для конъюгата и рабочего раствора ТМБ;
- перед отбором ТМБ из флакона необходимо обрабатывать конус пипетки (внутреннюю и внешнюю поверхности) 70% этиловым спиртом, так как малейшее загрязнение пипеток конъюгатом может привести к контаминации всего содержимого флаконов с СБР и ТМБ;
- если допущена ошибка при внесении анализируемых образцов, нельзя, опорожнив эту лунку, вносить в нее новый образец; такая лунка бракуется.

**Качество промывки лунок планшета играет важную роль для получения правильных результатов анализа:**

- Для аспирации анализируемых образцов и последующей промывки рекомендуется использовать автоматическое или ручное промывочное устройство.
- Не допускайте высыхания лунок планшета в перерыве между завершением промывки и внесением реагентов.
- Добивайтесь полного заполнения и опорожнения всех лунок планшета в процессе промывки. Недостаточная аспирация жидкости в процессе промывки может привести к понижению чувствительности и специфичности анализа.
- Следите за состоянием промывочного устройства – регулярно (1 раз в неделю) обрабатывайте шланги и емкости 70% этиловым спиртом.

– Для предотвращения засорения игл промывочного устройства в конце рабочего дня обязательно выполните процедуру ополаскивания системы подачи жидкости дистиллированной водой.

#### 4. Количественная оценка результатов анализа

Результаты анализа можно оценить по коэффициенту позитивности (КП), рассчитывая отношение ОП в лунке с образцом пациента относительно ОП<sub>д</sub>. (п. 9.4.).

Для расчета коэффициента позитивности образцов, имеющих ОП<sub>450</sub> ≤ 3,5 о.е., использовать формулу:

$$\text{КП}_{\text{обр.}} = \frac{\text{ОП}_{450 \text{ обр.}}}{\text{ОП}_{\text{д}}},$$

где ОП<sub>450 обр.</sub> – ОП образца, полученная в двухволновом режиме 450 / 620–655 нм (или только с фильтром 450 нм).

Для расчета коэффициента позитивности образцов, имеющих ОП<sub>450</sub> > 3,5 о.е., использовать формулу:

$$\text{КП}_{\text{обр.}} = 3,2 \times \frac{\text{ОП}_{450 \text{ обр.}}}{\text{ОП}_{\text{д}}},$$

где ОП<sub>405 обр.</sub> – ОП образца, полученная в двухволновом режиме 405 / 620–655 нм (или только с фильтром 405 нм).

Результат анализа **положительный**, если  $KП_{обр.} \geq 1$ , где  $KП_{обр.}$  – коэффициент позитивности исследуемого образца.

Результат анализа **отрицательный**, если  $KП_{обр.} \leq 0,85$ .

Результат анализа **сомнительный**, если соответствующее ему значение  $KП_{обр.}$  попадает в интервал от 0,85 до 1,0.

Расчет КП целесообразно проводить для оценки концентрации специфических антител в исследуемых образцах и при наблюдении за изменением концентрации суммарных антител к антигенам лямблий в динамике в парных образцах сывороток.

## 5. Диагностическая значимость полученных результатов

Лямблии обитают в проксимальном отделе тонкой кишки, поэтому для лямблиоза характерно развитие местных иммунологических реакций. Однако и в сыворотках крови инвазированных лямблиями людей выявляются антитела к антигенам лямблий, относящиеся к различным классам иммуноглобулинов. Показано, что попадание антигенов лямблий в периферическую кровь увеличивается при резорбции слизистой оболочки кишечника, проницаемость которой, как известно, возрастает при ее воспалении. В связи с этим выявление антител к антигенам лямблий в сыворотке крови может свидетельствовать о наличии патологического процесса.

**6. Краткая схема проведения ИФА  
для набора реагентов  
«Лямблия-антитела-ИФА-БЕСТ»**

*Использовать только после тщательного  
ознакомления с инструкцией!*

- Внести:** по 100 мкл  $K^+$  и  $K^-$ ;  
по 90 мкл РРС и по 10 мкл  
предварительно разведенных  
анализируемых образцов.
- Инкубировать:** 30 мин, 37°C.
- Промыть:** рабочим буферным раствором,  
400 мкл, 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл рабочего раствора  
конъюгата.
- Инкубировать:** 30 мин, 37°C.
- Промыть:** рабочим буферным раствором,  
400 мкл, 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл рабочего раствора  
тетраметилбензидина.
- Инкубировать:** 25 мин, 18–25°C, в темноте.
- Внести:** по 100 мкл стоп-реагента.
- Измерить:** ОП при 450 нм / референсная  
длина волны 620–655 нм.

## 7. Графические символы

	Номер по каталогу		Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>
	Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов		Не стерильно
	Код партии		Температурный диапазон
	Изготовитель		Дата изготовления
	Использовать до ...		Обратитесь к инструкции по применению
	Осторожно! Обратитесь к Инструкции по применению	YYYY-MM-DD YYYY-MM	Дата в формате Год-Месяц-День Год-Месяц

**Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 363-35-56.**

14.05.18.







АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО  
«ВЕКТОР-БЕСТ»

Международный сертификат ISO 13485

**НАБОРЫ РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИФА**

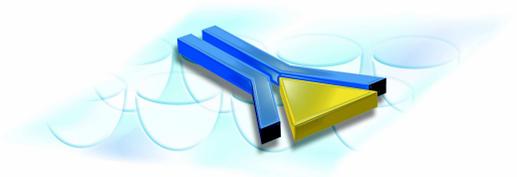
Вирусные гепатиты А, В, С, D, E;  
ВИЧ-инфекция; ИППП; ТОРСН-инфекции;  
герпесвирусные инфекции; беременность;  
аутоиммунные, системные, паразитарные,  
желудочно-кишечные заболевания;  
гормоны; опухолевые и кардиомаркеры;  
цитокины, аллергены и др.

***Точная диагностика –  
эффективное лечение!***

**Наш адрес:** 630117, Новосибирск-117, а/я 492  
Тел./факс: (383) 227-73-60 (многоканальный)  
Тел.: (383) 332-37-10, 332-37-58, 332-36-34,  
332-67-49, 332-67-52

*E-mail:* [vbmarket@vector-best.ru](mailto:vbmarket@vector-best.ru)

Internet: [www.vector-best.ru](http://www.vector-best.ru)



# NovaTec EIA

## Enzyme immunoassay for the detection of Giardia lamblia

### 1. Intended use

The Giardia kit is an in vitro diagnosticum intended for the detection of Giardia lamblia antigen in fecal specimens.

### 2. General

Giardia lamblia is a flagellated enteric protozoan which infects mostly the small intestine after ingestion of Giardia cysts. Its distribution throughout the world makes it an important contributor to chronic debilitating diarrhea and to diarrhea in travelers. The acquisition of the parasite requires oral ingestion of Giardia cysts via fecal contaminated water or food. In the United States, it is the most prevalent infectious agent in waterborne outbreaks of diarrhea. In the developing world, Giardiasis is one of the first enteric pathogens infecting children less than 10 years of age with prevalence rates of 15 - 20 %. Acquisition of Lambliasis occurs mainly in groups with poor fecal-oral hygiene via person-to-person transmission. Such ways of infection occur by children in day care centers, sexually active male homosexuals (up to 19 %) and people in custodial institutions. Many infected young children are symptomatic and spread the disease within their homes and communities. The infection with cysts of the protozoan may be asymptomatic with older children, but they harbor the cysts, excrete them intermittently and remain infectious to other people.

The Giardiasis is characterized as an acute or chronic diarrhea. The incubation period is 3 to 42 days. Clinical manifestations of symptomatic acute infection are sudden onset of watery diarrhea, abdominal cramps and flatulence. The patient expresses feelings of malaise, nausea and anorexia, less frequently vomiting and fever occur; blood, pus and mucus are usually absent.

The diagnosis of Lambliasis in the past was done by stool examination for trophozoites or cysts by microscopy and means of staining. These methods require experienced lab personnel. In addition the investigation must be carried out over a time period since an intermittent excretion of the parasite can occur.

An equivalent method is the new ELISA test for the examination of Giardia lamblia antigen in stool specimen. It shows the same sensitivity as microscopy, needs no experienced personnel for microbiology, is easy and fast and needs no intact organisms (trophozoites or cysts) in stool specimens.

### 3. Test principle

This test is an enzyme immunoassay (ELISA). On the surface of the microtiter wells, a monoclonal antibody against cell wall proteins (CWP) of Giardia lamblia cysts and trophozoites is bound. Diluted stool samples and controls are pipetted into the wells. A second monoclonal antibody conjugated to horseradish peroxidase is added and then incubated at room temperature.

The simultaneous incubation results in the Giardia lamblia antigen being sandwiched between the solid phase and enzyme-linked antibodies. Unbound POD-conjugate is removed by washing.

Substrate/Chromogen is added to the wells and incubated at room temperature. The enzyme bound in the wells converts the colorless Substrate to a blue color. Addition of Stop Solution converts the color from blue to yellow. The absorption is measured at 450 nm wavelength (optional reference wavelength  $\geq$  600 nm). The color intensity is directly proportional to the amount of antigen present in the sample.

### 4. Reagents provided

The reagents in one package are sufficient for 96 determinations.

Each test kit contains:

- 1 x 12 **Microtiter Strips** with 8 wells each (dividable) in a frame;  
coated with monoclonal antibody (mouse) against Giardia lamblia;  
in a resealable foil bag
- 1 x **Parasite Sample Diluent** (100 ml); buffered NaCl solution for sample dilution;  
ready to use
- 1 x **Washing Buffer** (100 ml; 10x conc., brown lid) pH 7.2, contains 0.1 %  
Thimerosal

- 1 x **Positive Control** (1.8 ml); Giardia lamblia antigen from calf stool; ready to use, formalin inactivated
- 1 x **Enzyme Conjugate** (10 ml); HRP-conjugated mAb (mouse) against Giardia lamblia; dyed green, ready to use, contains 0.01 % Thimerosal
- 1 x **Substrate/Chromogen** (10 ml); peroxide/TMB; ready to use
- 1 x **Stop Solution** (6 ml); 1 N sulfuric acid
- 1 x **Instructions for use**

## **5. Reagents required but not provided**

### 5.1 Reagents

- Distilled or deionized water

### 5.2 Accessories

- Test tubes
- Transfer-Pipets (Art. No.: Z 0001)
- Vortex mixer
- Micropipet for volumes of 100 µl and 1 ml
- Microplate washer or multichannel pipet (250 µl)
- Microplate reader (450 nm, optional reference wavelength  $\geq$  600 nm)
- Absorbent paper

## **6. Warnings and precautions for the users**

The Positive Control contains inactivated antigen of Giardia lamblia. However, the Positive Control as well as the Negative Control and the patient samples should be considered potentially contagious and be treated with the necessary safety precautions.

The Enzyme Conjugate and the Washing Buffer contain Thimerosal. Contact with skin or mucous membranes must be avoided.

Urea peroxide can cause cauterization. Handle with care!

The Stop Solution contains 1 N sulfuric acid. Avoid contact with skin and clothing!

All reagents and materials coming in contact with potential infectious specimens must be treated with disinfectants or autoclaved at 121 °C for at least one hour.

Except of the Parasite Sample Diluent an exchange of individual reagents between kits of different lot numbers is not possible.

Microtiterstrips and reagents should not be used if pouch is damaged or vials are leaking.

## 7. Storage instructions

All reagents have to be stored at 2 – 8 °C and can be used up to the expiry date printed on the labels. Microbial contamination has to be avoided. A quality warranty cannot be given beyond the kit expiration date.

The diluted Washing Buffer has a shelf life of 4 weeks if stored at 2 – 8 °C.

Allow reagents and Microtiter Strips to get room temperature before use. To avoid moisture within the strips, do not take the strips out of the foil bag before having reached room temperature. The foil bag should be opened with a pair of scissors without detaching the fastener. Return any unused strips to the foil bag, reseal and store them directly at 2 – 8 °C.

The colorless Substrate/Chromogen must be protected from exposure to direct light to avoid deterioration or coloration by autoxidation. If the Substrate/Chromogen turns blue, the reagent should be discarded.

## 8. Indication of instability or deterioration of reagents

The following criteria may indicate a reagent deterioration:

- a turbidity or a blue coloration of the Substrate/Chromogen prior to its use
- an absorbance value of the Negative Control higher than 0.2
- an absorbance value of the Positive Control lower than 0.8

## 9. Specimen collection and storage

Stool specimen can be used fresh or frozen. Fresh samples that have not been preserved should be stored at 4 °C and should be tested within 24 h. Storage at 4 °C of a specimen diluted in Parasite Sample Diluent can be prolonged for another 5 days at 2 – 8 °C.

Samples which cannot be tested within this time period should be stored at –20 °C until they are required. Deep freezing does not pose a negative influence on the test results. Repeated thawing and freezing must be avoided.

**Samples from MIF enrichment medium are not appropriate for ELISA processing as they may conduct to false results.**

## 10. Test procedure

### 10.1. Preliminary comments

The test should be used only by experienced laboratory personal. Please refer to guidelines for safety regulations in medical laboratories. The test protocol must be followed strictly.

Bring all reagents and the Microtiter Strips to room temperature before use. Mix the reagents well before use. Reproducibility in any EIA depends on exact pipetting, the observance of incubation times and temperature and the consistency of wash sequences. During the washing steps, take care that all wells are filled with buffer and that the liquid is completely removed from the wells. Do not allow microwells to dry between steps.

Avoid direct sunlight during all incubations. Covering the microtiter plate is recommended.

Except the Washing Buffer, all reagents are ready to use.

### 10.2. Preparation of the Washing Buffer

1 part of the concentrated Washing Buffer is diluted with 9 parts of distilled water. Crystals in the buffer concentrate can be dissolved in a waterbath at 37 °C. The diluted Washing Buffer has a shelf life of 4 weeks if stored at 2 – 8 °C.

### 10.3. Preparation of the samples

Using the Parasite Sample Diluent a 1:11 (v/v) dilution of a stool sample is made as followed:

Draw about 100 µl of liquid stool into a Pasteur pipet and suspend in 1 ml of the Parasite Sample Diluent. When using Transfer-Pipet (Art. No. Z 0001) draw just above the second widening (about 100 µl). If the stool is solid, take an equivalent amount (volume of a pea, about 100 mg) with a blade. Homogenize sample by aspiration and ejection with a Transfer-Pipet or by mixing very thoroughly on a vortex-mixer. After allowing a short time to settle (max. 10 minutes) stool suspension can be used directly in the test. If a longer time of settling has passed, the sample should be resuspended before use.

#### **Remark:**

**Using the Parasite Sample Diluent the stool suspension can be applied to other EIAs for antigen detection in stool. For application in more than three assays a bigger volume of stool suspension should be prepared, for example 2,5 ml Universal Stool Diluent + 0.25 ml stool (≅first mark of Transfer-Pipet).**

#### 10.4. First incubation

After a sufficient number of cavities has been placed into the frame, 100 µl of the Positive Control, the Parasite Sample Diluent (Negative Control) and the diluted samples are pipetted into separate wells. Alternatively: pipet 2 drops with a Transfer-Pipet. 2 drops of Enzyme Conjugate) are added to each well. Mix by gently swirling on tabletop and incubate at room temperature for 60 minutes.

#### 10.5. Washing

Decant or aspirate all wells into a waste container with a disinfectant. Ensure complete removal of the liquid from the wells by tapping the inverted plate onto absorbent paper. Fill 250 µl of prepared Washing Buffer in all wells. Repeat the wash cycle 5 times. Be sure to remove residual washing solution by firmly tapping the inverted microwells on absorbent paper after final washing.

**If a microplate washer is used, stool suspension should be discarded manually. During the washing, be sure that the liquid is completely sucked off. After final washing step the inverted microwells should be firmly tapped on absorbent paper.**

#### 10.6. Second incubation

Add 2 drops of Substrate/Chromogen into each well. Incubate the plate for 15 min at room temperature in the dark. Following the incubation, the reaction is stopped by adding 1 drop Stop Solution to each well. After careful mixing (soft tapping on the edge of the plate) the absorbance is measured at 450 nm (optional reference wavelength  $\geq$  600 nm) against an air blank.

#### **Remark:**

**Highly positive patient samples can cause dark precipitates of the Substrate/Chromogen.**

#### **Summary of the test procedure**

1. Bring all reagents to room temperature
2. Dilute the Washing Buffer
3. Prepare the Stool Suspension (1:11)
4. Pipet 100 µl (2 drops) of the suspension, the Positive and Negative Control into the microwells
5. Add 2 drops of Enzyme Conjugate; 60 minutes incubation at room temperature
6. Discard the incubate and wash 5 times with 300 µl of Washing Buffer

7. Add 2 drops of Substrate/Chromogen; 15 minutes incubation at room temperature in the dark
8. After addition of 1 drop Stop Solution spectrophotometric determination

## 11. Analysis

### 11.1. Quality Control

For the quality control, the Positive and Negative Control must be included in each assay to ensure reagent stability and correct performance of the assay procedure. Controls are intended to monitor for substantial reagent failure. The assay run is correct, if the OD for the Negative Control is below 0.2 and the OD for the positive control is above 0.8. If the Negative Control yields absorbance values  $>0.2$  this may indicate insufficient washing. If the expected control values are not fulfilled please check the following before repeating the test:

- Expiration date of the reagents
- Calibration of the used instruments
- Exact test procedure
- Visual examination of kit components for signs of contamination, deterioration or leakage; substrate solution must not be used if turned blue

If the control data are not fulfilled after repeating, please contact your dealer.

### 11.2. Calculation of the threshold (cut-off)

The cut-off is determined by addition of 0.15 absorbance units to the measured absorption of the Negative Control.

$$\text{cut-off} = \text{absorbance value of the Negative Control} + 0.15$$

### 11.3. Interpretation

Samples are considered **positive** if the absorbance value is higher than 10 % over the determined cut-off.

Samples, that have an absorbance value in the area of 10 % above or below the threshold should not be considered as clearly positive or clearly negative. They should be classified as **indeterminate**. It is recommended to test these samples again. As the repeated test with a fresh sample is indeterminate again the sample has to be considered negative.

Samples are considered **negative** if the absorbance value is lower than 10 % under the determined cut-off.

## 12. Remarks about the test procedure and interpretation

The Giardia assay detects Giardia lamblia antigen in stool specimens. A relation between the absorbance value and the clinical relevance is not given. Assay results should always be interpreted in connection to the clinical diagnosis.

A positive result does not exclude the presence of other pathogens.

A negative result does generally not exclude a Giardia infection. It can be due to an intermittent excretion of the parasite. If a reasonable suspicion of an infection exists, a further stool specimen should be investigated.

An indeterminate result can be caused through an unequal dissemination of the parasite within the sample. In this case a second suspension from the same stool sample should be investigated or a further sample should be requested.

## 13. Clinical results

### 13.1. Comparative study

The Giardia assay was tested in a clinical study performed with 276 stool specimens. The specimens were taken of German patients who returned from abroad between September 1999 and March 2000. These patients visited the ambulance for infectious diseases and tropical medicine in Munich because of different complaints. All specimens were examined for ova and parasites by means of a direct microscopy for iron-haematoxylin method and SAF-enrichment although each slide was examined by two experienced microscopists for 10 minutes. Aliquots of the fresh stool specimens were frozen at  $-20^{\circ}\text{C}$  immediately after their arrival. After thawing the specimens were examined in the ELISA according to the manufacturer's instructions. The test showed no cross reactivity with other intestinal parasites. The results are shown in table 1.

Tab. 1: Results of the Giardia Elisa with conventional microscopy

		microscopy	
		positive	negative
Giardia	positive	21	1
	negative	0	254

Sensitivity	100.0 %
Specificity	99.6 %
Positive predictive value	95.5 %
Negative predictive value	100.0 %

## 13.2. Cross reactivity-testing with bacteria

Different bacteria were examined, which were used as isolates or as DSM-strains after overnight-culture in BHI-medium containing a suspension of  $10^6$  germs per ml in duplicate of the test. The extinction is measured at 450 nm. The results are shown in table 2.

Tab. 2: Cross reactivity-testing with bacteria

tested bacteria	origin	result	suspension	supernatant after centrifugation
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	DSM 2403	negative	0.004	0.009
<i>Aeromonas hydrophilia anaerogenes</i>	DSM 30022	negative	0.007	0.013
<i>Aeromonas hydrophilia hydrophilia</i>	DSM 30016	negative	0.004	0.009
<i>Citrobacter freundii</i>	DSM 30047	negative	0.007	0.007
<i>Citrobacter freundii</i>	DSM 30039	negative	0.005	0.007
<i>Enterobacter cloacae</i>	DSM 30054	negative	0.003	0.007
<i>Enterococcus faecalis</i>	DSM 2570	negative	0.002	0.002
<i>Enterococcus faecium</i>	DSM 20477	negative	0.001	0.001
<i>Escherichia coli</i>	Isolate	negative	0.001	0.008
<i>Escherichia coli</i>	Isolate	negative	0.006	0.011
<i>Escherichia coli</i>	Isolate	negative	0.005	0.011
<i>Escherichia hermannii</i>	DSM 4560	negative	0.006	0.006
<i>Lactococcus lactis</i>	DSM 20481	negative	0.007	0.005
<i>Listeria innocua</i>	SLCC 5639	negative	0.004	0.008
<i>Proteus mirabilis</i>	DSM 788	negative	0.002	0.003
<i>Proteus mirabilis</i>	DSM 4479	negative	0.001	0.001
<i>Proteus vulgaris</i>	DSM 30119	negative	0.005	0.010
<i>Providencia stuartii</i>	DSM 6676	negative	0.007	0.011
<i>Pseudomonas aerruginosa</i>	DSM 939	negative	0.009	0.009
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	DSM 4358	negative	0.004	0.009
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	DSM 50124	negative	0.006	0.007
<i>Pseudomonasputida</i>	DSM 291	negative	0.005	0.011
<i>Salmonella Agona</i>	Isolate	negative	0.001	0.006
<i>Salmonella Cholerasuis</i>	DSM 4224	negative	0.004	0.002
<i>Salmonella Infantis</i>	Isolate	negative	0.006	0.014
<i>Salmonella Ohio</i>	Isolate	negative	0.006	0.012
<i>Salmonella Typhimurium</i>	Isolate	negative	0.004	0.012
<i>Serratia proteamaculans</i>	DSM 4487	negative	0.007	0.007
<i>Shigella flexneri</i>	DSM 4782	negative	0.009	0.009

Shigella sonnei	DSM 5570	negative	0.008	0.007
Staphylococcus aureus	DSM 20372	negative	0.005	0.003
Streptococcus agalactiae	Isolate	negative	0.038	0.006
Streptococcus dysgalactiae	Isolate	negative	0.005	0.010
Streptococcus uberis	Isolate	negative	0.008	0.013
Escherichia coli (O157:H-)	Isolate	negative	0.005	0.010
Escherichia coli (O116:H21)	Isolate	negative	0.005	0.009
Escherichia coli (O111:H-)	Isolate	negative	0.007	0.010
Escherichia coli (O26:H8)	Isolate	negative	0.004	0.008
Negative Control BHI			0.004	0.008
Positive Control test kit			1.796	1.635
cut-off			0.146	0.142

### 13.3. Cross reactivity-testing with worm-ova and other parasites

Different microscopically determined stool specimens were examined, which were used in a 1:11 dilution in the ELISA. The results are shown in table 3.

Tab. 3: Cross reactivity-testing with worm-ova and other parasites

Microscopical result	Giardia (cut-off negative control + 0.150)
Ova of Schistosoma mansoni	negative
Ova of Taenia solium	negative
Ova of Trichuris trichiura	negative
Ova of Ascaris lumbricoides	negative
Ova of Enterobius vermicularis	negative
Ova of Hymenolepis nana	negative
Ova of Ankylostoma duodenale	negative
Entamoeba coli cysts	negative
Entamoeba hartmanni cysts	negative
Iodamoeba bütschlii cysts	negative
Blastocystis hominis cysts	negative
Cryptosporidien-cysts	negative

#### 13.4. Precision

The Intra-assay variation was assayed in 24 fold determination of the Positive Control (cysts-suspension) as well as in a medium- (Pr. 32) and in a low-titrated (Pr. 754) stool specimen and in the Negative Control (dilution buffer USP). The results are shown in table 4.

Tab. 4: Intra-assay reproducibility

	PK	Pr. 32	Pr. 754	USP
MW (OD)	2.343	0.987	0.533	0.045
SD	0.138	0.068	0.028	0.002
VK %	5.9	6.9	5.3	4.4

The Inter-assay variation of the Giardia Test was assayed through a 4 fold determination on 4 days and 4 different test kits of one batch with the same specimens, which also were used in the Intra-assay test. The results are shown in table 5.

Tab. 5: Inter-assay reproducibility

	PK	Pr. 32	Pr. 754	USP
MW (OD)	1.988	1.021	0.592	0.052
SD	0.102	0.037	0.043	0.006
VK %	5.13	3.62	7.26	11.54

## Appendix

### Literature

1. Black, R. E. et al.: Giardiasis in day-care centers: Evidence of person-to-person transmission. *Pediatrics* 60 (No. 4), 486 - 491 (1977).
2. Craun, G. F.: Waterborne Giardiasis in the United States: A review. *Am. J. Pub. Health* 69 (No. 8), 817 - 819 (1979).
3. Nask, T. E. et al.: Experimental human infections with *Giardia lamblia*. *J. Infect. Dis.* 156 (No. 6), 974 - 984 (1987).
4. Smith, H. V. et al.: *Giardia* and Giardiasis: What's in a name? *Microbiol. Eur.* 3 (No. 1), 22 - 29 (1995).
5. Thompson, R. C. A., Reynoldson, J. A.: *Giardia* and Giardiasis. *Adv. Parasitol.* 32, 71 - 160 (1993).
6. Xiao, L.: *Giardia* infection in farm animals. *Parasitology today* 10 (No. 11), 436 - 438 (1994).
7. Schunk, M. et al.: Detection of *Giardia lamblia* and *Entamoeba histolytica* in stool samples by two enzyme immunoassays. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 20, 389 – 391 (2001)

**NovaTec Immundiagnostica GmbH  
Technologie & Waldpark**

Waldstr. 23 A6  
D-63128 Dietzenbach, Germany

Tel.: +49 (0) 6074-48760      Fax: +49 (0) 6074-487629  
Email : info@NovaTec-ID.com  
Internet: [www.NovaTec-ID.com](http://www.NovaTec-ID.com)

GIA0160engl08062005-CR