

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»

М.Д. Хусаинов

24 04 2020 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для иммуноферментного выявления суммарных антител к *Treponema pallidum* для автоматических ИФА-анализаторов

«РекомбиБест антипаллидум-суммарные антитела-авто»

(комплект 1)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для иммуноферментного выявления суммарных антител к *Treponema pallidum* для автоматических ИФА-анализаторов «РекомбиБест антипаллидум-суммарные антитела-авто» (далее по тексту – набор) предназначен для иммуноферментного качественного определения суммарных антител к *Treponema pallidum* в сыворотке (плазме) крови и ликворе человека с использованием автоматических ИФА-анализаторов открытого типа.

Набор может быть использован для массового скрининга крови на станциях переливания крови и для диагностики сифилиса как составная часть комплекса серологических реакций.

1.2. Комплект 1 рассчитан на проведение 192 анализов, включая контроли (по 3 лунки в каждой постановке). Возможно дробное использование набора. Набор рассчитан для использования в автоматических ИФА анализаторах открытого типа (например, анализатор иммуноферментный автоматический «Лазурит» (Lazurite) с принадлежностями или анализатор иммуноферментный автоматический «Еволис» (Evolis) с принадлежностями или другие). Допускается ручная постановка анализа.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Метод определения основан на одностадийном «сэндвич» – варианте твердофазного

Инструкция составлена сотрудниками АО «Вектор-Бест»: директором по производству В.К. Ткачевым и начальником отделения Т.Г. Вяткиной

иммуноферментного анализа с применением рекомбинантных антигенов. При наличии в исследуемых образцах антител к *Treponema pallidum* они связываются с рекомбинантными антигенами, иммобилизованными на поверхности лунок планшета и входящими в состав конъюгата. Во время инкубации с раствором тетраметилбензидина происходит окрашивание раствора в лунках, содержащих образовавшиеся комплексы «антиген-антитело». Степень окраски пропорциональна концентрации антител к *Treponema pallidum* в анализируемых образцах. После остановки реакции добавлением стоп-реагента результаты ИФА регистрируются измерением оптической плотности (ОП) в лунках планшета.

2.2. Состав набора

Компонент набора (сокращение) описание	Кол-во
Планшет разборный с иммобилизованными рекомбинантными антигенами <i>Treponema pallidum</i>	2 шт.
Положительный контрольный образец (K⁺) <i>Содержит антитела к <i>Treponema pallidum</i>.</i> <i>Содержит натрия азид (0,1 %).</i>	1 фл., 1,0 мл
Отрицательный контрольный образец (K⁻) <i>Не содержит антитела к <i>Treponema pallidum</i>.</i> <i>Содержит натрия мертиолят (0,02 %), ProClin 300 (0,085 %).</i>	1 фл., 1,0 мл
Конъюгат, концентрат <i>Рекомбинантные антигены <i>Treponema pallidum</i>, меченные пероксидазой хрена.</i> <i>Содержит натрия мертиолят (0,01%), ProClin 300 (0,005 %).</i>	2 фл., по 2,5 мл
Разводящий раствор (PP) <i>Содержит фенол (0,125 %); натрия мертиолят (0,02 %).</i>	2 фл., по 20,0 мл
Тетраметилбензидин, концентрат (ТМБ, концентрат) <i>Содержит 3,3',5,5' - тетраметилбензидин (0,7 %).</i>	2 фл., по 1,5 мл
Субстратный буферный раствор (СБР)	2 фл., по 20,0 мл
Концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) <i>Содержит ProClin 300 (0,25 %).</i>	3 фл., по 28,0 мл
Стоп-реагент <i>Содержит кислоту серную (4,9 %).</i>	2 фл., по 21,0 мл
Самоклеющиеся этикетки со штрих-кодами для реагентов	1 комплект

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Диагностическая чувствительность оценивалась при клинических исследованиях:

- 303 серопозитивных образцов сыворотки (плазмы) крови и составила 100% (интервал 99%-100% с доверительной вероятностью 90%);
- 24 серопозитивных образцов ликвора и составила 100% (интервал 88%-100% с доверительной вероятностью 90%);

Диагностическая специфичность оценивалась при клинических исследованиях:

- 312 серонегативных образцов сыворотки (плазмы) крови составила 100% (интервал

99%-100% с доверительной вероятностью 90%);

- 39 серонегативных образцов ликвора и составила 100% (интервал 93%-100% с доверительной вероятностью 90%);

3.2. Аналитическая специфичность оценивалась при клинических исследованиях:

- 212 образцов сыворотки (плазмы) крови беременных женщин, пациентов с патологическими концентрациями ревматоидного фактора, HBsAg, антителами к клещевым боррелиозам, ВИЧ-1,2, вирусу гепатита С, ВПГ-1,2, *Helicobacter pylori*, *Trichomonas vaginalis*, вирусу клещевого энцефалита (вакцинированные), *Mycoplasma pneumoniae*, *Mycoplasma hominis*, *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, ЦМВ, показали 100% специфичность (интервал 99%-100% с доверительной вероятностью 90 % (0,9));

3.3. Потенциально интерферирующие вещества – триглицериды в концентрации до 40 мг/мл; билирубин в концентрации до 33 мг/мл, гемоглобин в концентрации до 5 мг/мл, белок в концентрации до 60 мг/мл – не оказывают влияния на получение правильных результатов качественного определения антител к *Treponema pallidum* в испытываемых наборах реагентов..

3.4. Воспроизводимость:

№№ образца	Воспроизводимость (К.В., %)			
	в пределах постановки, n= 22		между постановками n= 8×4	
	ОПср	К.В., %	ОПср	К.В., %
1	1,616	5,9	1,614	4,0
2	1,149	7,8	1,113	9,9
3	2,544	3,6	2,611	3,0
4	0,010	16,2	0,008	19,9

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2б (Приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).

4.2. Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом. Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

4.3 Стоп-реагент (содержит серную кислоту), концентрат ТМБ (содержит тетраметилбензидин) обладают раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента и концентрата ТМБ на кожу и слизистые необходимо промыть поражённый участок большим количеством проточной воды. Некоторые компоненты содержат натрия азид, натрия мертиолят, ProClin 300, фенол в концентрациях, указанных в п. 2.2 «Состав набора».

Все компоненты, содержащие в своем составе материалы человеческого происхождения, инактивированы.

4.4. При работе с исследуемыми и контрольными образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом. Основные правила изложены в «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР 17 января 1991 г.

4.5. При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

4.6. Дезинфекцию наборов реагентов, посуды и материалов, контактировавших с исследуемыми и контрольными образцами, следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

- Автоматический ИФА-анализатор открытого типа (например: анализатор иммуноферментный автоматический «Лазурит» (Lazurite) с принадлежностями или анализатор иммуноферментный автоматический «Еволис» (Evolis) с принадлежностями или другие);
- холодильник бытовой;
- дозаторы полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 5 до 1000 мкл;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- дезинфицирующие средства.

При постановке анализа «вручную» вместо автоматического ИФА-анализатора:

- спектрофотометр, 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 одной длине волны – 450 нм;
- термостатируемый шейкер орбитального типа, позволяющий проводить встряхивание при 400–800 об/мин и температуре (37±1) °C;
- автоматический промыватель для планшетов;

- дозаторы полуавтоматические многоканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкостей от 10 до 300 мкл;
- бумага фильтровальная лабораторная.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Требования к условиям и процедурам ведения преаналитического этапа клинических лабораторных исследований с целью исключения или ограничения влияния эндогенных, экзогенных, ятрогенных и иных факторов, мешающих правильному отражению состояния внутренней среды обследуемых пациентов в результатах клинических лабораторных исследований изложены в ГОСТ Р 53079.4-2008 «Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа».

Взятие, транспортирование и хранение исследуемого материала осуществляется согласно МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории», утвержденным Роспотребнадзором и Рекомендациям «Организация преаналитического этапа при централизации лабораторных исследований», одобренным профильной комиссией Минздрава России по клинической лабораторной диагностике 30.05.2013.

6.2. Для анализа использовать образцы сыворотки, плазмы (полученной с использованием в качестве антикоагулянтов цитрата натрия, гепарина, ЭДТА) крови и ликвора человека.

6.3. Образцы сыворотки (плазмы) крови, ликвора хранить при температуре (2–8) °С не более 5 суток или при температуре минус 18 °С и ниже, если требуется более длительное хранение. После размораживания образцы необходимо тщательно перемешать.

6.4. Инактивированные при 56 °С образцы сыворотки крови также могут быть использованы для анализа.

6.5. Образцы, содержащие взвешенные частицы, необходимо очистить центрифугированием.

7. ПОДГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

7.1. **Внимание!** *Тщательное соблюдение описанных ниже требований позволит избежать искажения результатов ИФА.*

- Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать при температуре (18-26) °С не менее 30 минут.
- Для приготовления растворов следует использовать чистую мерную посуду и автоматические дозаторы.

- При детальном использовании набора после отбора необходимого количества компонентов оставшиеся стрипы сразу упаковать в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух и плотно закрыть замок; упакованные стрипы, плотно закрытые флаконы с исходными компонентами хранить при температуре (2-8) °С, использовать в течение всего срока годности набора.

- Допускается хранение ФСБ-Т×25 и стоп-реагента при температуре (2-30) °С.

- Необходимо избегать воздействия прямого солнечного света на раствор ТМБ при подготовке и проведении ИФА.

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

- Нельзя использовать реагенты из наборов других фирм-производителей.

- Для приготовления растворов и проведения ИФА следует использовать одноразовые наконечники для дозаторов.

- Для дезинфекции посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС (четвертичных аммониевых соединений), спиртов, третичных аминов.

- В случае повторного использования посуду для конъюгата необходимо промыть проточной водой и тщательно ополоснуть дистиллированной водой, посуду для раствора ТМБ ополоснуть водой, промыть 70 % раствором этилового спирта и тщательно отполоскать дистиллированной водой.

- Дозаторы и рабочие поверхности обрабатывать только 70 % раствором этилового спирта. Не использовать перекись водорода, хлорамин.

7.2. Промывочный раствор

Тщательно перемешать содержимое флакона с ФСБ-Т×25. При выпадении осадка солей в концентрате прогреть его перед разведением при температуре (30-40) °С до полного растворения осадка.

ФСБ-Т×25 развести дистиллированной водой в 25 раз (например, содержимое 1 флакона с ФСБ-Т×25 (28,0 мл) довести дистиллированной водой до 700 мл).

Хранение: промывочный раствор хранить при температуре (2-8) °С не более 1 месяца или при температуре (18-26) °С не более 7 суток.

7.3. Приготовление раствора конъюгата в рабочем разведении.

Готовить непосредственно перед использованием.

Концентрат конъюгата в РР в соотношении 1 к 10 (например, 2,0 мл концентрата конъюгата внести во флакон с РР (20,0 мл)), тщательно перемешать до получения равномерного окрашивания, не допуская вспенивания.

Хранение: раствор конъюгата в рабочем разведении стабилен до 10 ч при температуре (18-26) °C.

7.4. Приготовление раствора ТМБ в рабочем разведении.

Внимание! Готовить непосредственно перед использованием.

Развести концентрат ТМБ в СБР в соотношении 1 к 20 (например, 1,0 мл концентрата ТМБ внести во флакон с СБР (20,0 мл)), тщательно перемешать.

Хранение: раствор ТМБ в рабочем разведении стабилен до 10 ч в защищенном от прямого солнечного света месте при температуре (18-26) °C.

7.5. Контрольные образцы: K^+ и K^- , стоп-реагент готовы к использованию.

8. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Внимание! Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдерживать при температуре (18-26) °C не менее 30 минут.

8.1. Подготовить ИФА-анализатор открытого типа к работе в соответствии с инструкцией по эксплуатации.

8.2. Ввести в программу ИФА-анализатора протокол выполнения анализа (п. 8.5-8.11), если он не был введен и сохранен ранее.

8.3. Приготовить промывочный раствор (п. 7.2), растворы конъюгата (п. 7.3) и ТМБ (п. 7.4) в рабочих разведениях.

8.4. В соответствии с инструкцией по эксплуатации ИФА-анализатора поместить в него промывочный раствор, планшет, флаконы с контрольными образцами и пробирки с исследуемыми образцами; емкости с компонентами набора.

При использовании программы автоматической идентификации предварительно наклеить соответствующие этикетки со штрих-кодами на емкости с компонентами.

8.5. Иммуноферментный анализ проводить в полном соответствии с инструкцией по эксплуатации автоматического ИФА-анализатора.

8.6. Во все лунки внести по 120 мкл конъюгата.

Затем в одну лунку планшета внести 10 мкл положительного контрольного образца (K^+), в две другие лунки – по 10 мкл отрицательного контрольного образца (K^-), в остальные лунки – по 10 мкл цельных тестируемых образцов сывороток (плазмы) или

ликвора. Сразу по окончании внесения образцов содержимое лунок планшета перемешать с использованием орбитального шейкера при 700 об/мин в течение 1 минуты.

Примечание: Возможен спектрофотометрический контроль внесения исследуемых образцов сыворотки и плазмы в лунки с конъюгатом: при длине волны 620 нм оптическая плотность в каждой из лунок с внесенным образцом должна быть больше 0,3.

8.7. Планшет инкубировать при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ **60 минут**.

8.8. По окончании инкубации промыть лунки планшета 5 раз промывочным раствором (см. п. 7.2.), чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок планшета. В каждую лунку вносить 400 мкл жидкости в процессе каждого цикла промывки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. По окончании промывки необходимо использовать крестообразную аспирацию жидкости из лунок (режим «cross-wise» или «cross aspiration»).

8.9. Во все лунки планшета внести по 100 мкл раствора ТМБ.

8.10. Планшет инкубировать в защищённом от прямого солнечного света месте при температуре $(18-26)^\circ\text{C}$ **25 минут**.

8.11. Остановить реакцию добавлением в лунки по 100 мкл стоп-реагента и измерить оптическую плотность (ОП). Время между остановкой реакции и измерением ОП не должно превышать 5 минут.

8.12. Результаты ИФА регистрировать с помощью спектрофотометра, измеряя ОП в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – в диапазоне 620-655 нм. Допускается регистрация результатов только с фильтром 450 нм.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты исследований учитывать только при соблюдении следующих условий:

- среднее значение ОП в лунках с K^- не более 0,2;
- значение ОП в лунке с K^+ не менее 0,8.

Исследуемый образец расценивать как положительный, если соответствующее ему значение ОП превышает или равно величине $\text{ОП}_{\text{крит}}$, которую вычисляют по формуле:

$$\text{ОП}_{\text{крит}} = \text{ОП}_{\text{срK}^-} + 0,2$$

где $\text{ОП}_{\text{срK}^-}$ — среднее значение ОП для K^- .

Исследуемый образец расценивать как отрицательный, если соответствующее ему значение ОП меньше величины $\text{ОП}_{\text{крит}}$,

Если ОП K^- и ОП_{иссл.обр.} имеют отрицательные значения, при расчёте $\text{ОП}_{\text{крит}}$ и анализе результатов считать их равными нулю.

Для оценки степени позитивности положительных образцов может быть рассчитан

коэффициент позитивности (КП) по формуле:

$$КП = ОП_{обр}/ОП_{крит}$$

10. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

10.1. Транспортировать изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, при температуре (2-8) °С. Допускается транспортирование при температуре до 26 °С не более 10 суток

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре (2-8) °С в течение всего срока годности в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

10.3. Срок годности набора – 24 месяца со дня выпуска. Не допускается применение наборов по истечении срока их годности.

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

10.5. Набор предназначен для однократного применения.

11. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

11.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

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

11.3. 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.

По вопросам, касающимся качества набора **«РекомбиБест антипаллидум-суммарные антитела-авто»**, обращаться:

в АО «Вектор-Бест» по адресу: 630117, г. Новосибирск-117, а/я 492,

тел. (383) 332-92-49, 227-60-30;

тел./факс (383), 332-94-47, 332-94-44.

E-mail: plkobtk@vector-best.ru

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 332-24-48.

Нач. отделения
АО «Вектор-Бест»

Т.Г. Вяткина

Директор по производству
АО «Вектор-Бест»

В.К. Ткачев

«СОГЛАСОВАНО»

Проректор по научной работе
ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России
М.П.



Т.М. Поспелова



Протипувано, пронумеровано и
екреплено печатью 10 листов.

Отв. за учет договоров НИР ФГБОУ ВО НГМУ
Минздрава России

Захарова Л.Н.

2020 г.



УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»

М.Д. Хусаинов

«24» 04 2020 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для иммуноферментного выявления суммарных антител к *Treponema pallidum* для автоматических ИФА-анализаторов

«РекомбиБест антипаллидум-суммарные антитела-авто»

(комплект 1а)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для иммуноферментного выявления суммарных антител к *Treponema pallidum* для автоматических ИФА-анализаторов «РекомбиБест антипаллидум-суммарные антитела-авто» (далее по тексту – набор) предназначен для иммуноферментного качественного определения суммарных антител к *Treponema pallidum* в сыворотке (плазме) крови и ликворе человека с использованием автоматических ИФА-анализаторов открытого типа.

Набор может быть использован для массового скрининга крови на станциях переливания крови и для диагностики сифилиса как составная часть комплекса серологических реакций.

1.2. Комплект 1а рассчитан на проведение 192 анализов, включая контроли (по 3 лунки в каждой постановке). Возможно дробное использование набора. Набор рассчитан для использования в автоматических ИФА анализаторах открытого типа (например, анализатор иммуноферментный автоматический «Лазурит» (Lazurite) с принадлежностями или анализатор иммуноферментный автоматический «Еволис» (Evolis) с принадлежностями или другие). Допускается ручная постановка анализа.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Метод определения основан на одностадийном «сэндвич» – варианте твердофазного

Инструкция составлена сотрудниками АО «Вектор-Бест»: директором по производству В.К. Ткачевым и начальником отделения Т.Г. Вяткиной

иммуноферментного анализа с применением рекомбинантных антигенов. При наличии в исследуемых образцах антител к *Treponema pallidum* они связываются с рекомбинантными антигенами, иммобилизованными на поверхности лунок планшета и входящими в состав конъюгата. Во время инкубации с раствором тетраметилбензидина происходит окрашивание раствора в лунках, содержащих образовавшиеся комплексы «антиген-антитело». Степень окраски пропорциональна концентрации антител к *Treponema pallidum* в анализируемых образцах. После остановки реакции добавлением стоп-реактанта результаты ИФА регистрируются измерением оптической плотности (ОП) в лунках планшета.

2.2. Состав набора

Компонент набора (сокращение) описание	Кол-во
Планшет разборный с иммобилизованными рекомбинантными антигенами <i>Treponema pallidum</i>	2 шт.
Положительный контрольный образец (K⁺) Содержит антитела к <i>Treponema pallidum</i> . Содержит натрия азид (0,1 %).	1 фл., 1,0 мл
Отрицательный контрольный образец (K⁻) Не содержит антитела к <i>Treponema pallidum</i> . Содержит натрия мертиолят (0,02 %), ProClin 300 (0,085 %).	1 фл., 1,0 мл
Конъюгат Рекомбинантные антигены <i>Treponema pallidum</i> , меченные пероксидазой хрена. Содержит ProClin 300 (0,05%), натрия мертиолят (0,003 %).	2 фл., по 20,0 мл
Раствор тетраметилбензидина (раствор ТМБ) Содержит 3,3',5,5' - тетраметилбензидин (0,025 %).	2 фл., по 20,0 мл
Концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) Содержит ProClin 300 (0,25 %).	3 фл., по 28,0 мл
Стоп-реактент Содержит кислоту серную (4,9 %).	2 фл., по 21,0 мл
Самоклеющиеся этикетки со штрих-кодами для реагентов	1 комплект

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Диагностическая чувствительность оценивалась при клинических исследованиях:

- 303 серопозитивных образцов сыворотки (плазмы) крови и составила 100% (интервал 99%-100% с доверительной вероятностью 90%);

- 24 серопозитивных образцов ликвора и составила 100% (интервал 88%-100% с доверительной вероятностью 90%);

Диагностическая специфичность оценивалась при клинических исследованиях:

- 312 серонегативных образцов сыворотки (плазмы) крови составила 100% (интервал 99%-100% с доверительной вероятностью 90%);

- 39 серонегативных образцов ликвора и составила 100% (интервал 93%-100% с доверительной вероятностью 90%);

рительной вероятностью 90%);

3.2. Аналитическая специфичность оценивалась при клинических исследованиях:

- 212 образцов сыворотки (плазмы) крови беременных женщин, пациентов с патологическими концентрациями ревматоидного фактора, HBsAg, антителами к клещевым боррелиозам, ВИЧ-1,2, вирусу гепатита С, ВПГ-1,2, *Helicobacter pylori*, *Trichomonas vaginalis*, вирусу клещевого энцефалита (вакцинированные), *Mycoplasma pneumoniae*, *Mycoplasma hominis*, *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, ЦМВ, показали 100% специфичность (интервал 99%-100% с доверительной вероятностью 90 % (0,9));

3.3. Потенциально интерферирующие вещества – триглицериды в концентрации до 40 мг/мл; билирубин в концентрации до 33 мг/мл, гемоглобин в концентрации до 5 мг/мл, белок в концентрации до 60 мг/мл – не оказывают влияния на получение правильных результатов качественного определения антител к *Treponema pallidum* в испытываемых наборах реагентов.

3.4. Воспроизводимость:

№№ образца	Воспроизводимость (К.В., %)			
	в пределах постановки, n= 22		между поставками n= 8×4	
	ОПср	К.В., %	ОПср	К.В., %
1	1,804	3,5	1,650	5,2
2	1,212	7,6	1,110	8,0
3	2,655	2,8	2,595	4,4
4	0,009	16,4	0,008	21,5

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 26 (Приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).

4.2. Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом. Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

4.3 Стоп-реагент (содержит серную кислоту), раствор ТМБ (содержит тетраметилбензидин) обладают раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента и раствора ТМБ на кожу и слизистые необходимо промыть поражённый участок большим количеством проточной воды. Некоторые компоненты содержат натрия азид, натрия мертиолят, ProClin 300 в концентрациях, указанных в п. 2.2 «Состав набора».

Все компоненты, содержащие в своем составе материалы человеческого происхождения, инактивированы.

4.4. При работе с исследуемыми и контрольными образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом. Основные правила изложены в «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР 17 января 1991 г.

4.5. При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

4.6. Дезинфекцию наборов реагентов, посуды и материалов, контактировавших с исследуемыми и контрольными образцами, следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

- Автоматический ИФА-анализатор открытого типа (например: анализатор иммуноферментный автоматический «Лазурит» (Lazurite) с принадлежностями или анализатор иммуноферментный автоматический «Еволис» (Evolis) с принадлежностями или другие);
- холодильник бытовой;
- дозаторы полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объёмом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 5 до 1000 мкл;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- дезинфицирующие средства.

При постановке анализа «вручную» вместо автоматического ИФА-анализатора:

- спектрофотометр, 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 одной длине волны – 450 нм;
- термостатируемый шейкер орбитального типа, позволяющий проводить встряхивание при 400–800 об/мин и температуре $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$;
- автоматический промыватель для планшетов;
- дозаторы полуавтоматические многоканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкостей от 10 до 300 мкл;

- бумага фильтровальная лабораторная.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Требования к условиям и процедурам ведения преаналитического этапа клинических лабораторных исследований с целью исключения или ограничения влияния эндогенных, экзогенных, ятрогенных и иных факторов, мешающих правильному отражению состояния внутренней среды обследуемых пациентов в результатах клинических лабораторных исследований изложены в ГОСТ Р 53079.4-2008 «Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа».

Взятие, транспортирование и хранение исследуемого материала осуществляется согласно МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории», утвержденным Роспотребнадзором, и Рекомендациям «Организация преаналитического этапа при централизации лабораторных исследований», одобренным профильной комиссией Минздрава России по клинической лабораторной диагностике 30.05.2013.

6.2. Для анализа использовать образцы сыворотки, плазмы (полученной с использованием в качестве антикоагулянтов цитрата натрия, гепарина, ЭДТА) крови и ликвора человека.

6.3. Образцы сыворотки (плазмы) крови, ликвора хранить при температуре (2–8) °С не более 5 суток или при температуре минус 18 °С и ниже, если требуется более длительное хранение. После размораживания образцы необходимо тщательно перемешать.

6.4. Инактивированные при 56 °С образцы сыворотки крови также могут быть использованы для анализа.

6.5. Образцы, содержащие взвешенные частицы, необходимо очистить центрифугированием.

7. ПОДГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

7.1. **Внимание!** *Тщательное соблюдение описанных ниже требований позволит избежать искажения результатов ИФА.*

- Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать при температуре (18-26) °С не менее 30 минут.

- Для приготовления растворов следует использовать чистую мерную посуду и автоматические дозаторы.

- При дробном использовании набора после отбора необходимого количества компонентов оставшиеся стрипы сразу упаковать в пакет с влагопоглотителем, удалить из него

воздух и плотно закрыть замок; упакованные стрипы, плотно закрытые флаконы с исходными компонентами хранить при температуре (2-8) °С, использовать в течение всего срока годности набора.

- Допускается хранение ФСБ-Т×25 и стоп-реагента при температуре (2-30) °С.

- Необходимо избегать воздействия прямого солнечного света на раствор ТМБ при подготовке и проведении ИФА.

- При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (ФСБ-Т×25; раствор ТМБ; стоп-реагент), которые взаимозаменяемы в наборах АО «Вектор-Бест».

- Нельзя использовать реагенты из наборов других фирм-производителей.

- Для приготовления растворов и проведения ИФА следует использовать одноразовые наконечники для дозаторов.

- Для дезинфекции посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС (четвертичных аммониевых соединений), спиртов, третичных аминов.

- В случае повторного использования посуды для конъюгата необходимо промыть проточной водой и тщательно ополоснуть дистиллированной водой, посуду для раствора ТМБ ополоснуть водой, промыть 70 % раствором этилового спирта и тщательно отполоскать дистиллированной водой.

- Дозаторы и рабочие поверхности обрабатывать только 70 % раствором этилового спирта. Не использовать перекись водорода, хлорамин.

7.2. Промывочный раствор

Тщательно перемешать содержимое флакона с ФСБ-Т×25. При выпадении осадка солей в концентрате прогреть его перед разведением при температуре (30-40) °С до полного растворения осадка.

ФСБ-Т×25 развести дистиллированной водой в 25 раз (например, содержимое 1 флакона с ФСБ-Т×25 (28,0 мл) довести дистиллированной водой до 700 мл).

Хранение: промывочный раствор хранить при температуре (2-8) °С не более 1 месяца или при температуре (18-26) °С не более 7 суток.

7.3. Контрольные образцы: K⁺ и K⁻, конъюгат, раствор ТМБ, стоп-реагент готовы к использованию.

8. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Внимание! Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдерживать при температуре (18-26) °C не менее 30 минут.

8.1. Подготовить ИФА-анализатор открытого типа к работе в соответствии с инструкцией по эксплуатации.

8.2. Ввести в программу ИФА-анализатора протокол выполнения анализа (п. 8.5-8.11), если он не был введен и сохранен ранее.

8.3. Приготовить промывочный раствор (п. 7.2).

8.4. В соответствии с инструкцией по эксплуатации ИФА-анализатора поместить в него промывочный раствор, планшет, флаконы с контрольными образцами и пробирки с исследуемыми образцами; емкости с компонентами набора.

При использовании программы автоматической идентификации предварительно наклеить соответствующие этикетки со штрих-кодами на емкости с компонентами.

8.5. Иммуноферментный анализ проводить в полном соответствии с инструкцией по эксплуатации автоматического ИФА-анализатора.

8.6. Во все лунки внести по 120 мкл конъюгата.

Затем в одну лунку планшета внести 10 мкл положительного контрольного образца (K^+), в две другие лунки – по 10 мкл отрицательного контрольного образца (K^-), в остальные лунки – по 10 мкл цельных тестируемых образцов сывороток (плазмы) или ликвора. Сразу по окончании внесения образцов содержимое лунок планшета перемешать с использованием орбитального шейкера при 700 об/мин в течение 1 минуты.

Примечание: Возможен спектрофотометрический контроль внесения исследуемых образцов сыворотки и плазмы в лунки с конъюгатом: при длине волны 620 нм оптическая плотность в каждой из лунок с внесенным образцом должна быть больше 0,3.

8.7. Планшет инкубировать при температуре (37±1) °C **60 минут**.

8.8. По окончании инкубации промыть лунки планшета 5 раз промывочным раствором (см. п. 7.2.), чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок планшета. В каждую лунку вносить 400 мкл жидкости в процессе каждого цикла промывки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. По окончании промывки необходимо использовать крестообразную аспирацию жидкости из лунок (режим «crosswise» или «cross aspiration»).

8.9. Во все лунки планшета внести по 100 мкл раствора ТМБ.

8.10. Планшет инкубировать в защищённом от прямого солнечного света месте при температуре (18-26) °C **25 минут**.

8.11. Остановить реакцию добавлением в лунки по 100 мкл стоп-реагента и измерить оптическую плотность (ОП). Время между остановкой реакции и измерением ОП не должно превышать 5 минут.

8.12. Результаты ИФА регистрировать с помощью спектрофотометра, измеряя ОП в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – в диапазоне 620-655 нм. Допускается регистрация результатов только с фильтром 450 нм.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты исследований учитывать только при соблюдении следующих условий:

- среднее значение ОП в лунках с K^- не более 0,2;
- значение ОП в лунке с K^+ не менее 0,8.

Исследуемый образец расценивать как положительный, если соответствующее ему значение ОП превышает или равно величине $ОП_{крит}$, которую вычисляют по формуле:

$$ОП_{крит} = ОП_{ср}K^- + 0,2$$

где $ОП_{ср}K^-$ — среднее значение ОП для K^- .

Исследуемый образец расценивать как отрицательный, если соответствующее ему значение ОП меньше величины $ОП_{крит}$,

Если ОП K^- и $ОП_{иссл.обр.}$ имеют отрицательные значения, при расчёте $ОП_{крит}$ и анализе результатов считать их равными нулю.

Для оценки степени позитивности положительных образцов может быть рассчитан коэффициент позитивности (КП) по формуле:

$$КП = ОП_{обр}/ОП_{крит}$$

10. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

10.1. Транспортировать изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, при температуре (2-8) °С. Допускается транспортирование при температуре до 26 °С не более 10 суток

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре (2-8) °С в течение всего срока годности в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

10.3. Срок годности набора – 12 месяцев со дня выпуска. Не допускается применение наборов по истечении срока их годности.

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

10.5. Набор предназначен для однократного применения.

11. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

11.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

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

11.3. 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.

По вопросам, касающимся качества набора **«РекомбиБест антипаллидум-суммарные антитела-авто»**, обращаться:

в АО «Вектор-Бест» по адресу: 630117, г. Новосибирск-117, а/я 492,

тел. (383) 332-92-49, 227-60-30;

тел./факс (383), 332-94-47, 332-94-44.

E-mail: plkobtk@vector-best.ru

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 332-24-48.

Нач. отделения
АО «Вектор-Бест»

Т.Г. Вяткина

Директор по производству
АО «Вектор-Бест»

В.К. Ткачев

«СОГЛАСОВАНО»

Проректор по научной работе
ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России

М.П.



Т.И. Поспелова



Пронумеровано, пронумеровано и
скреплено печатью 9 листов.

Отв. за учет договоров НИР ФГБОУ ВО ВНИМУ
Минздрава России

Захарова Л.Н.

24 сч 2022 г.



УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»

М.Д. Хусаинов

«24» 04 2020 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для иммуноферментного выявления суммарных антител к *Treponema pallidum* для автоматических ИФА-анализаторов «РекомбиБест антипаллидум-суммарные антитела-авто» (комплект 2/Чароит)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для иммуноферментного выявления суммарных антител к *Treponema pallidum* для автоматических ИФА-анализаторов «РекомбиБест антипаллидум-суммарные антитела-авто» (далее по тексту – набор) предназначен для иммуноферментного качественного определения суммарных антител к *Treponema pallidum* в сыворотке (плазме) крови и ликворе человека с использованием автоматических ИФА-анализаторов открытого типа.

Набор может быть использован для массового скрининга крови на станциях переливания крови и для диагностики сифилиса как составная часть комплекса серологических реакций.

1.2. Комплект 2/Чароит рассчитан на проведение 96 анализов, включая контроли (по 3 лунки в каждой постановке). Возможно дробное использование набора. Набор рассчитан для использования в анализаторе иммуноферментном автоматическом «Чароит» (Charoite) с принадлежностями.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Метод определения основан на одностадийном «сэндвич» – варианте твердофазного иммуноферментного анализа с применением рекомбинантных антигенов. При наличии в исследуемых образцах антител к *Treponema pallidum* они связываются с рекомбинантными

Инструкция составлена сотрудниками АО «Вектор-Бест»: директором по производству В.К. Ткачевым и начальником отделения Т.Г. Вяткиной

антигенами, иммобилизованными на поверхности лунок планшета и входящими в состав конъюгата. Во время инкубации с раствором тетраметилбензидина происходит окрашивание раствора в лунках, содержащих образовавшиеся комплексы «антиген-антитело». Степень окраски пропорциональна концентрации антител к *Treponema pallidum* в анализируемых образцах. После остановки реакции добавлением стоп-реагента результаты ИФА регистрируются измерением оптической плотности (ОП) в лунках планшета.

2.2. Состав набора

Компонент набора (сокращение) описание	Кол-во
Планшет разборный с иммобилизованными рекомбинантными антигенами <i>Treponema pallidum</i>	1 шт.
Положительный контрольный образец (K⁺) <i>Содержит антитела к <i>Treponema pallidum</i>.</i> <i>Содержит натрия азид (0,1 %).</i>	1 фл., 1,0 мл
Отрицательный контрольный образец (K⁻) <i>Не содержит антитела к <i>Treponema pallidum</i>.</i> <i>Содержит натрия мертиолят (0,02 %), ProClin 300 (0,085 %).</i>	1 фл., 1,0 мл
Конъюгат, концентрат <i>Рекомбинантные антигены <i>Treponema pallidum</i>, меченные пероксидазой хрена.</i> <i>Содержит натрия мертиолят (0,01 %), ProClin 300 (0,005 %).</i>	1 фл., 2,5 мл
Разводящий раствор (PP) <i>Содержит фенол (0,125 %); натрия мертиолят (0,02 %).</i>	1 фл., 20,0 мл
Тетраметилбензидин, концентрат (ТМБ, концентрат) <i>Содержит 3,3',5,5' - тетраметилбензидин (0,7 %).</i>	1 фл., 1,5 мл
Субстратный буферный раствор (СБР)	1 фл., 20,0 мл
Концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) <i>Содержит ProClin 300 (0,25 %).</i>	1 фл., 28,0 мл
Стоп-реагент <i>Содержит кислоту серную (4,9 %).</i>	1 фл., 21,0 мл
Схема расположения флаконов в штативе	1 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Диагностическая чувствительность оценивалась при клинических исследованиях:

- 303 серопозитивных образцов сыворотки (плазмы) крови и составила 100% (интервал 99%-100% с доверительной вероятностью 90%);

- 24 серопозитивных образцов ликвора и составила 100% (интервал 88%-100% с доверительной вероятностью 90%);

Диагностическая специфичность оценивалась при клинических исследованиях:

- 312 серонегативных образцов сыворотки (плазмы) крови составила 100% (интервал 99%-100% с доверительной вероятностью 90%);

- 39 серонегативных образцов ликвора и составила 100% (интервал 93%-100% с до-

рительной вероятностью 90%);

3.2. Аналитическая специфичность оценивалась при клинических исследованиях:

- 212 образцов сыворотки (плазмы) крови беременных женщин, пациентов с патологическими концентрациями ревматоидного фактора, HBsAg, антителами к клещевым боррелиозам, ВИЧ-1,2, вирусу гепатита С, ВПГ-1,2, *Helicobacter pylori*, *Trichomonas vaginalis*, вирусу клещевого энцефалита (вакцинированные), *Mycoplasma pneumoniae*, *Mycoplasma hominis*, *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, ЦМВ, показали 100% специфичность (интервал 99%-100% с доверительной вероятностью 90 % (0,9));

3.3. Потенциально интерферирующие вещества – триглицериды в концентрации до 40 мг/мл; билирубин в концентрации до 33 мг/мл, гемоглобин в концентрации до 5 мг/мл, белок в концентрации до 60 мг/мл – не оказывают влияния на получение правильных результатов качественного определения антител к *Treponema pallidum* в испытываемых наборах реагентов.

3.4. Воспроизводимость:

№№ образца	Воспроизводимость (К.В., %)			
	в пределах постановки, n= 30		между постановками n= 8×4	
	ОПср	К.В., %	ОПср	К.В., %
1	1,456	3,9	1,297	8,2
2	1,049	5,4	0,915	8,3
3	2,230	6,0	2,219	7,0
4	0,018	10,0	0,005	13,1

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2б (Приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).

4.2. Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом. Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

4.3. Стоп-реагент (содержит серную кислоту), концентрат ТМБ (содержит тетраметилбензидин) обладают раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента и концентрата ТМБ на кожу и слизистые необходимо промыть поражённый участок большим количеством проточной воды. Некоторые компоненты содержат натрия азид, натрия мертиолят, ProClin 300, фенол в концентрациях, указанных в п. 2.2. «Состав набора».

Все компоненты, содержащие в своем составе материалы человеческого происхождения, инактивированы.

4.4. При работе с исследуемыми и контрольными образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом. Основные правила изложены в «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР 17 января 1991 г.

4.5. При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

4.6. Дезинфекцию наборов реагентов, посуды и материалов, контактировавших с исследуемыми и контрольными образцами, следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

- Анализатор иммуноферментный автоматический «Чароит» (Charoite) с принадлежностями;
- холодильник бытовой;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- дезинфицирующие средства.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Требования к условиям и процедурам ведения преаналитического этапа клинических лабораторных исследований с целью исключения или ограничения влияния эндогенных, экзогенных, ятрогенных и иных факторов, мешающих правильному отражению состояния внутренней среды обследуемых пациентов в результатах клинических лабораторных исследований изложены в ГОСТ Р 53079.4-2008 «Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа».

Взятие, транспортирование и хранение исследуемого материала осуществляется согласно МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории», утвержденным Роспотребнадзором, и Рекомендациям «Организация преаналитического этапа при централизации лабораторных исследований», одобренным профильной комиссией Минздрава России по клинической лабораторной диагностике

30.05.2013.

6.2. Для анализа использовать образцы сыворотки, плазмы (полученной с использованием в качестве антикоагулянтов цитрата натрия, гепарина, ЭДТА) крови и ликвора человека.

6.3. Образцы сыворотки (плазмы) крови, ликвора хранить при температуре (2-8) °С не более 5 суток или при температуре минус 18 °С и ниже, если требуется более длительное хранение. После размораживания образцы необходимо тщательно перемешать.

6.4. Инактивированные при 56 °С образцы сыворотки крови также могут быть использованы для анализа.

6.5. Образцы, содержащие взвешенные частицы, необходимо очистить центрифугированием.

7. ПОДГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

7.1. **Внимание!** *Тщательное соблюдение описанных ниже требований позволит избежать искажения результатов ИФА.*

– Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать при температуре (18-26) °С не менее 30 минут.

– Для приготовления растворов следует использовать чистую мерную посуду.

– При дробном использовании набора после отбора необходимого количества компонентов оставшиеся стрипы сразу упаковать в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух и плотно закрыть замок; упакованные стрипы, плотно закрытые флаконы с исходными компонентами хранить при температуре (2-8) °С, использовать в течение всего срока годности набора.

– Допускается хранение ФСБ-Т×25 и стоп-реагента при температуре (2-30) °С.

– Необходимо следить за состоянием емкости для промывочного раствора и соединительных шлангов: в них не должно быть «заростов». Раз в неделю емкость для промывочного раствора и шланги промывать 70% спиртом.

– При дробном использовании набора нельзя использовать компоненты из разных наборов даже одной серии или смешивать их при объединении остатков набора, поскольку автоматический анализатор контролирует использованный объем раствора.

– Для дезинфекции посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, напри-

мер, комбинированные средства на основе ЧАС (четвертичных аммониевых соединений), спиртов, третичных аминов.

– Рабочие поверхности обрабатывать только 70 % раствором этилового спирта. Не использовать перекись водорода, хлорамин.

7.2. Промывочный раствор

Тщательно перемешать содержимое флакона с ФСБ-Т×25. При выпадении осадка солей в концентрате прогреть его перед разведением при температуре (30-40) °С до полного растворения осадка.

ФСБ-Т×25 развести дистиллированной водой в 25 раз (содержимое 1 флакона с ФСБ-Т×25 (28,0 мл) довести дистиллированной водой до 700 мл).

Хранение: промывочный раствор хранить при температуре (2-8) °С не более 1 месяца или при температуре (18-26) °С не более 7 суток.

7.3. Контрольные образцы: K⁺ и K⁻, стоп-реагент готовы к использованию.

8. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Внимание! Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдерживать при температуре (18-26) °С не менее 30 минут.

8.1. Отделить нижнюю часть штатива путем одновременного нажатия на боковые замки. Вскрыть флаконы с компонентами, сохраняя их расположение в штативе (см. схему расположения флаконов в штативе). Крышки разместить в гнездах нижней части штатива в точном соответствии с расположением соответствующих флаконов.

Внимание! Категорически запрещено менять места расположения флаконов с реагентами в штативе!

8.2. Соединить обе части штатива таким образом, чтобы боковые пазы верхней и нижней частей штатива совпали. Собранный штатив поместить в картридж штатива для реагентов таким образом, чтобы сторона со штрих-кодом располагалась в большом окошке картриджа (Руководство по эксплуатации анализатора «Чароит», п. 1.2).

8.3. Подготовить необходимое количество стрипов к работе. Оставшиеся стрипы поместить в пакет с влагопоглотителем, тщательно закрыть пакет пластиковой застежкой. Упакованные таким образом стрипы хранить при температуре (2-8) °С в течение всего срока годности набора.

8.4. Планшет с необходимым для работы количеством стрипов поместить в рамку-держатель планшетов в точном соответствии с маркировкой рамки-держателя (Руководство по эксплуатации анализатора «Чароит», п. 1.4).

8.5. Подготовить прибор к работе, как описано в Руководстве по эксплуатации

автоматического иммуноферментного анализатора «Чароит».

8.6. Перелить готовый промывочный раствор в любую из емкостей анализатора с маркировкой А, В, С и D. По запросу прибора указать, в какой именно ёмкости (маркировка) находится промывочный раствор.

Внимание! Категорически запрещено заливать промывочный раствор в емкость с маркировкой E, предназначенную для моющего раствора!

8.7. Установить в ИФА-анализатор картридж с реагентами, рамку-держатель с планшетом (по запросу) и необходимые расходные материалы: штативы с наконечниками для образцов, наконечники для реагентов, контейнеры для перемешивания реагентов (Руководство по эксплуатации анализатора «Чароит», п. 4.5).

8.8. Загрузить в ИФА-анализатор штативы с исследуемыми образцами.

8.9. Все дальнейшие манипуляции проводить в полном соответствии с Руководством по эксплуатации прибора автоматического ИФА-анализатора «Чароит».

8.10. По окончании работы, в случае дробного использования набора, флаконы с неизрасходованными реагентами плотно закрыть соответствующими крышками и хранить при температуре (2-8) °С.

9. ИНФОРМАЦИЯ О ПРОТОКОЛЕ ВЫПОЛНЕНИЯ АНАЛИЗА

9.1. Приготовление реагентов

Реагент в рабочем разведении	Концентрат реагента	Разводящий раствор	Соотношение частей концентрата и разводящего раствора
Промывочный раствор	Концентрат фосфатно- солевого буферного раство- ра с твином (ФСБ-Т×25)	Дистиллированная вода, отсутствует в составе набора	1+24
Раствор конъюгата в рабочем разведении	Конъюгат, концентрат	Разводящий раствор (РР)	1+10
Раствор ТМБ в рабочем разведении	ТМБ, концентрат	Субстратный бу- ферный раствор (СБР)	1+20

9.2. Схема ИФА

Действие	Характеристика
Прогрев компонентов набора до температу- ры (18–26) °С	30 минут

Подготовка промывочного раствора	п. 7.2, п. 9.1
Подготовка конъюгата в рабочем разведении	п. 9.1
Внесение раствора конъюгата в рабочем разведении	по 120 мкл в каждую лунку
Внесение положительного контрольного образца (K^+)	10 мкл в лунку
Внесение отрицательного контрольного образца (K^-)	по 10 мкл в 2 лунки
Внесение исследуемых образцов	по 10 мкл в лунку
Перемешивание образцов с раствором конъюгата	шейкирование при 700 об/мин, 1 минута
Возможен спектрофотометрический контроль внесения исследуемых образцов сыворотки и плазмы крови	спектрофотометрирование: основной фильтр – 620 нм, в лунках с внесенными образцами ОП > 0,3
Инкубация	(37±1) °С, 60 минут
Промывка планшета	5 раз по 400 мкл, время между заполнением и опорожнением лунок ≥ 30 сек, по окончании промывки крестообразная аспирация (режим «crosswise» или «cross aspiration»).
Подготовка ТМБ в рабочем разведении	п. 9.1
Внесение раствора ТМБ в рабочем разведении	по 100 мкл в каждую лунку
Инкубация	(18-26) °С, 25 минут,
Внесение стоп-реагента	по 100 мкл в каждую лунку.
Регистрация результатов	время между остановкой реакции и измерением ОП не должно превышать 5 минут, спектрофотометрирование: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – 620 нм
Интерпретация результатов	п. 10

9.3. Учёт результатов

Объект измерения оптической плотности (ОП)	Формулы и условия правильности ИФА
Среднее значение ОП K^-	$\leq 0,2$
ОП _{крит}	$= ОП_{ср}K^- + 0,2$
ОП K^+	$\geq 0,80$

Если хотя бы одно из условий, перечисленных выше, не выполняется, необходимо

найти ошибку, устранить и провести анализ повторно.

10. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Исследуемый образец расценивать как положительный, если соответствующее ему значение ОП превышает или равно величине $ОП_{крит}$, которую вычисляют по формуле:

$$ОП_{крит} = ОП_{срK^-} + 0,2$$

где $ОП_{срK^-}$ — среднее значение ОП для K^- .

Исследуемый образец расценивать как отрицательный, если соответствующее ему значение ОП меньше величины $ОП_{крит}$,

Если ОП K^- и $ОП_{иссл.обр.}$ имеют отрицательные значения, при расчёте $ОП_{крит}$ и анализе результатов считать их равными нулю.

Для оценки степени позитивности положительных образцов может быть рассчитан коэффициент позитивности (КП) по формуле:

$$КП = ОП_{обр}/ОП_{крит}$$

11. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

11.1. Транспортировать изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, при температуре (2–8) °С. Допускается транспортирование при температуре до 26 °С не более 10 суток.

11.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре (2–8) °С в течение всего срока годности в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

11.3. Срок годности набора – 24 месяца со дня выпуска. Не допускается применение наборов по истечении срока их годности.

11.4. Для получения надёжных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

11.5. Набор предназначен для однократного применения.

12. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

12.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

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

12.3. 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.

По вопросам, касающимся качества набора **«РекомбиБест антипаллидум-суммарные антитела-авто»**, обращаться:

в АО «Вектор-Бест» по адресу: 630117, г. Новосибирск-117, а/я 492,

тел. (383) 332-92-49, 227-60-30;

тел./факс (383), 332-94-47, 332-94-44.

E-mail: plkobtk@vector-best.ru

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 332-24-48.

Нач. отделения
АО «Вектор-Бест»

Т.Г. Вяткина

Директор по производству
АО «Вектор-Бест»

В.К. Ткачев

«СОГЛАСОВАНО»

Проректор по научной работе
ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России

М.П.



Т.И. Поспелова



Протипувано, пронумеровано и
скреплено печатью 10 листов.
Отв. за учет договоров НИР ФГБОУ ВО НГМУ
Минздрава России

Захарова Л.Н.

“24” 04 2020 г.



УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор



АО «Вектор-Бест»

М.Д. Хусаинов

2020 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для иммуноферментного выявления суммарных антител к *Treponema pallidum* для автоматических ИФА-анализаторов

«РекомбиБест антипаллидум-суммарные антитела-авто»

(комплект 2а/Чароит)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для иммуноферментного выявления суммарных антител к *Treponema pallidum* для автоматических ИФА-анализаторов «РекомбиБест антипаллидум-суммарные антитела-авто» (далее по тексту – набор) предназначен для иммуноферментного качественного определения суммарных антител к *Treponema pallidum* в сыворотке (плазме) крови и ликворе человека с использованием автоматических ИФА-анализаторов открытого типа.

Набор может быть использован для массового скрининга крови на станциях переливания крови и для диагностики сифилиса как составная часть комплекса серологических реакций.

1.2. Комплект 2а/Чароит рассчитан на проведение 96 анализов, включая контроли (по 3 лунки в каждой постановке). Возможно дробное использование набора. Набор рассчитан для использования в анализаторе иммуноферментном автоматическом «Чароит» (Charoite) с принадлежностями.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Метод определения основан на одностадийном «сэндвич» – варианте твердофазного иммуноферментного анализа с применением рекомбинантных антигенов. При наличии в исследуемых образцах антител к *Treponema pallidum* они связываются с рекомбинантными

Инструкция составлена сотрудниками АО «Вектор-Бест»: директором по производству В.К. Ткачевым и начальником отделения Т.Г. Вяткиной

антигенами, иммобилизованными на поверхности лунок планшета и входящими в состав конъюгата. Во время инкубации с раствором тетраметилбензидина происходит окрашивание раствора в лунках, содержащих образовавшиеся комплексы «антиген-антитело». Степень окраски пропорциональна концентрации антител к *Treponema pallidum* в анализируемых образцах. После остановки реакции добавлением стоп-реагента результаты ИФА регистрируются измерением оптической плотности (ОП) в лунках планшета.

2.2. Состав набора

Компонент набора (сокращение) описание	Кол-во
Планшет разборный с иммобилизованными рекомбинантными антигенами <i>Treponema pallidum</i>	1 шт.
Положительный контрольный образец (K⁺) <i>Содержит антитела к <i>Treponema pallidum</i>.</i> <i>Содержит натрия азид (0,1 %).</i>	1 фл., 1,0 мл
Отрицательный контрольный образец (K⁻) <i>Не содержит антитела к <i>Treponema pallidum</i>.</i> <i>Содержит натрия мертиолят (0,02 %), ProClin 300 (0,085 %).</i>	1 фл., 1,0 мл
Конъюгат <i>Рекомбинантные антигены <i>Treponema pallidum</i>, меченные пероксидазой хрена.</i> <i>Содержит ProClin 300 (0,05 %), натрия мертиолят (0,003 %).</i>	1 фл., 20,0 мл
Раствор тетраметилбензидина (раствор ТМБ) <i>Содержит 3,3',5,5' - тетраметилбензидин (0,025 %).</i>	1 фл., 20,0 мл
Концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) <i>Содержит ProClin 300 (0,25 %).</i>	1 фл., 28,0 мл
Стоп-реагент <i>Содержит кислоту серную (4,9 %).</i>	1 фл., 21,0 мл
Схема расположения флаконов в штативе	1 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Диагностическая чувствительность оценивалась при клинических исследованиях:

- 303 серопозитивных образцов сыворотки (плазмы) крови и составила 100% (интервал 99%-100% с доверительной вероятностью 90%);
- 24 серопозитивных образцов ликвора и составила 100% (интервал 88%-100% с доверительной вероятностью 90%);

Диагностическая специфичность оценивалась при клинических исследованиях:

- 312 серонегативных образцов сыворотки (плазмы) крови составила 100% (интервал 99%-100% с доверительной вероятностью 90%);
- 39 серонегативных образцов ликвора и составила 100% (интервал 93%-100% с доверительной вероятностью 90%);

3.2. Аналитическая специфичность оценивалась при клинических исследованиях:

- 212 образцов сыворотки (плазмы) крови беременных женщин, пациентов с патоло-

гическими концентрациями ревматоидного фактора, HBsAg, антителами к клещевым боррелиозам, ВИЧ-1,2, вирусу гепатита С, ВПГ-1,2, *Helicobacter pylori*, *Trichomonas vaginalis*, вирусу клещевого энцефалита (вакцинированные), *Mycoplasma pneumoniae*, *Mycoplasma hominis*, *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, ЦМВ, показали 100% специфичность (интервал 99%-100% с доверительной вероятностью 90 % (0,9));

3.3. Потенциально интерферирующие вещества – триглицериды в концентрации до 40 мг/мл; билирубин в концентрации до 33 мг/мл, гемоглобин в концентрации до 5 мг/мл, белок в концентрации до 60 мг/мл – не оказывают влияния на получение правильных результатов качественного определения антител к *Treponema pallidum* в испытываемых наборах реагентов.

3.4. Воспроизводимость:

№№ образца	Воспроизводимость (К.В., %)			
	в пределах по- становки, n= 30		между поста- новками n= 8×4	
	ОПср	К.В., %	ОПср	К.В., %
1	1,665	4,8	1,478	6,6
2	1,104	7,3	1,049	5,4
3	2,382	5,8	2,505	5,6
4	0,023	9,6	0,008	14,4

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2Б (Приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).

4.2. Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом. Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

4.3. Стоп-реагент (содержит серную кислоту), раствор ТМБ (содержит тетраметилбензидин) обладают раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента и раствора ТМБ на кожу и слизистые необходимо промыть поражённый участок большим количеством проточной воды. Некоторые компоненты содержат натрия азид, натрия мертиолят, ProClin 300 в концентрациях, указанных в п. 2.2. «Состав набора».

Все компоненты, содержащие в своем составе материалы человеческого происхождения, инактивированы.

4.4. При работе с исследуемыми и контрольными образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом. Основные правила изложены в «Инструкции по мерам профилактики распространения ин-

фекционных заболеваний при работе в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР 17 января 1991 г.

4.5. При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

4.6. Дезинфекцию наборов реагентов, посуды и материалов, контактировавших с исследуемыми и контрольными образцами, следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

- Анализатор иммуноферментный автоматический «Чароит» (Charoite) с принадлежностями;
- холодильник бытовой;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- дезинфицирующие средства.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Требования к условиям и процедурам ведения преаналитического этапа клинических лабораторных исследований с целью исключения или ограничения влияния эндогенных, экзогенных, ятрогенных и иных факторов, мешающих правильному отражению состояния внутренней среды обследуемых пациентов в результатах клинических лабораторных исследований изложены в ГОСТ Р 53079.4-2008 «Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа».

Взятие, транспортирование и хранение исследуемого материала осуществляется согласно МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории», утвержденным Роспотребнадзором, и Рекомендациям «Организация преаналитического этапа при централизации лабораторных исследований», одобренным профильной комиссией Минздрава России по клинической лабораторной диагностике 30.05.2013.

6.2. Для анализа использовать образцы сыворотки, плазмы (полученной с использованием в качестве антикоагулянтов цитрата натрия, гепарина, ЭДТА) крови и ликвора человека.

6.3. Образцы сыворотки (плазмы) крови, ликвора хранить при температуре (2-8) °С не более 5 суток или при температуре минус 18 °С и ниже, если требуется более длительное хранение. После размораживания образцы необходимо тщательно перемешать.

6.4. Инаktivированные при 56 °С образцы сыворотки крови также могут быть использованы для анализа.

6.5. Образцы, содержащие взвешенные частицы, необходимо очистить центрифугированием.

7. ПОДГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

7.1. **Внимание!** *Тщательное соблюдение описанных ниже требований позволит избежать искажения результатов ИФА.*

– Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать при температуре (18-26) °С не менее 30 минут.

– Для приготовления растворов следует использовать чистую мерную посуду.

– При детальном использовании набора после отбора необходимого количества компонентов оставшиеся стрипы сразу упаковать в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух и плотно закрыть замок; упакованные стрипы, плотно закрытые флаконы с исходными компонентами хранить при температуре (2-8) °С, использовать в течение всего срока годности набора.

– Допускается хранение ФСБ-Т×25 и стоп-реагента при температуре (2-30) °С.

– Необходимо следить за состоянием емкости для промывочного раствора и соединительных шлангов: в них не должно быть «заростов». Раз в неделю емкость для промывочного раствора и шланги промывать 70% спиртом.

– При детальном использовании набора нельзя использовать компоненты из разных наборов даже одной серии или смешивать их при объединении остатков набора, поскольку автоматический анализатор контролирует использованный объем раствора.

– Для дезинфекции посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС (четвертичных аммониевых соединений),

спиртов, третичных аминов.

– Рабочие поверхности обрабатывать только 70 % раствором этилового спирта. Не использовать перекись водорода, хлорамин.

7.2. Промывочный раствор

Тщательно перемешать содержимое флакона с ФСБ-Т×25. При выпадении осадка солей в концентрате прогреть его перед разведением при температуре (30-40) °С до полного растворения осадка.

ФСБ-Т×25 развести дистиллированной водой в 25 раз (содержимое 1 флакона с ФСБ-Т×25 (28,0 мл) довести дистиллированной водой до 700 мл).

Хранение: промывочный раствор хранить при температуре (2-8) °С не более 1 месяца или при температуре (18-26) °С не более 7 суток.

7.3. Контрольные образцы: K^+ и K^- , конъюгат, раствор ТМБ, стоп-реагент готовы к использованию.

8. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

***Внимание!** Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдерживать при температуре (18-26) °С не менее 30 минут.*

8.1. Отделить нижнюю часть штатива путем одновременного нажатия на боковые замки. Вскрыть флаконы с компонентами, сохраняя их расположение в штативе (см. схему расположения флаконов в штативе). Крышки разместить в гнездах нижней части штатива в точном соответствии с расположением соответствующих флаконов.

***Внимание!** Категорически запрещено менять места расположения флаконов с реагентами в штативе!*

8.2. Соединить обе части штатива таким образом, чтобы боковые пазы верхней и нижней частей штатива совпали. Собранный штатив поместить в картридж штатива для реагентов таким образом, чтобы сторона со штрих-кодом располагалась в большом окошке картриджа (*Руководство по эксплуатации анализатора «Чароит», п. 1.2*).

8.3. Подготовить необходимое количество стрипов к работе. Оставшиеся стрипы поместить в пакет с влагопоглотителем, тщательно закрыть пакет пластиковой застежкой. Упакованные таким образом стрипы хранить при температуре (2-8) °С в течение всего срока годности набора.

8.4. Планшет с необходимым для работы количеством стрипов поместить в рамку-держатель планшетов в точном соответствии с маркировкой рамки-держателя (*Руководство по эксплуатации анализатора «Чароит», п. 1.4*).

8.5. Подготовить прибор к работе, как описано в Руководстве по эксплуатации

автоматического иммуноферментного анализатора «Чароит».

8.6. Перелить готовый промывочный раствор в любую из емкостей анализатора с маркировкой А, В, С и D. По запросу прибора указать, в какой именно ёмкости (маркировка) находится промывочный раствор.

Внимание! Категорически запрещено заливать промывочный раствор в емкость с маркировкой E, предназначенную для моющего раствора!

8.7. Установить в ИФА-анализатор картридж с реагентами, рамку-держатель с планшетом (по запросу) и необходимые расходные материалы: штативы с наконечниками для образцов, наконечники для реагентов, контейнеры для перемешивания реагентов (Руководство по эксплуатации анализатора «Чароит», п. 4.5).

8.8. Загрузить в ИФА-анализатор штативы с исследуемыми образцами.

8.9. Все дальнейшие манипуляции проводить в полном соответствии с Руководством по эксплуатации прибора автоматического ИФА-анализатора «Чароит».

8.10. По окончании работы, в случае дробного использования набора, флаконы с неизрасходованными реагентами плотно закрыть соответствующими крышками и хранить при температуре (2-8) °С.

9. ИНФОРМАЦИЯ О ПРОТОКОЛЕ ВЫПОЛНЕНИЯ АНАЛИЗА

9.1. Приготовление реагентов

Реагент в рабочем разведении	Концентрат реагента	Разводящий раствор	Соотношение частей концентрата и разводящего раствора
Промывочный раствор	Концентрат фосфатно- солевого буферного раство- ра с твином (ФСБ-Т×25)	Дистиллированная вода, отсутствует в составе набора	1+24

9.2. Схема ИФА

Действие	Характеристика
Прогрев компонентов набора до температу- ры (18–26) °С	30 минут
Подготовка промывочного раствора	п. 7.2, п. 9.1
Внесение конъюгата	по 120 мкл в каждую лунку

Внесение положительного контрольного образца (K^+)	10 мкл в лунку
Внесение отрицательного контрольного образца (K^-)	по 10 мкл в 2 лунки
Внесение исследуемых образцов	по 10 мкл в лунку
Перемешивание образцов с раствором конъюгата	шейкирование при 700 об/мин, 1 минута
Возможен спектрофотометрический контроль внесения исследуемых образцов сыворотки и плазмы крови	спектрофотометрирование: основной фильтр – 620 нм, в лунках с внесенными образцами ОП > 0,3
Инкубация	(37±1) °С, 60 минут
Промывка планшета	5 раз по 400 мкл, время между заполнением и опорожнением лунок ≥ 30 сек, по окончании промывки крестообразная аспирация (режим «crosswise» или «cross aspiration»).
Внесение раствора ТМБ	по 100 мкл в каждую лунку
Инкубация	(18-26) °С, 25 минут,
Внесение стоп-реактива	по 100 мкл в каждую лунку.
Регистрация результатов	время между остановкой реакции и измерением ОП не должно превышать 5 минут, спектрофотометрирование: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – 620 нм
Интерпретация результатов	п. 10

9.3. Учёт результатов

Объект измерения оптической плотности (ОП)	Формулы и условия правильности ИФА
Среднее значение ОП K^-	$\leq 0,2$
ОП _{крит}	$= ОП_{ср}K^- + 0,2$
ОП K^+	$\geq 0,80$

Если хотя бы одно из условий, перечисленных выше, не выполняется, необходимо найти ошибку, устранить и провести анализ повторно.

10. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Исследуемый образец расценивать как положительный, если соответствующее ему значение ОП превышает или равно величине ОП_{крит}, которую вычисляют по формуле:

$$ОП_{крит} = ОП_{ср}K^- + 0,2$$

где $ОП_{срK^-}$ — среднее значение ОП для K^- .

Исследуемый образец расценивать как отрицательный, если соответствующее ему значение ОП меньше величины $ОП_{крит}$,

Если ОП K^- и ОП_{иссл.обр.} имеют отрицательные значения, при расчёте $ОП_{крит}$ и анализе результатов считать их равными нулю.

Для оценки степени позитивности положительных образцов может быть рассчитан коэффициент позитивности (КП) по формуле:

$$КП = ОП_{обр}/ОП_{крит}$$

11. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

11.1. Транспортировать изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, при температуре (2–8) °С. Допускается транспортирование при температуре до 26 °С не более 10 суток.

11.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре (2–8) °С в течение всего срока годности в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

11.3. Срок годности набора – 12 месяцев со дня выпуска. Не допускается применение наборов по истечении срока их годности.

11.4. Для получения надёжных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

11.5. Набор предназначен для однократного применения.

12. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

12.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

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

12.3. 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.

По вопросам, касающимся качества набора **«РекомбиБест антипаллидум-
суммарные антитела-авто»**, обращаться:

в АО **«Вектор-Бест»** по адресу: 630117, г. Новосибирск-117, а/я 492,

тел. (383) 332-92-49, 227-60-30;

тел./факс (383), 332-94-47, 332-94-44.

E-mail: plkobtk@vector-best.ru

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 332-24-48.

Нач. отделения
АО «Вектор-Бест»

Т.Г. Вяткина

Директор по производству
АО «Вектор-Бест»

В.К. Ткачев

«СОГЛАСОВАНО»
Проректор по научной работе
ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России
м.п.



Т.И. Пospelova



Прошнуровано, пронумеровано и
скреплено печатью 10 л/ст.ов.
Отв. за учет договоров НИР ФГБОУ ВО НГМУ
Минздрава России

Захарова Л.Н.
"24" 04 2020 г.

