

ОКП 93 9817

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

ЗАО «ДИАКОН»



А. А. Шарышев

2009 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

«Тест-системы для клинической лабораторной диагностики
инфекционных заболеваний in vitro»

СОГЛАСОВАНО

Зав. клинико-диагностической
лаборатории ГКБ № 59



Л.Г. Сорина

2009г.

2009

СОДЕРЖАНИЕ

1. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ.....	3
2. Сифилис тест (Syphilis Test (Syph-Check-1)).....	6
3. Хламидия положительный контроль (CHL Positive Control).....	11
4. Хламидия тест (Chlamydia Test (Chlamy-Check-1)).....	12
5. VDRL Антиген. (VDRL Antigen).....	19
6. Сифилис РИГА (TPHA Syphilis).....	24
7. Сифилис РПР (RPR Carbon).....	32

1. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ

НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-системы для клинической лабораторной диагностики инфекционных заболеваний *in vitro* предназначены для качественного и полуколичественного определения специфических антигенов и антител в сыворотке, плазме, цельной крови человека и экстракте мазков, а также для контроля качества тестирования. Тест-системы предназначены только для профессионального использования в клинико-диагностической практике медицинских и научных учреждений. Компоненты тест-систем используются как одноразовые изделия.

ХАРАКТЕРИСТИКА

Иммунохроматографические тест-системы представляют собой наборы, содержащие тестовые кассеты и одноразовые пластиковые пипетки. Некоторые наборы могут также содержать разбавитель во флаконе-капельнице, экстрагирующий раствор во флаконе-капельнице, тампоны, пробирки с фильтрующими крышками. Компоненты этих тест-систем укомплектованы в количествах, необходимых для проведения 20 определений. Иммунохроматографические тест-системы являются высокоспецифичными качественными тестами с принципом действия «сэндвич»-метод. Иммунохроматографическая кассета представляет собой пластмассовый корпус с нитроцеллюлозной мембраной и стартовой зоной (окном для нанесения образца). При внесении пробы в стартовую зону, находящиеся там специфические меченные коллоидным золотом мышиные моноклональные антитела связываются с антигенами или антителами пробы, образуя окрашенный иммунный комплекс, связываемый в свою очередь со специфическими антителами (антигенами) в тестовой зоне мембраны и образующий окрашенную полосу. Иммунохроматографическая мембрана кассеты содержит также контрольную зону (встроенный контроль качества), в которой происходит другая реакция «антиген-антитело». Появление контрольной полосы указывает на качество теста и должно происходить независимо от наличия в пробе искомого анализата. Результат теста считывается визуально или с помощью иммунохроматографического экспресс-анализатора.

Тест-системы для выявления антител к сифилису представляют собой трепонемные и нетрепонемные препараты для выявления специфических антител. При добавлении сыворотки к реагенту происходит реакция агглютинации, которая регистрируется визуально. В состав этих наборов входят флаконы с реагентами, буфер для разбавления образца, положительный и отрицательный контроли, подложки, мешалки.

Контроль для хламидийного антигена представляет собой стабилизированный

буферный раствор в стеклянном флаконе. Раствор содержит неинфекционные компоненты, полученные *in vitro* из культур клеток L-2 штамма *Chlamydiae trachomatis* человеческого происхождения.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ (см. для каждого теста).

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Тесты предназначены только для диагностики *in vitro* и профессионального применения.

При работе с пробами пользоваться защитной одеждой и одноразовыми перчатками.

Не принимать пищу, не пить и не курить в помещении, где выполняется работа с пробами.

При взятии и тестировании проб не прикасаться руками к слизистой оболочке глаз и носа.

При работе с реагентами, содержащими компоненты человеческой крови, следует рассматривать их как потенциально инфекционный материал и принимать соответствующие меры предосторожности.

Внимательно прочитать инструкцию перед проведением тестирования.

Не использовать тестовые кассеты и реагенты, если защитная упаковка повреждена.

Не использовать тестовые наборы с истекшим сроком хранения.

Соблюдать температуру хранения.

Соблюдать инструкцию по применению.

Не использовать повторно.

ОБЕЗВРЕЖИВАНИЕ ОТХОДОВ

Все пробы следует считать потенциально инфекционными. После завершения процедуры тестирования утилизировать пробы следует с осторожностью и только после стерилизации в автоклаве или обработки 0,5–1% раствором гипохлорита натрия не менее 1 часа.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Соответственно для каждого теста.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Соответственно инструкции для каждого теста.

РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Соответственно инструкции для каждого теста.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ РЕАГЕНТОВ

1. Хранить при указанной на упаковке температуре в герметичной фабричной

упаковке.

2. Не замораживать!

3. Наборы стабильны до истечения срока хранения, указанного на этикетке.

Стабильность не менее 1 года от даты производства при соблюдении условий хранения.

ИЗГОТОВИТЕЛЬ

ВЕДАЛАБ (VEDALAB), Франция

2. Сифилис тест (Syphilis Test (Syph-Check-1)).

Введение

Сифилис – венерическое заболевание, вызываемое спирохетой *Treponema pallidum* (TP). Поскольку этот организм не может быть высеян на искусственных средах, диагностика сифилиса зависит от соответствия клинических данных наличию специфических антител, выявляемых с помощью серологических тестов. Серологические скрининговые тесты на сифилис с использованием кардиолипина и лецитина (1, 2) в качестве антигенов просты для выполнения, но часто дают биологически ложные положительные (BFP) реакции, так как в тестах используются нетренированные антигены. В тестах TPI (3) и FTA-ABS (4) в качестве антигена используются патогенные TP, однако эти тесты представляют некоторые трудности для рутинной серодиагностики. Для теста TPI требуются живые патогенные организмы, а для теста FTA-ABS – флуоресцентный микроскоп. Оба теста требуют высокого уровня компетенции.

Предназначение и принцип метода

Качественный иммунохроматографический скрининговый экспресс-тест для определения человеческих антител к TP в сыворотке, плазме или цельной крови. Метод определения основан на использовании специфического комплекса конъюгированных с красителем поликлональных мышинных антител к иммуноглобулинам человека и иммобилизованного в тестовой зоне кассеты высокоочищенного TP-рекомбинантного белка для избирательного определения антител против TP. Тест в основном определяет IgG и IgA, но также реагирует на IgM при его высоких концентрациях. При прохождении пробы через слой адсорбента конъюгат антител к иммуноглобулинам человека с красителем связывается с человеческими IgG и IgA-антителами, образуя комплекс антиген-антитело. Этот комплекс связывается с рекомбинантным белком TP в реакционной зоне кассеты, образуя полосу розового цвета. В отсутствие TP-антител в реакционной зоне полосы не образуется. Реакционная смесь, продолжая продвигаться по слою адсорбента, достигает контрольной зоны, где осаждается, образуя полосу, свидетельствующую о реакционной способности всех компонентов теста.

Тест пригоден как для визуального считывания, так и для качественного считывания результатов на иммунохроматографическом экспресс-анализаторе.

Состав

Тестовые кассеты	20
Одноразовые пластмассовые пипетки	20
Разбавитель во флаконе-капельнице, 5 мл	1

содержит солевой буфер с детергентом и азидом натрия ($\text{NaN}_3 < 0,1\%$)

Стабильность и хранение

1. Хранить при температуре от 4 до 30°C в герметично закупоренной фабричной упаковке.
2. Не замораживать!
3. Тест стабилен до истечения срока хранения, указанного на этикетке.

Меры предосторожности

Данный тест предназначен только для диагностики *in vitro* и профессионального применения.

При работе с пробами пользоваться защитной одеждой и одноразовыми перчатками.

Не принимать пищу, не пить и не курить в помещении, где выполняется работа с пробами.

При взятии и тестировании проб не прикасаться руками к слизистой оболочке глаз и носа.

Внимательно прочитать инструкцию перед проведением теста.

Не использовать тестовую кассету, если её защитная упаковка повреждена.

Не использовать тестовую кассету с истекшим сроком хранения.

Образцы цельной крови должны тестироваться немедленно после взятия.

Обезвреживание отходов

Все пробы следует считать потенциально инфекционными. После завершения процедуры тестирования утилизировать пробы следует с осторожностью и только после стерилизации в автоклаве или обработки 0,5 – 1% раствором гипохлорита натрия не менее 1 часа.

Подготовка реагента

Все реагенты готовы к использованию.

Исследуемые образцы

Сыворотка, плазма (с гепарином лития или аммония, ЭДТА) или цельная кровь.

Взятие и подготовка проб

1. Взятие крови осуществляется с помощью стандартной лабораторной процедуры (асептическим способом, исключая гемолиз). Все пробы следует считать потенциально инфекционными.
2. Образцы цельной крови должны тестироваться в течение 4 часов после взятия.
3. Если тестирование образцов сыворотки предполагается провести в течение 48 часов после взятия крови, образец следует хранить в холодильнике при 2–8°C. Если же тест будет выполняться позже, пробу сыворотки или плазмы необходимо заморозить.

Замороженные пробы перед тестированием следует оттаять, тщательно перемешать и довести до комнатной температуры. Повторное замораживание проб не допускается.

В случае мутности, высокой вязкости или наличия в пробе сыворотки нерастворимых частиц необходимо перед тестированием развести пробу равным объемом буфера для разведения (не входит в комплект набора, но может поставляться по заказу).

Процедура тестирования

1. Довести все пробы, тестовые кассеты и разбавитель до комнатной температуры.
2. Извлечь тестовую кассету из защитной упаковки, оторвав край упаковки по надрезу.
3. Пометить тестовую кассету фамилией или кодовым номером пациента.
4. Набрать пробу (сыворотки или плазмы) в пипетку-капельницу и, держа её вертикально, внести 1 полную каплю сыворотки (25 мкл без воздушных пузырьков) в лунку для проб тестовой кассеты. В случае тестирования цельной крови внести в лунку для проб 2 капли (50 мкл) крови.
5. Внести в лунку для проб 3 полных капли разбавителя (150 мкл).
6. Считать качественный результат теста через 10-15 минут после внесения пробы.
НЕ ИНТЕРПРЕТИРОВАТЬ РЕЗУЛЬТАТ ТЕСТА ПОСЛЕ 15 МИНУТ ВЫДЕРЖКИ.

Интерпретация результатов

Отрицательный: Появляется только одна цветная полоса в контрольной зоне (C).

Положительный: Кроме цветной полосы в контрольной зоне, появляется также вторая чётко различимая полоса в тестовой зоне.

Неопределённый: Если в контрольной зоне не появилось чёткой цветной полосы, тест считается не прошедшим контроль качества. В этом случае рекомендуется повторить его, взяв новую тестовую кассету.

Характеристики теста

Серия из 12 предварительно проанализированных проб была протестирована с помощью данного теста. Результаты сравнения приведены в Таблице 1 и показывают очень хорошую корреляцию с методами ИФА, трепонемными и нетрепонемными методами. Были также протестированы 50 отрицательных проб, которые оказались отрицательными в данном тесте.

№	EIA Syphilis Captia	EIA Syphilis Embrabio	EIA Syphilis P.Cambridge	VDRL Wiener	VDRL Behring	VDRL Laborclin	PG Serodia TP	FTA- ABS Biolab	Тест VEDALAB
1	0.789/0.365	0.702/0.300	поз.	нег.	нег.	нег.	поз.	поз.	поз.
2	1.245/0.365	0.604/0.300	поз.	нег.	нег.	нег.	поз.	поз.	поз.

3	1.286/0.365	1.308/0.300	поз.	1/4	1/4	1/4	поз.	поз.	поз.
4	1.171/0.365	1.157/0.300	поз.	1/4	1/4	1/4	поз.	поз.	поз.
5	1.035/0.365	0.787/0.300	поз.	1/4	1/4	1/4	поз.	поз.	поз.
6	1.227/0.365	0.609/0.300	поз.	1/64	1/64	1/64	поз.	поз.	поз.
7	1.173/0.365	1.193/0.300	поз.	1/8	1/4	1/8	поз.	поз.	поз.
8	0.764/0.365	1.105/0.300	поз.	1/64	1/16	1/64	поз.	поз.	поз.
9	0.777/0.365	0.809/0.300	поз.	нег.	нег.	нег.	поз.	поз.	поз.
10	0.205/0.365	0.072/0.312	нег.	+ 1/1	+ 1/1	+ 1/1	нег.	нег.	нег.
11	0.205/0.365	0.072/0.312	поз.	нег.	нег.	нег.	поз.	поз.	поз.
12	0.767/0.365	0.566/0.300	поз.	+	1/1	1/1	1/1	поз.	поз.

Таблица 1. Результаты тестирования образцов крови разными тестами.

Второе клиническое испытание проводилось в Исследовательском Институте венерических заболеваний. Клиническое испытание проводилось на 304 пациентах, из которых 224 было инфицировано. Испытания проводились с использованием проб сыворотки и крови от каждого пациента, в трех экземплярах для каждой пробы. Данный тест, используемый в качестве скрининговой диагностики, сравнивался с нетрепонемными (VDRL, RPR) и трепонемными тестами (TPI и сравнительным методом FTA-ABS). Результаты показали абсолютное соответствие теста всем методам, как для проб сыворотки, так и для проб крови, т.е. чувствительность и специфичность была 100%.

Ограничения метода

1. Как и в случае всякой диагностической процедуры, врач должен подтвердить данные, полученные с использованием этого теста, другой клинической информацией.
2. Очень ранняя стадия инфицирования может привести к ложным отрицательным результатам по причине низкой концентрации антител против *Treponema pallidum* в пробах сыворотки, плазмы или цельной крови.
3. Положительный результат не исключает наличия других патогенов.

Литература

1. Pettit D.E., S.A. Larsen, V. Pope, M.W. Perryman, and M.R. Adams 1982. Unheated serum reagin test as a quantitative test for syphilis. J. Clin. Microbiol. 15 : 238-242.
2. March, R.W. and G.E. Stiles. 1980. The reagin screen test : a new reagin card test for syphilis. Sex. Transm. Dis. 7 : 66-70.
3. S.A. Larsen, E.A. Hambie, D.E. Pettit, M.W. Perryman, S.J. Kraus. 1981. Specificity, sensitivity and reproducibility among the fluorescent treponemal antibody-absorption test, the microhemagglutination assay for *Treponema pallidum* antibodies, and the hemagglutination treponemal test for syphilis. J. Clin. Microbiol. 14 (4) : 441-445.

4. Hunter, E.F., R.M. McKinney, S.E. Maddison, and D.D. Cruce, 1979. Double-staining procedure for the fluorescent treponemal antibody-absorption (FTA-ABS) test. *Br. J. Vener Dis.* 55 : 105-108.
5. Wang, M.C., M. Kuriyama, L.D. Papsidero, R.M. Loo, L.A. Valenzuela, G.P. Murphy, D.T.M. Chu. 1982. Prostate antigen of human cancer patients, P. 179-97. In H. Busch and L.C. Yeoman (ed.). *Methods in cancer research*. Academic Press Inc, New York.
6. Irani, J. Millet, C., Levillain, P., Doré, B., Begon, F., Aubert, J. 1997. Serum-to-urinary prostate specific antigen ratio: its impact in distinguishing prostate cancer when serum prostate specific antigen level is 4 to 10 ng/ml. *J. of Urology*. 157: 185-188.
7. Piironen T., Pettersson K., Suonpää M., Stenman U.-H., Oesterling J. E., Lövgren T. and Lilja H. 1996. In vitro stability of free Prostate-Specific Antigen (PSA) and Prostate-Specific Antigen (PSA) complexed to α 1-antichymotrypsin in blood samples. *Urology* 48 (6A): 81-87.

3. Хламидия положительный контроль (CHL Positive Control).

Описание и предназначение

Хламидия положительный контроль предназначен для применения в иммунологических определениях антигена *Chlamydiae*, в частности в методиках, основанных на иммунохроматографических принципах. Его можно использовать в качестве внутреннего контроля качества иммунохроматографических тестов.

Контроль представляет собой стабилизированный буферный раствор, содержащий неинфекционные компоненты, полученные *in vitro* из культур клеток L-2 штамма *Chlamydiae trachomatis* человеческого происхождения. Содержит консервант – 0,05% азид натрия.

Реагент предназначен для диагностических исследований *in vitro* и только для профессионального использования.

Состав

Хламидия положительный контроль во флаконе капельнице, 0,5 мл 1

Жидкий, готовый к применению

Инструкция по применению 1

Стабильность и хранение

1. Хранить при температуре от +4°C до +30°C.
2. Не использовать после окончания срока хранения, указанного на этикетке.

Процедура тестирования

1. Внести 200 мкл (5 капель) экстрагента, поставляемого в наборе с экспресс-тестом на хламидию (VEDALAB) в экстракционную пробирку.
2. Добавить в экстракционную пробирку 200 мкл (5 капель) положительного контроля.
3. Смешать реагенты и провести экстракцию в течение 10 минут.
4. Провести процедуру тестирования согласно инструкции к экспресс-тесту на хламидию (VEDALAB), используя экстракт в качестве тестируемого образца.
5. Считать результат теста через 20 минут.

Интерпретация результатов

Концентрация положительного контроля подобрана так, чтобы при использовании экспресс-теста на хламидию получать ответ, эквивалентный средне или высоко положительным образцам. Если анализ выполнен правильно, в тестовой зоне кассеты должна появиться четкая полоса розового цвета.

Ограничения метода

Положительный контроль предназначен для дополняющих лабораторных методик контроля качества и не предназначен для выполнения аттестационных тестов (т.е. валидации).

4. Хламидия тест (Chlamydia Test (Chlamy-Check-1)).

Введение

Хламидии (*Chlamydiae*) – относящиеся к грамотрицательным бактериям облигатные внутриклеточные паразиты, подразделяющиеся на три различных вида: *C.trachomatis*, *C.pneumoniae* и *C.psittaci* (1). Эти патогенные микроорганизмы были известны как возбудители трахомы – болезни, поражающей сотни миллионов человек в развивающихся странах. Позднее было обнаружено, что в индустриально развитых странах хламидии представляют собой основную причину различных инфекций мочеполового тракта, передающихся половым путём (2). К хламидийным инфекциям у человека относятся хламидийный конъюнктивит, венерическая лимфогранулема и всё возрастающее количество передающихся половым путём инфекций, этиология которых ранее приписывалась другим патогенам или была неясной (проктит, цервицит, бесплодие, синдром Рейтера, эпидидимит, воспалительные заболевания мочевыводящей системы и внематочная беременность) (3, 4). Поскольку при хламидийных инфекциях наблюдается хороший ответ на лечение антибиотиками, а заболеваемость ими резко возросла, большую важность для успешного лечения приобретает их точная диагностика в клинических лабораториях (5). Для диагностики хламидийных инфекций разработаны и применяются различные методы, такие как клеточная культура, ИФА, ПЦР или иммунофлуоресценция (6, 7).

Предназначение и принцип метода

Чувствительный и специфичный качественный иммунохроматографический экспресс-тест для непосредственного определения антигена хламидий в эндоцервикальных или уретральных мазках как у женщин, так и у мужчин, пригодный как для использования врачом непосредственно на приеме, так и для обработки больших пакетов проб в лабораториях. Тест определяет специфический липополисахаридный антиген (LPS-антиген), свойственный роду *Chlamydia*. Метод определения основан на использовании особой комбинации конъюгата мышиных моноклональных антител к LPS-антигену с красителем (коллоидным золотом) и иммобилизованных на мембране тестовой кассеты мышиных поликлональных антител к LPS-антигену для определения этого антигена в мазках с высокой специфичностью и чувствительностью. При выполнении теста проба (эндоцервикальный мазок или мазок из уретры) сначала обрабатывается экстрагирующим буфером для экстракции LPS-антигена хламидий, затем экстракт вносится в лунку для проб тестовой кассеты. При прохождении экстрагированной пробы через слой адсорбента конъюгат антител с красителем связывается с LPS-антигеном пробы, образуя комплекс антиген-антитело. Этот комплекс связывается с

поликлональными антителами в реакционной зоне тестовой кассеты, образуя розовую полосу, если в пробе присутствует LPS-антиген. В отсутствие LPS-антигена полосы в тестовой зоне не образуется. Вне зависимости от результата теста несвязавшийся материал, продолжая продвигаться по слою адсорбента, достигает контрольной зоны, где осаждается с образованием розовой полосы, подтверждающей качество применяемых в тесте реагентов.

Тест пригоден как для визуального считывания, так и для качественного считывания результатов на иммунохроматографическом экспресс-анализаторе.

Состав

Тестовые кассеты	20
Тампоны	20
Экстракционные пробирки с фильтрующими крышками	20
Экстрагент во флаконе-капельнице, 10 мл	2
<i>Содержит буфер, детергент и азид натрия (менее 0,1%)</i>	
Инструкция	1

Стабильность и хранение

1. Хранить при температуре от 4 до 30°C в герметично закупоренной фабричной упаковке.
2. Не замораживать!
3. Тест стабилен до истечения срока хранения, указанного на этикетке.

Меры предосторожности

Данный тест предназначен только для диагностики *in vitro* и профессионального применения.

При работе с пробами пользоваться защитной одеждой и одноразовыми перчатками.

Не принимать пищу, не пить и не курить в помещении, где выполняется работа с пробами.

При взятии и тестировании проб не прикасаться руками к слизистой оболочке глаз и носа.

Внимательно прочитать инструкцию перед проведением теста.

Не использовать тестовую кассету, если её защитная упаковка повреждена.

Не использовать тестовую кассету с истекшим сроком хранения.

Обезвреживание отходов

Все пробы следует считать потенциально инфекционными. После завершения процедуры тестирования утилизировать пробы следует с осторожностью и только после стерилизации в автоклаве или обработки 0,5 – 1% раствором гипохлорита натрия не менее

1 часа.

Подготовка реагента

Все реагенты готовы к использованию.

Исследуемые образцы

Мазки из эндоцервикального канала у женщин и уретры у мужчин.

Взятие и подготовка проб

Для выполнения любых тестов на *Chlamydia trachomatis* очень важно соблюдать правильную технику взятия проб.

А. Эндоцервикальные пробы:

1. Используйте тампоны, входящие в комплект набора. Можно также использовать любые стерильные вязкозные или дакроновые тампоны. Не использовать хлопковые или кальций-альгинатные тампоны, тампоны на деревянных палочках, с активированным углем или транспортной средой, содержащей агар или желатин.

2. Удалить излишки слизи из канала шейки матки отдельным тампоном или ватным шариком и выбросить его.

Внимание: При плохом удалении слизи возможны ложные положительные результаты.

3. Ввести тампон в канал шейки матки почти на всю длину собственно тампона так, чтобы тампон был почти не виден. Взять мазок, вращая тампон в течение 15–30 секунд, и затем извлечь тампон, не прикасаясь им к стенкам влагалища. Тампон с мазком можно хранить и транспортировать в сухом виде в пластмассовой пробирке (в комплект набора не входит).

4. Тестирование рекомендуется выполнять немедленно после взятия пробы. Если же это невозможно, тампон с мазком следует поместить в сухую пластмассовую пробирку и хранить в холодильнике (при 2 – 8°C) не более 72 часов. Не замораживать!

Б. Пробы из уретры:

1. Для взятия проб из уретры используются стандартные тампоны на металлических палочках или цитологические щётки (в комплект теста не входят). Следует воздержаться от мочеиспускания в течение 1 часа перед взятием мазка.

2. Ввести тампон в уретру на 2–4 см, взять мазок, вращая его 3–5 секунд, и затем извлечь.

Хранение и транспортировка мазков из уретры осуществляется так же, как и эндоцервикальных мазков (см. выше).

Процедура тестирования

Перед выполнением теста следует довести все пробы, растворы и тестовые кассеты

до комнатной температуры.

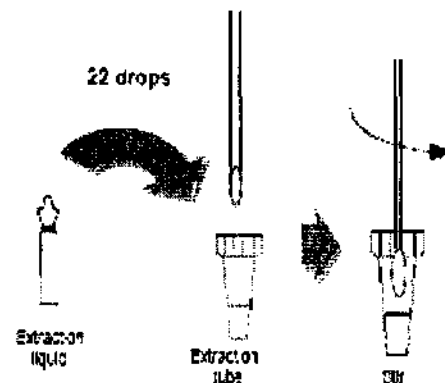
А. Экстракция пробы:

1. Внести в пробирку для экстракции 22 капли (0,9 мл) экстрагента.
2. Поместить тампон в пробирку и энергично перемешивать им экстрагент в течение 10 секунд, чтобы добиться хорошей экстракции мазка.
3. Поместить пробирку с тампоном в штатив и оставить на 10–15 минут при комнатной температуре для экстракции.

Во время экстракции 2–3 раза покрутить тампон в течение нескольких секунд, прижимая его к стенкам пробирки (см. рисунок).

5. По окончании экстракции (через 10–15 минут) тщательно выжать тампон о стенки пробирки и извлечь его из пробирки.

6. Утилизировать тампон, соблюдая технику безопасности при работе с инфекционным биоматериалом.



Экстрагированная проба может храниться при комнатной температуре в течение 30 минут без ухудшения качества теста.

В. Тестирование:

1. Извлечь тестовую кассету из защитной упаковки и положить её на ровную горизонтальную поверхность.
2. Пометить кассету фамилией или кодовым номером пациента.
3. Закрыть пробирку с экстрагированной пробой фильтрующей крышечкой-капельницей и внести 4 капли (150 мкл) экстракта в лунку для проб тестовой кассеты.
4. Дать каждой капле впитаться перед внесением следующей. Не допускать образования воздушных пузырьков в лунке для проб.
5. Наблюдать результат теста через 20 минут после внесения пробы в лунку для проб тестовой кассеты.

Интерпретация результатов

Отрицательный: Появляется только одна цветная полоса в контрольной зоне (C).

Положительный: Кроме цветной полосы в контрольной зоне, появляется также чётко различимая вторая розовая полоса в тестовой зоне, что указывает на присутствие в пробе антигена хламидий. Даже бледная линия в тестовой зоне трактуется как положительный результат. Возможное различие в оттенке и интенсивности тестовой и контрольной полос не влияет на интерпретацию результата.

3. Продолжить серию двукратных разбавлений аналогичным образом вплоть до пятого круга, и отбросить лишние 50 мкл из последнего круга. Окончательное разбавление образца будет: 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 и 1/32.

4. Протестировать каждое разбавление, как описано в пунктах 2-6 для качественного метода.

Считывание результатов

а) Результаты

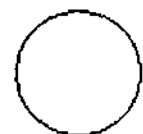
1. Реакция есть:

при положительном результате образуются небольшие, но четко видимые обильные хлопья. (См. Меры предосторожности, пункт 5).



2. Реакции нет:

частицы остаются в дисперсной взвеси без видимой преципитации.



Титр образца обозначается как наивысшее разбавление, которое показывает реакцию в тесте. Следующее более высокое разбавление должно дать отрицательный результат. Если тестируемое наивысшее разбавление оказалось реакционно способным, следует повторить тест, начиная с предварительного 1/16 разбавления. Использовать 1/50 разбавление отрицательной контрольной сыворотки в 0,9% физиологическом растворе для того, чтобы заменить 0,9% солевой раствор в сериях двукратного разбавления.

б) Контроль качества

Положительные и отрицательные контроли (не входят в состав набора, но могут поставляться по запросу) следует проверять ежедневно, следуя методу качественного определения с целью проверки оптимальной реакционной способности антигена.

Положительный контроль должен показывать четкое образование хлопьев. Если при проверке не удастся достичь ожидаемого результата, не используйте такой набор.

Характеристики теста

а) Чувствительность и специфичность

Аналитическая чувствительность эквивалентна чувствительности, наблюдаемой при использовании человеческой реактивной сыворотки из Центра Контроля за Болезнями (CDC).

Диагностическая чувствительность равна 86% для первичного сифилиса и 100% для вторичного сифилиса.

Диагностическая специфичность равна 98%.

Результаты, полученные с этим реагентом, не показали значительных различий при сравнении с эталонными реагентами.

б) Влияния

Гемолизная и липемичная сыворотка мешают определению VDRL антигена. Другие вещества также могут влиять (4).

Ограничения метода

1. Ложные отрицательные биологические реакции могут наблюдаться при ранней первичной инфекции и на поздних латентных стадиях болезни.

2. Известно о ложных положительных реакциях с антигенами типа кардиолипина при таких заболеваниях, как инфекционный мононуклеоз, системная красная волчанка и вирусная пневмония. Беременность, наркотическая зависимость и аутоиммунные болезни могут также дать ложные положительные реакции.

Литература

1. Harris A et al. J. Ven. Dis. Information. 27 : 169 (1946).
2. Harris A et al. J. Ven. Dis. Information. 29 : 72 (1948).
3. Guide of clinical preventive services. 2nd Edition. U.S. Department of Health and human services, Washington, DC (1996).
4. Young D.S. Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th edition. AACC Press. 1995.

6. Сифилис РПГА (TRHA Syphilis).

Введение

Сифилис является хронической инфекцией, которая развивается по определенным стадиям: первичной, вторичной, третичной и четвертичной. Эти стадии характеризуются разными клиническими симптомами; первоначально обычно образуется твердый шанкр, затем сифилитическая сыпь, с последующими долгими скрытыми периодами, и, в конце концов, заболевание может привести к сердечно-сосудистым проблемам и нейросифилису.

Инфекция, вызываемая спирохетой *Treponema pallidum*, обычно передаётся половым путем, заболеть можно также после переливания инфицированной крови. Тесты на сифилис подразделяются на четыре категории: прямое микроскопическое исследование; тесты на трепонемные антитела; тесты на нетрепонемные антитела и тесты непосредственно на антиген. Из-за длительных латентных периодов и неспецифической природы нетрепонемных тестов, методы, которые определяют специфические антитрепонемные антитела в образцах больных, стали чрезвычайно популярны для скрининга.

Предназначение и принцип метода

В тесте РПГА используются стабилизированные птичьи эритроциты, покрытые антигенами *Treponema pallidum* (штамм Nichol), предназначенные для связывания со специфическими антителами, присутствующими в сыворотке или плазме больного. Клетки суспендируют в разбавителе, содержащем компоненты для удаления неспецифических реакций. Положительные реакции характеризуются гемагглютинацией. Хотя тест предназначен в основном для качественных определений, но его можно также использовать как количественный тест.

Результаты теста можно интерпретировать визуально или с помощью микропланшетного ридера. Неспецифические реакции определяются с помощью использования контроля несенсибилизированных птичьих клеток.

Состав

	На 100 тестов:	На 200 тестов:
Флакон с сенсибилизированными эритроцитами для теста, 8,5 мл	1	2
<i>Птичьи эритроциты, сенсибилизированные антигеном Treponema pallidum, суспендированные в буферном растворе, содержащем консервант.</i>		
Флакон с контрольными клетками, 8,5 мл	1	2
<i>Несенсибилизированные птичьи эритроциты.</i>		

Флакон с положительным контролем, 0,5 мл	1	1
<i>Предварительно разбавленная 1/20 и имеющая титр 1/1280</i>		
<i>контрольная сыворотка (значение титра может изменяться от 1/640 до 1/2560, в зависимости от лота реагентов).</i>		
Флакон с пограничным контролем, 0,5 мл	1	1
<i>разбавление 1/20</i>		
Флакон с отрицательным контролем, 0,5 мл	1	1
<i>Предварительно разбавленная 1/20 и имеющая титр 1/1280</i>		
<i>контрольная сыворотка.</i>		
Флакон с буфером для разведения, 20 мл	1	2
Микротитровальные планшеты с U-лунками (одноразовые)	1	2
Инструкция по применению	1	1

Необходимые, но не поставляемые материалы

Автоматические пипетки на 10, 25, 75 и 190 мкл.

Стабильность и хранение

Хранить флаконы в вертикальном положении. Реагенты стабильны до окончания срока хранения, указанного на этикетке, при условии хранения при температуре от +2°C до +8°C. Не замораживать! Не смешивать компоненты из разных лотов. Не использовать помутневшие реагенты или растворы с бактериальным загрязнением.

Меры предосторожности

Тест предназначен только для диагностического применения *in vitro* и только для профессионального использования.

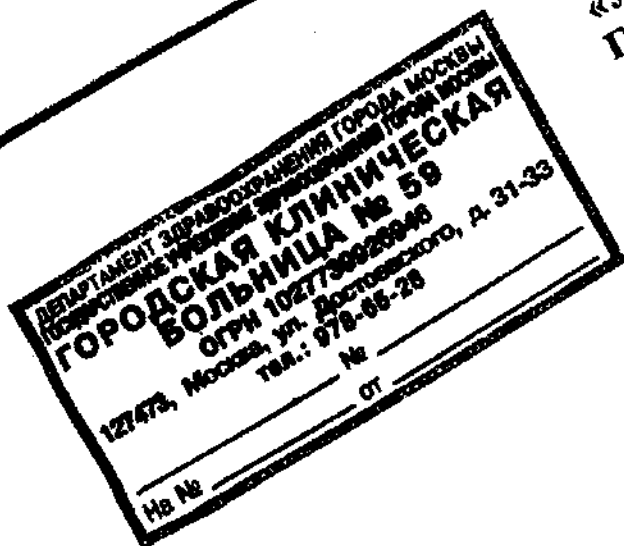
Растворы содержат менее 0,1% азида натрия в качестве консерванта. Избегайте попадания раствора на кожу, не глотайте реагенты. Азид натрия может образовать взрывчатые соли при контакте с сантехникой.

Работайте с компонентами набора в защитных перчатках.

Контроли приготовлены из человеческой сыворотки или дефибринизированной плазмы, показавших отрицательный результат в тестах на антиген HBS (ABBOTT AXSYM HbsAg MEIA), на антитела к HIV-1 и HIV-2 (ABBOTT AXSYM HIV 1/2 MEIA), на антиген ВИЧ p24 (MUREX HIV antigen MAB t) и на антитела к HCV (ABBOTT AXSYM HCV MEIA). Однако, поскольку известные методы тестирования не дают полной гарантии отсутствия инфекции, эти материалы следует рассматривать как потенциально инфекционные и строго следовать инструкциям по технике безопасности.

Обезвреживание отходов

Все пробы следует считать потенциально инфекционными. После завершения



«УТВЕРЖДАЮ»:
Главный врач ГБУ №59

«дс»



Протокол
медицинских испытаний изделия медицинского назначения
«Тест-системы для клинической лабораторной диагностики
инфекционных заболеваний in vitro»,
производства VEDALAB, Франция

ла

качест

Иммуно

содержащ

коллоидным

стартовой зо

антителами п

связывается со с

зоне кассеты.

Иммунохроматограф.

зону (встроенный кон

антиген-антитело. Появл

теста и должно происходи

Результат теста счи.

иммунохроматографического

Иммунохроматографическ

содержащих тестовые кассеты, од

по применению, некоторые набор

флаконе-капельнице, экстрагирующи

В период с 17.08.2009 г. по 28.08.2009 г. в клинко-диаг
лаборатории проведены медицинские испытания изделия
назначения «Тест-системы для клинической лабораторн
инфекционных заболеваний in vitro», производства VEDALAB

Цель испытания

Оценка возможности применения вышеуказан
практике на территории РФ и регистрации его Фе
сфере здравоохранения и социального развити

Для проведения испытания был

- Тест -системы для кл
- инфекционных заболеваний in vitro
- Инстр укция по приме
- Проект нормативн
- Прото кол технич
- ЗАО «Вымпел-Медцентр» от 16.



процедуры тестирования утилизировать пробы следует с осторожностью и только после стерилизации в автоклаве или обработки 0,5 – 1% раствором гипохлорита натрия не менее 1 часа.

Подготовка реагентов

Сенсибилизированные эритроциты для теста и контрольные клетки готовы для применения; флаконы с клетками следует слегка встряхнуть перед проведением теста для обеспечения полного смешивания.

Буфер для разведения образцов готов к применению.

Пограничный контроль и отрицательный контроль предварительно разбавлены и готовы к применению.

Положительный контроль также готов к применению.

Исследуемые образцы

Следует использовать для тестирования только сыворотку. Гемолизные образцы не пригодны для тестирования. Используют свежую сыворотку или образцы, которые хранили при температуре от +2°C до +8°C не более одной недели. Образцы можно заморозить при температуре -20°C и использовать после однократной разморозки.

Процедура тестирования

Качественное определение (скрининг)

1) Разведение образца

Все сывороточные образцы следует развести 1/20:

– внести 190 мкл буферного разбавителя в одну лунку

– добавить 10 мкл сыворотки в ту же самую лунку.

– Замечания:

– клетки для контроля и теста должны быть полностью ресуспендированы. Если необходимо, осторожно встряхните растворы.

– поставляемые положительные и отрицательные контроли уже предварительно разбавлены (1/20) и с ними следует работать непосредственно, как указано в пункте «2) Методика работы».

2) Методика работы

Каждый образец анализируется в трех дублях в трех разных лунках.

а) Разбавление образца в лунке № 1.

Действуйте, как указано в пункте «1) Разбавление образца»

б) Смешать буфер для разбавления образцов и образец сыворотки, используя пипетку, и внести по 25 мкл смеси в лунки № 2 и № 3.

в) Убедитесь, что птичьи эритроциты для контроля и теста полностью ресуспендированы.

Добавить 75 мкл контрольных клеток в лунку № 2.

Добавить 75 мкл сенсibilизированных клеток для тестирования в лунку № 3.

г) Осторожно встряхнуть пластину для перешивания содержимого в лунках.

д) Инкубировать 45-60 минут при комнатной температуре.

Замечание: Не подвергайте микропланшету воздействию тепла, солнечного света или вибрации.

Считайте результаты теста.

Считывание результатов может быть отложено до 24 часов при условии, если микропланшета будет накрыта и будет храниться при описанных выше условиях.

Количественное определение

1) Разведение образца

Все сывороточные образцы следует развести 1/20:

- внести 190 мкл буферного разбавителя в одну лунку
- добавить 10 мкл сыворотки в ту же самую лунку.

Замечания:

– клетки для контроля и теста должны быть полностью ресуспендированы. Если необходимо, осторожно встряхните растворы.

– поставляемые положительные и отрицательные контроли уже предварительно разбавлены (1/20) и с ними следует работать непосредственно, как указано в пункте «2) Методика работы».

2) Методика работы

Каждый образец анализируется в 8 разных лунках (от А до Н).

а) Внести по 25 мкл буфера для разбавления в лунки, начиная от В до Н. Оставить лунку А пустой.

б) Внести по 25 мкл разбавленной сыворотки в лунки А и В.

б) Смешать образец и буфер в лунке В и серийно разбавить образец до лунки Н. Из последней лунки Н отбросить избыточные 25 мкл.

в) Убедиться, что клетки для теста полностью ресуспендированы. Внести по 75 мкл тестовых клеток в лунки от А до Н.

г) Осторожно встряхнуть пластину для перешивания реагентов в лунках.

д) Инкубировать 45-60 минут при комнатной температуре.

Замечание: Не подвергайте микропланшету воздействию тепла, солнечного света или вибрации.

Считайте результаты теста.

Считывание результатов может быть отложено до 24 часов при условии, если микропланшета будет накрыта и будет храниться при описанных выше условиях.

Считывание результатов

а) Качественные результаты

Контрольная лунка	Тестовая лунка	Результат
		Негативный
		Позитивный (выполнить количественный тест)
		Неопределенный
		Недействительный (неспецифическая реакция)

Если клетки образуют структуру, покрывающую дно лунки, это указывает на четкий положительный результат. В случае отрицательного результата клетки (образца или отрицательного контроля) оседают в виде компактной «кнопочки» на дне лунки. Если эти два условия не выполняются, тест следует считать недействительным и его следует выполнить вновь.

Пограничный контроль должен показывать как клеточную структуру с отчетливо открытым центром лунки, так и компактную массу клеток для идентификации пограничных образцов (неопределенные результаты). Эти результаты указывают на низкий уровень антител как в случае раннего первичного сифилиса, так и недавно проведенного лечения или фрамбезии. Образец такого типа следует повторно тестировать с помощью качественного метода. Необходимо определить титр образца, чтобы определить повышение титра во времени. Рекомендуется тест для определения реактивов (РПР-сифилис) и/или тест FTA-ABS.

Положительный контроль должен давать четкую агглютинацию эритроцитов с появлением структуры клеток, покрывающих дно лунки.

Примечание: В случае положительного результата контрольную лунку следует внимательно рассмотреть. Контрольные клетки должны сформировать компактную «кнопочку» на дне лунки. Этот результат не должен использоваться для сравнения с результатами, полученными для отрицательных образцов (контрольная «кнопочка» клеток получается более компактной, чем образование из тестовых клеток).

Агглютинация эритроцитов в контрольной лунке указывает на наличие неспецифических агглютининов в образце; тест следует считать недействительным.

Образец такого рода можно абсорбировать, используя контрольные клетки (см. пункт

«Неспецифическая абсорбция»).

б) Количественные результаты

Внешний вид результатов на примере положительного контроля из набора:

1/80	A		Позитивный
1/160	B		Позитивный
1/320	C		Позитивный
1/640	D		Неопределенный
1/1280	E		Негативный
1/2560	F		Негативный
1/5120	G		Негативный
1/10240	H		Негативный

Интерпретация: титр образца соответствует разведению, показывая неопределенный результат (клеточная структура + «кнопочка»).

Положительный контроль, разбавленный 1/1280, должен дать неопределенный результат (клеточная структура + «кнопочка»). Эта величина может изменяться от 1/640 до 1/2560, в зависимости от лота реагентов, как показано на рисунке выше.

в) Неспецифическая абсорбция

1. Внести 100 мкл исследуемой сыворотки в пробирку, затем добавить 400 мкл контрольных клеток. Хорошо перемешать и оставить на час при комнатной температуре.

2. Центрифугировать при 1000 об/мин в течение 5 минут и анализировать супернатант согласно методике качественного теста.

Примечание. Разведение сыворотки будет равно 1/5. Этот факт следует учитывать в процессе приготовления разведений. Если результат после этапа абсорбции всё ещё неопределенный, то образец следует проанализировать другим методом, например, определением реактинов или тестом FTA-ABS.

Характеристики теста

а) Внешняя оценка

Тест РПГА на сифилис оценивали в центрах переливания крови и независимых лабораториях. Образцы анализировали с помощью данного и другого коммерческого теста. Сыворотки с противоречивыми и положительными результатами теста РПГА на сифилис были подтверждены с помощью теста FTA-ABS и/или клиническим диагнозом.

Образцы, полученные от доноров

Скрининг прошли 2160 образцов. Все результаты были отрицательными. Неспецифический результат получен на двух сыворотках. После этапа абсорбции данные

сыворотки дали отрицательные результаты.

Специфичность составила 100% (2160/2160).

Клинические образцы

Были протестированы 602 сыворотки. Результаты суммированы в нижеследующей таблице:

Клинический диагноз	Результат теста РПГА		
	Положительный	Отрицательный	Всего
Положительный	298	1	299
Отрицательный	2	301	303
Всего	300	302	602

Сыворотки с противоречивыми и положительными результатами теста РПГА на сифилис были подтверждены с помощью теста FTA-ABS и/или клиническим диагнозом.

Специфичность составила 99,3% (301/303).

Чувствительность составила 99,7% (298/299).

Ограничения метода

1. Антитела к сифилису, которые определяются тестом РПГА, долговременно сохраняются в крови, даже после успешного лечения. В этом заключается причина, почему положительный тест РПГА указывает на недавнюю или предыдущую инфекцию.

2. Невозможно отличить сифилис от других трепонемных инфекций (например, фрамбезии), используя тест РПГА. Всегда следует учитывать клинические симптомы при постановке диагноза.

Ложные положительные результаты можно наблюдать у пациентов, страдающих от проказы, инфекционного мононуклеоза или нарушений соединительной ткани.

3. Тест FTA-ABS следует применять для подтверждения результатов, поскольку им можно различить антитела классов IgG и IgM. Данный тест полезен в случае очень раннего заболевания сифилисом, когда можно получить отрицательный тест РПГА.

4. Рекомендуется применение количественного теста (например, РПП или VDRL) при мониторинге процесса лечения.

Литература

1. Rathlev T. W.H.O. VDT. RES., 1965, 77: 65.
2. Tomizawa T. and Kasamatsu S. Jap. Med. Sci. Biol. 1966, 19: 05.
3. Rathlev T. Brit. J. Vener. Dis., 1967, 43: 181.
4. Tringali G. Ann. Sc. Pav., 1970, 12: 311.
5. Uete T., Fukazawa S., Ogi K. and Takeuchi Y., Brit. J. Vener. Dis., ...

6. Garner M.F., Backhouse J.T., Daskalopoulos G. and Walsh J.L., J. Clin. Path., 1972, 26: 258-260.
7. Sequeira P.J.L. and Eldridge A.E., Brit. J. Vener. Dis., 1973, 43: 424.
8. Lesinski J., Kratch J. and Kaoziewics E., Brit. J. Vener. Dis., 1974, 50: 33.
9. O'Neill P., Warner R.W. and Nichol C.S., Brit. J. Vener. Dis., 1975, 50: 341.
10. Young H., Heinrichen C. and Robertson D.H.H., Brit. J. Vener. Dis., 1975, 50: 341.
11. Luger A., Spendlingwimmer I. W.H.O. VDT. RES., 72.284.

7. Сифилис РПР (RPR Carbon).

Предназначение и принцип метода

Тест для определения реакиновых антител в образцах сыворотки или плазмы.

При инфицировании человека *Treponema pallidum*, этиологическим фактором сифилиса, образуется, по крайней мере, два типа антител:

1 - трепонемные антитела, которые можно определить с помощью антигена FTA-ABS.

2 - нетрепонемные антитела (реагины), которые можно определить с помощью антигена РПР.

Антиген РПР, используемый в данном наборе, является модификацией антигена VDRL. Он содержит микрочастицы древесного угля для того, чтобы усилить визуальное различие между положительным и отрицательным результатами. Наличие или отсутствие видимой агглютинации указывает на наличие или отсутствие циркулирующих антител в исследованных образцах (1, 4). Реакция регистрируется визуально.

Состав

	На 100 тестов:	На 150 тестов:	На 500 тестов:
Флакон с РПР-реагентом	2 мл	3 мл	10 мл
Флакон с положительным контролем	1 мл	1 мл	1 мл
Флакон с отрицательным контролем	1 мл	1 мл	1 мл
Тестовые пластины	13	19	63
Упаковка 25 одноразовых мешалок	2	3	10
Игла	1	1	2
Пустой пластиковый раздаточный флакон	1	1	2
Инструкция	1	1	1

Необходимые, но не поставляемые материалы

Автоматические пипетки

Физиологический раствор (0,9% NaCl, только для полуколичественной методики)

Механическая мешалка-ротатор (100 оборотов/мин)

Стабильность и хранение

1. Хранить в холодильнике при температуре от 2 до 8°C.
2. Не замораживать!
3. При температуре от 2 до 8°C тест стабилен до истечения срока хранения, указанного на этикетке.

Меры предосторожности

1. Данный тест предназначен только для диагностики *in vitro* и профессионального

применения.

2. Контроли приготовлены из человеческой сыворотки или плазмы, показавшей отрицательный результат тестов на HBsAg и антитела к HCV и ВИЧ (1/2). Тем не менее, обращаться с ними следует с осторожностью, как с потенциально инфекционным материалом.

3. Чрезвычайно важно держать иглу дозатора вертикально под углом 90° к тестовой пластине. Если это условие не выполняется, то возможно занижение количества антигена из-за разбрызгивания при попадании воздуха в иглу.

4. После окончания тестирования, иглу следует извлечь, промыть дистиллированной водой и высушить на воздухе, после чего поместить ее в пластиковый футляр.

5. Не использовать компоненты после окончания срока хранения, указанного на этикетке.

Обезвреживание отходов

Все пробы следует считать потенциально инфекционными. После завершения процедуры тестирования утилизировать пробы следует с осторожностью и только после стерилизации в автоклаве или обработки 0,5 – 1% раствором гипохлорита натрия не менее 1 часа.

Подготовка реагента

Осторожно ресуспендировать РПР-реагент так, чтобы получилась хорошая взвесь, присоединить иглу к пустому раздаточному флакону и отобрать требуемое количество антигена из стеклянного флакона в пластиковый раздаточный флакон. Контроли готовы к применению.

Исследуемые образцы

Сыворотка или плазма крови

Взятие и подготовка проб

1. Взятие крови для проб осуществляется в стандартных лабораторных условиях (асептическим способом, исключая гемолиз).

2. Для тестирования пригодна свежеприготовленная сыворотка или сыворотка, которую хранили при температуре $2-8^{\circ}\text{C}$ не более 48 часов. Если анализ будет проводиться позже, необходимо заморозить образец. Замороженные образцы должны полностью оттаять и согреться до комнатной температуры перед тестированием. Загрязненные образцы и образцы сыворотки с гемолизом непригодны для анализа. Образцы плазмы следует тестировать в течение 48 часов после получения.

Процедура тестирования

Качественное определение

1. Довести все пробы и реагенты до комнатной температуры.
2. С помощью автоматической пипетки внести 50 мкл каждого образца в отдельный круг на пластине. Для каждого образца нужно использовать отдельный наконечник, который выбрасывается после использования. В два дополнительных круга внести по 1 капле каждого из двух сывороточных контролей (положительного и отрицательного).
3. Осторожно встряхнуть раздаточный флакон и, держа его вертикально, слегка сжать для удаления воздушных пузырьков из иглы и получения нормальной капли.
4. Установить иглу дозатора в вертикальное положение перпендикулярно к тестовой пластине. Слегка сжать раздаточный флакон и добавить по 1 капле антигена в каждый круг рядом с исследуемым образцом.
5. Смешать содержимое каждого круга одноразовой мешалкой и распределить смесь по всей площади круга. Использовать отдельные мешалки для каждого смешиваемого образца.
6. Поместить пластину на механическую мешалку-ротатор и мешать при скорости 100 оборотов в минуту в течение 8 минут.
7. Визуально наблюдать за образованием хлопьев под интенсивным светом лампы или ярким дневным освещением в течение минуты после снятия пластины с мешалки.

Полуколичественное определение

Приготовить серию разведений для каждого тестируемого образца, для чего внести автоматической пипеткой по 50 мкл 0,9% физиологического раствора в каждый из 8 кругов на тестовой пластине. Не размазывать разбавитель по пластине.

В первый круг добавить к физиологическому раствору 50 мкл образца и, используя тот же наконечник, смешать солевой раствор с образцом с помощью пипетирования, а затем перенести 50 мкл смеси в физраствор во втором круге.

Продолжить серию двукратных разбавлений аналогичным образом вплоть до пятого круга, и отбросить 50 мкл из последнего круга. Окончательное разбавление образца будет 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 и 1/32.

Протестировать каждое разбавление, как описано в пунктах 3-7 качественного метода.

Интерпретация результатов

Положительный: Агглютинация проявляется в течение одной минуты.

Большие агрегаты присутствуют в центре тестового круга.



Отрицательный: Агглютинация не проявляется в течение одной минуты. Углеродные частицы остаются в тонкой суспензии без видимых агрегатов.



Если в полуколичественном методе наивысшее тестируемое разбавление показало положительную реакцию, следует повторить тест, начиная с 1/16 разбавления в первом круге. В этом случае для серийного разведения сыворотки пациента необходимо использовать отрицательную контрольную сыворотку, разбавленную физраствором 1/50.

Характеристики теста

а) Чувствительность и специфичность

Аналитическая чувствительность эквивалентна чувствительности при использовании человеческой реактивной сыворотки из Центра Контроля над Болезнями (CDC).

Диагностическая чувствительность равна 86% для первичного сифилиса и 100% для вторичного сифилиса.

Диагностическая специфичность равна 98%.

Полученные при использовании этого реагента результаты не показали значительных различий при сравнении с эталонными реагентами.

б) Влияния

Гемоглобин (<10 г/л), билирубин (<20 мг/дл) и липемия (<10 г/л) не мешают работе РПР-реагента. Ревматоидный фактор (>300 МЕ/мл) может влиять на результаты, так же как и некоторые другие вещества (6).

Ограничения метода

1. Ложные отрицательные реакции могут наблюдаться при ранней первичной инфекции и поздних латентных стадиях болезни.

2. Известно о ложных положительных реакциях с антигенами кардиолипинового типа при некоторых заболеваниях, таких как инфекционный мононуклеоз, красная волчанка и вирусная пневмония. Беременность, наркотическая зависимость и аутоиммунные болезни могут также дать ложные положительные реакции.

3. Не использовать для тестирования спинномозговую жидкость.

4. Как и при любой другой диагностической процедуре, лечащий врач должен оценивать данные, полученные с помощью данного теста в свете другой клинической информации.

5. Плазма, содержащая избыточные концентрации антикоагулянтов, может дать ненадежные результаты.

Литература

1. Portnoy J., Brewer J.H. and Harris A., Pub. Health rep. (1962) 77: 645.

2. Portnoy J., Pub. Health Lab. (1965), 23: 43.
3. McGrew B.E, DuCros M.F, Stout G.W., Falcone V.H., Clin. Path. (1968), 50: 52.
4. McGrew B.E, Stout G.W., Falcone V.H., Amer.J.Clin.Tech. (1968), 34: 634.
5. Guide of clinical preventive services. 2nd Edition. U.S.Department of Health and human services, Washington, DC (1996).
6. Young D.S. Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th edition. AACCC Press. 1995.