



УТВЕРЖДАЮ

Заместитель генерального директора
ООО «НПО «Диагностические системы»

О.Н. Шлюндин

2018 г.



REF



96

REF



192

REF



480

REF



96

**ИНСТРУКЦИЯ
по применению**

**Набор реагентов
«ИФА-АНТИ-ЛЮИС»**

**Тест-система иммуноферментная для выявления антител
к возбудителю сифилиса**

СОДЕРЖАНИЕ

НАЗНАЧЕНИЕ	3
I. ПРИНЦИП ТЕСТА.....	3
II. СОСТАВ НАБОРА РЕАГЕНТОВ «ИФА-АНТИ-ЛЮИС» (набор 1, набор 2)	3
V. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	4
V. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.....	5
VI. УТИЛИЗАЦИЯ И УНИЧТОЖЕНИЕ.....	6
VII. НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ, НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ С НАБОРОМ РЕАГЕНТОВ.....	6
VIII. ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ.....	6
IX. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ.....	6
X. ПРОВЕДЕНИЕ КАЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА	7
XI. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ	8
XII. ОГРАНИЧЕНИЯ ТЕСТА.....	9
XIII. СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ.....	9
XIV. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА.....	10
XV. ОБЪЯСНЕНИЕ ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СИМВОЛОВ	10
Приложение.....	11

Реагент «ИФА-АНТИ-ЛЮИС» предназначен как для ручной постановки, так и для постановки ИФА-анализаторах открытого типа с возможностью дробного использования.

Выпускается в двух вариантах исполнения:

Набор 1 «ИФА-АНТИ-ЛЮИС-GM» - для одновременного выявления антител классов G и M к *Treponema pallidum*. Предусмотрено 3 формы выпуска (комплекты 1, 2 и 3, рассчитанные на 96, 192 и 480 определений, включая контрольные)¹.

Набор 2 «ИФА-АНТИ-ЛЮИС-G» - для выявления антител класса G к *Treponema pallidum*. Предусмотрена одна форма выпуска, рассчитанная на 96 определений, включая контрольные.

Все комплекты набора 1 эквивалентны по назначению, свойствам и функциональным характеристикам (аналитическая и диагностическая чувствительность и специфичность).

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «ИФА-АНТИ-ЛЮИС» Тест-система иммуноферментная для выявления антител к возбудителю сифилиса предназначен для выявления антител к *Treponema pallidum* в образцах сыворотки (плазмы) крови или ликвора человека с целью диагностики сифилитической инфекции.

Возбудителем сифилиса является бактерия *T. pallidum*. Выявление антител к *T. pallidum* играет важную роль при диагностике сифилиса, поскольку *T. pallidum* не может быть выделена из культуры клеток, а пробы для прямого определения возбудителя зачастую недоступны при латентных и поздних стадиях заболевания. В серодиагностике сифилиса используются нетрепонемные (РМП, RPR, VDRL) и трепонемные (РПГА, РИФ абс., ИФА) тесты. Иммуноферментные тесты для определения специфических антител классов G и M могут быть использованы для массового скрининга донорской крови и для дифференциальной диагностики стадий заболевания и постановки диагноза сифилиса как составляющая часть комплекса серологических реакций. После успешно проведенной терапии реактивность трепонемных тестов в большинстве случаев сохраняется.

II. ПРИНЦИП ТЕСТА

В основе теста лежит неконкурентный метод иммуноферментного анализа (ИФА), двухстадийный вариант. На первой стадии анализа антитела к *T. pallidum*, содержащиеся в исследуемых образцах, связываются с рекомбинантными антигенами, иммобилизованными на внутренней поверхности лунок полистиролового планшета. На второй стадии анализа связавшиеся антитела взаимодействуют с Конъюгатом. Количество связавшихся молекул Конъюгата прямо пропорционально количеству антител в исследуемом образце. Во время инкубации с субстратной смесью происходит окрашивание раствора в лунках. Степень окраски прямо пропорциональна концентрации антител в исследуемом образце.

III. СОСТАВ НАБОРА РЕАГЕНТОВ «ИФА-АНТИ-ЛЮИС» (набор 1, набор 2)

3.1. Состав набора:

Таблица 1

Характеристики реагентов		Форма выпуска			
		набор 1			набор 2
		комплект 1 Σ 96	комплект 2 Σ 192	комплект 3 Σ 480	Σ 96
Иммуносорбент	Планшет полистироловый 96-луночный разборный до стрипов, в лунках которого сорбированы рекомбинантные антигены-аналоги белков <i>T. pallidum</i> .	1 планшет	2 планшета	5 планшетов	1 планшет
Конъюгат GM	Концентрат (x 11). Смесью антител мыши против иммуноглобулинов G и M человека, конъюгированных с пероксидазой хрена. Прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная или светло-желтого цвета жидкость.	1 флакон 2,4 мл	1 флакон 2,4 мл	3 флакона по 2,4 мл или 2 флакона по 3,0 мл	-
Конъюгат G	Концентрат (x 11). Антитела мыши против иммуноглобулинов G человека, конъюгированные с пероксидазой хрена. Прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная или светло-желтого цвета жидкость.	-	-	-	1 флакон 2,4 мл
K+	Контрольный положительный образец, содержащий антитела к <i>T. pallidum</i> , инактивированный. Прозрачная или слегка опалесцирующая малинового цвета жидкость.	1 флакон 2,5 мл	1 флакон 2,5 мл	1 флакон 2,5 мл	1 флакон 2,5 мл
K-	Контрольный отрицательный образец, не содержащий антитела к <i>T. pallidum</i> , инактивированный. Прозрачная или слегка опалесцирующая зеленого цвета жидкость.	1 флакон 2,5 мл	1 флакон 2,5 мл	2 флакона по 2,5 мл	1 флакон 2,5 мл

Инструкция по применению «ИФА-АНТИ-ЛЮИС»

	Блок-раствор для разведения сывороток. Опаляющаяся фиолетового цвета жидкость, допустимо образование хлопьев или аморфного осадка.	1 флакон 12,0 мл	1 флакон 25,0 мл или 2 флакона по 12,0 мл	2 флакона по 25,0 мл	1 флакон 12,0 мл
К	Раствор для разведения Конъюгата. Прозрачная или слегка опаляющаяся желтого цвета жидкость, допустимо образование осадка.	1 флакон 24,0 мл	1 флакон 24,0 мл	3 флакона по 24,0 мл	1 флакон 24,0 мл
Р	Промывочный раствор. Концентрат (×25) фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т). Прозрачная или слегка опаляющаяся бесцветная или светло-желтого цвета жидкость, допустимо образование осадка, полностью растворяющегося при температуре от 35 до 39 °C и встряхивании.	1 флакон 50,0 мл	1 флакон 120,0 мл	2 флакона по 120,0 мл	1 флакон 50,0 мл
Стоп-реагент	Раствор серной кислоты (0,2 М). Прозрачная, бесцветная жидкость.	1 флакон 25,0 мл	1 флакон 50,0 мл	2 флакона по 50,0 мл	1 флакон 25,0 мл
СБ	Субстратный буферный раствор, щитратный буфер, содержащий раствор перекиси водорода. Прозрачная бесцветная жидкость.	1 флакон 25,0 мл	1 флакон 25,0 мл	3 флакона по 25,0 мл или 2 флакона по 50,0 мл	1 флакон 25,0 мл
ТМБ	Концентрат (х 11). Раствор, содержащий 3,3',5,5'-тетраметилбензидин. Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон 2,5 мл	1 флакон 2,5 мл	2 флакона по 3,5 мл или 3 флакона по 2,5 мл	1 флакон 2,5 мл

Объемы реагентов указаны на этикетках флаконов.

Набор комплектуется готовыми реагентами и концентрированными растворами. Имеется маркировка посредством штрих-кодов, а также цветовая кодировка для ряда реагентов. Цветовая кодировка реагентов – условное обозначение цвета/окраски жидких реагентов. Конъюгат GM, Конъюгат G – светло-жёлтый; K+ – малиновый; K- – зелёный.

Реагенты набора помещают в потребительскую упаковку (коробку картонную). Каждая потребительская упаковка снабжена инструкцией по применению.

3.2. Принадлежности:

набор 1

- крышки к полистироловым 96-луночным планшетами: комплект 1 (1 шт.), комплект 2 (2 шт.), комплект 3 (5 шт.) или
- пленки защитные для ИФА-планшетов: комплект 1 (2 шт.), комплект 2 (4 шт.), комплект 3 (10 шт.);
- наконечники одноразовые: комплект 1 (16 шт.), комплект 2 (32 шт.), комплект 3 (80 шт.);
- ванночки пластиковые для жидких реагентов: комплект 1 (2 шт.), комплект 2 (4 шт.), комплект 3 (10 шт.);
- пакеты полиэтиленовые с замком Zip-Lock: комплект 1 (1 шт.), комплект 2 (2 шт.), комплект 3 (3 шт.).

набор 2

- крышка к полистироловым 96-луночным планшетами (1 шт.) или
- пленки защитные для ИФА планшетов (2 шт.);
- наконечники одноразовые (16 шт.);
- ванночки пластиковые для жидких реагентов (2 шт.);
- пакет полиэтиленовый с замком Zip-Lock (1 шт.).

3.3. В комплект поставки входят: набор реагентов (дополнительно может быть укомплектован принадлежностями), инструкция по применению, паспорт.

IV. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

4.1. Диагностическая чувствительность

4.1.1. Для набора 1 «ИФА-АНТИ-ЛЮИС-GM» оценивалась при исследовании:

- 306 клинических образцов сывороток крови и составила 99,7% (95% CI: 98,2-99,9%) (305/306);
- 30 клинических образцов ликвора и составила 100% (95% CI: 88,6-100%) (30/30);
- 93 образцов сывороток крови пациентов с паст-инфекцией 100% (95% CI: 96,03-100%) (93/93);
- коммерческих панелей: «Mixed Titer Syphilis Panel» (ZeptoMetrix, США, lot 0709-272-00053), «Syphilis Mixed Titer Performance Panel PSS202» (BBI, США, lot 113187), «Syphilis Qualification Panel QSS701» (BBI, США, lot 115367) – 100%.

4.1.2. Для набора 2 «ИФА-АНТИ-ЛЮИС-G» оценивалась при исследовании:

- 231 клинического образца сывороток крови и составила 99,6% (95% CI: 97,6-99,9%) (230/231);

- 30 клинических образцов ликвора и составила 100%; (95% CI: 88,6-100%) (30/30);
- 170 образцов сывороток крови пациентов с паст-инфекцией 100%; (95% CI: 96,7-99,9%) (169/170);
- коммерческих панелей: «Syphilis Mixed Titer Performance Panel PSS202» (BBI, США, lot 113187), «Syphilis Qualification Panel QSS701» (BBI, США, lot 115367) – 100%.

Специфичность

1. Для набора 1 «ИФА-АНТИ-ЛЮИС-ГМ» оценивалась при исследовании:
 - 5012 образцов сывороток крови доноров случайной выборки, включая первичных и составила 99,8% (95% CI: 99,6-99,9%) (5001/5012).
 - 1813 перекрестно-реагирующих образцов сывороток крови человека (беременные, соматические больные, образцы, содержащие ревматоидный фактор) и составила 98,7% (95% CI: 98,0-99,1%) (1789/1813).
 - 68 образцов ликвора от лиц с исключенным диагнозом нейросифилиса и составила 100%; (95% CI: 94,7-100%) (68/68).
- 2.2. Для набора 2 «ИФА-АНТИ-ЛЮИС-Г» оценивалась при исследовании:
 - 1034 образцов сывороток крови доноров случайной выборки, включая первичных, и составила 99,8% (95% CI: 99,3-99,9%) (1032/1034).
 - 498 перекрестно-реагирующих образцов сывороток крови (беременные, соматические больные, образцы, содержащие ревматоидный фактор) и составила 99,0% (95% CI: 97,7-99,6%) (493/498).
 - 68 образцов ликвора от лиц с исключенным диагнозом нейросифилиса и составила 100%; (95% CI: 94,7-100%) (68/68).
- 4.3. Аналитическая чувствительность набора 1 «ИФА-АНТИ-ЛЮИС-ГМ»
 Данный набор показал способность выявлять 0,0047 МЕ/мл специфических антител к *T. pallidum* при тестировании Международного стандарта «WHO International Standard 1st IS for human syphilitic plasma IgG and IgM» (NIBSC, Великобритания).
- 4.4. Воспроизводимость
 Воспроизводимость оценена с использованием 3 образцов сывороток крови больных сифилисом внутри планшета и между планшетами на трех сериях наборов. Коэффициенты вариации не превысили 8,0%.
- 4.5. Эквивалентность образцов сыворотки и плазмы крови человека
 Дополнительными исследованиями коллекции положительных (n = 25) и отрицательных (n = 25) парных образцов сыворотки и плазмы была показана их эквивалентность, что позволяет отнести показатели диагностической чувствительности и специфичности к обоим видам исследуемых образцов.

V. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- 5.1. Нестерильное медицинское изделие для диагностики *in vitro*. Потенциальный риск применения набора – класс 26 (Приказ Минздрава России от 06.06.2012 г. N 4н).
- 5.2. Набор предназначен для профессионального использования в клинической лабораторной диагностике специально обученным персоналом. При работе с набором реагентов следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования к безопасности».
- 5.3. Реагенты набора не содержат вредных веществ в опасных концентрациях, за исключением реагентов, обозначенных символом «Внимание». При использовании по назначению вероятность негативного воздействия на организм незначительна. Растворы в объемах и концентрациях, представленных в наборе, не представляют опасности при вдыхании.
Меры первой помощи (при необходимости): При попадании на кожу/в глаза – промыть большим количеством воды. Загрязненную одежду снять. При необходимости обратиться за медицинской помощью.
- 5.4. Контрольные образцы К+ и К- приготовлены с использованием инаktivированных сывороток (плазм) крови человека, не содержащих HBsAg, p24 антигена ВИЧ-1, антител к ВИЧ-1,2 и HCV. Несмотря на это, эти компоненты остаются потенциально опасными, т.к. ни один метод тестирования не может гарантировать отсутствие инфекционных агентов.
- 5.5. Паспорт безопасности для Набора реагентов «ИФА-АНТИ-ЛЮИС» может быть представлен по запросу клиента.
- 5.6. Для получения надежных результатов необходимо:
 - обеспечить условия хранения набора;
 - строго соблюдать требования Инструкции по применению набора реагентов;
 - не использовать набор за пределами установленного срока годности.
- 5.7. Не использовать набор, если при вскрытии обнаружено повреждение пакета с Иммуносорбентом, протекание флаконов с жидкими реагентами.

УТИЛИЗАЦИЯ И УНИЧТОЖЕНИЕ

Отходы, образующиеся в результате использования набора и принадлежностей, относятся к медицинским отходам в соответствии со ст. 49 Федерального закона от 21.11.2011 N 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» и должны быть обезврежены в соответствии с действующими правилами и нормативами (СанПиН 2.1.7.2790-10, СП 1.3.2322-08, МУ 287-113).

I. НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ, НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ С НАБОРОМ РЕАГЕНТОВ

- Вода дистиллированная или деионизированная.
- Дозаторы пипеточные переменного объема для отбора жидкостей.
- Наконечники одноразовые для дозаторов пипеточных.
- Инкубатор микропланшетный (термостат) или термостатируемый шейкер (термошейкер) ($37,0 \pm 1,0$)°C.
- Устройство для промывания планшетов (вошер).
- Планшетный спектрофотометр (ИФА-ридер) с фильтрами 450 нм и 620-680 нм.
- Бумага фильтровальная лабораторная.
- Для постановки ИФА в автоматическом режиме - любая модель ИФА-анализатора открытого типа.

VIII. ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Сбор образцов крови человека проводить в соответствии с текущей практикой методом венопункции.

Для анализа использовать:

- неразведенные образцы плазмы крови человека, содержащие ЭДТА, цитрат натрия, гепарин;
- образцы сыворотки крови человека;
- образцы ликвора человека, полученные стандартными методами.

Во избежание гемолиза нужно как можно быстрее отделить плазму от эритроцитов или сыворотку от осадка. Образцы, содержащие агрегаты или осадок, осветлять центрифугированием при 1000-2000 об/мин (15 мин, при температуре от 2 до 8 °C).

Образцы с выраженным гемолизом, гиперлипидемией и бактериальным ростом анализу не подлежат.

Образцы можно хранить в соответствии с требованиями существующих нормативных документов. Длительное хранение допустимо при температуре не выше минус 18°C (замораживание/оттаивание не более 3 раз). Во избежание осаждения фибрина плазму размораживать в течение нескольких минут при температуре ($39,0 \pm 1,0$)°C на водяной бане.

IX. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ**9.1. Общие требования и рекомендации:**

- Нельзя использовать реагенты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме:
 - неспецифических компонентов (ПР, СБ), которые взаимозаменяемы во всех наборах реагентов производства ООО «НПО «Диагностические системы»;
 - Стоп-реагента, который может быть взаимозаменяемым в зависимости от молярности раствора.
- Рабочие растворы готовить осторожно, исключая какое-либо загрязнение. Использовать одноразовую или чистую тщательно вымытую лабораторную посуду для приготовления реагентов. Не допускать контакта металлических предметов с Конъюгатом или субстратной смесью.
- Не подвергать реагенты воздействию высокой температуры или прямого солнечного света.
- Перед использованием флаконы с жидкими реагентами перемешать, не допуская вспенивания.

9.2. Реагенты готовые к применению:

- **Иммуносорбент.** Планшет, состоящий из 12 стрипов и рамки, упакован в фольгированный пакет. Вскрыть фольгированный пакет, отступив 1 см от края пакета, и взять необходимое количество стрипов.
- **К-, К+, БР, РРК, Стоп-реагент (0,2 M).**

9.3. Реагенты, требующие предварительного приготовления:

- **Рабочий ПР.** Необходимый объем концентрата ПР ($\times 25$) развести в 25 раз соответствующим объемом воды дистиллированной или деионизированной (см. табл. № 2 и 3) и тщательно перемешать.
- **Рабочий Конъюгат ГМ и рабочий Конъюгат Г.** Необходимый объем концентрата Конъюгата ($\times 11$) развести в 11 раз соответствующим объемом РРК (см. табл. № 2 и 3), осторожно перемешать, не допуская вспенивания.

Приготовление субстратной смеси (СС). Необходимый объем концентрата ТМБ (х 11) развести в 11 раз соответствующим объемом СБ (см. табл. № 2 и 3) и тщательно перемешать. Субстратная смесь должна быть бесцветной!

Таблица 2

Количество используемых стрипов		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Рабочий ПР	ПР (x25), мл	3,0	6,0	9,0	12,0	15,0	18,0	21,0	24,0	27,0	30,0	33,0	40,0
	Вода, мл	72,0	144,0	216,0	288,0	360,0	432,0	504,0	576,0	648,0	720,0	792,0	960,0
Рабочий Конъюгат	Конъюгат GM (x11), мл	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0	1,1	1,2
	Конъюгат G (x11), мл												
СС	РРК, мл	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0
	СБ, мл	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0
	ТМБ (х 11), мл	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0	1,1	1,2

ПРОВЕДЕНИЕ КАЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА

10.1. Общие требования и рекомендации:

- Использовать валидированные дозаторы и оборудование.
- Использовать новые наконечники для каждого образца.
- Перед использованием набор реагентов выдержать не менее 30 мин при комнатной температуре.
- Перед использованием ванночки пластиковые для жидких реагентов ополоснуть водой дистиллированной (деионизированной).
- Не использовать одну и ту же ванночку пластиковую для внесения Конъюгата или субстратной смеси.
- Избегать распыливания образцов или растворов, содержащих образцы.
- Не допускать высыхания лунок планшета между отдельными операциями.
- Соблюдать требования к промывке (рекомендованное количество циклов, объем раствора при наполнении, временные интервалы, эффективность отсасывания).
- Многократные ванночки для ИФА-анализаторов сразу после работы ополоснуть водой дистиллированной (деионизированной). Затем промыть 70% раствором этилового спирта и снова ополоснуть водой дистиллированной (деионизированной).

10.2. Проведение ИФА при ручной постановке:

Этап	Процедура постановки	
	Процедура 1 (набор 1/набор 2)	Процедура 2 (набор 1)
1	Внести в лунки Иммуносорбента по 100 мкл контрольных образцов в двух повторах.	
2	В остальные лунки внести по 90 мкл БР и по 10 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови или по 50 мкл БР и 50 мкл образцов ликвора, тщательно перемешивая пипетированием. При этом в лунках с образцами сыворотки (плазмы) крови фиолетовый цвет раствора должен измениться на голубовато-зеленый, в лунках с образцами ликвора цвет не меняется.	
3	Планшет накрыть крышкой или защитной пленкой и выдержать:	
	в термостате 30 мин ($37,0 \pm 1,0$)°C.	в термостатируемом шейкере (500 об/мин) 15 мин ($37,0 \pm 1,0$) °C.
4	С помощью промывочного устройства удалить содержимое лунок в ёмкость с дезинфицирующим раствором и промыть планшет 4 раза рабочим ПР. Для этого внести рабочий ПР в лунки планшета до краев (не менее 380 мкл в лунку), выдержать 40 сек, затем удалить в ёмкость с дезинфицирующим раствором. При необходимости удалить остатки влаги путем отстукивания по сложенной в несколько слоев фильтровальной бумаге. <i>Рекомендуется использовать автоматический микропланшетный вошер. Недостаточная промывка может неблагоприятно повлиять на точность анализа.</i>	
5	Во все лунки внести по 100 мкл раствора рабочего Конъюгата.	
6	Планшет накрыть крышкой или защитной пленкой и выдержать:	
	в термостате 30 мин ($37,0 \pm 1,0$)°C.	в термостатируемом шейкере (500 об/мин) 20 мин ($37,0 \pm 1,0$)°C.
7	Удалить содержимое лунок и промыть планшет 4 раза рабочим ПР, как указано в п 4.	
8	Во все лунки внести по 100 мкл СС	
9	Планшет выдержать 20 мин в защищенном от света месте при комнатной температуре или 15 мин при температуре ($37,0 \pm 1,0$) °C.	
10	Во все лунки внести по 150 мкл Стоп-реагента и провести учет результатов при 450/620-680 нм. Допустим учет результатов при одной длине волны – 450 нм.	

Схема проведения ИФА приведена в Приложении.

Расход реагентов набора при постановке на ИФА-анализаторах

Количество используемых стрипов		4 (только для комплекта 1)	8 (только для комплекта 1)	12
Ючий ПР	ПР (x25), мл	16,0	32,0	40,0
	Вода, мл	384,0	768,0	960,0
Ючий Конъюгат	Конъюгат GM (x11), мл	0,7	1,2	1,2
	Конъюгат G (x11), мл			
	РРК, мл	7,0	12,0	12,0
	СБ, мл	7,0	12,0	12,0
	ТМБ (x11), мл	0,7	1,2	1,2

- Провести подготовку анализатора к работе согласно инструкции по эксплуатации¹.
 - Загрузить в анализатор реагенты набора, рабочие растворы в специальных контейнерах или емкостях.
 - Загрузить в анализатор исследуемые образцы (не менее 300 мкл).
 - Запустить программу проведения ИФА, адаптированную для данного набора реагентов.
 - По окончании анализа прибор выдает протокол по результатам исследования, в котором дается характеристика каждого исследуемого образца и контрольных образцов К+ и К-.
 - Далее учет результатов проводить в соответствии с п. XI.
- ¹при отсутствии в программе промывающего устройства стандартных опций, таких как придонная и перекрёстная аспирация, регулировка позиций донной аспирации, скорости промывки и силы потока наливаемой жидкости, времени замачивания и времени аспирации, а также скорости встряхивания, во избежание получения некорректных результатов допускается введение в процедуру дополнительной отмывки планшета.

Спектрофотометрический контроль внесения образцов и реагентов при постановке на ИФА-анализаторах:

- Контроль внесения БР с исследуемыми образцами рекомендуется проводить при длине волны 620 нм, критерий: ОП > 0,400 (при постановке с образцами сывороток (плазм) крови человека) и ОП > 0,200 (при постановке с образцами ликвора).
- Контроль внесения Конъюгата GM и Конъюгата G рекомендуется проводить при длине волны 450 нм, критерий: ОП > 0,100.
- Контроль внесения СС рекомендуется проводить при длине волны 405 нм, критерий: ОП > 0,050.

XI. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Реакцию учитывать, если среднее значение оптической плотности (ОП_{ср.}) в лунках с К+ составляет не менее 0,600, а среднее значение ОП растворов в лунках с К- не более 0,200.

ОП_{крит.} рассчитывают по формуле:

$$\text{ОП}_{\text{крит.}} = \text{ср. знач. ОП К-} + A,$$

где A – коэффициент, определяемый методом статистической обработки результатов постановки ИФА на предприятии-изготовителе, величину которого указывают для каждой серии в инструкции по применению, вкладываемой в коробку с набором, и в паспорте на серию.

Исследуемые образцы расценивать как положительные: если $\text{ОП} \geq (\text{ОП}_{\text{крит.}} \times 1,1)$.

Исследуемые образцы расценивать как отрицательные если $\text{ОП} \leq (\text{ОП}_{\text{крит.}} \times 0,9)$.

Если значение ОП исследуемого образца превышает значение ОП_{крит.} $\times 0,9$, но меньше значения ОП_{крит.} $\times 1,1$, тогда результат попадает в «серую зону» ($0,9 \times \text{ОП}_{\text{крит.}} < \text{ОП}_{\text{обр.}} < 1,1 \times \text{ОП}_{\text{крит.}}$).

В этом случае необходимо провести дополнительное исследование образцов на антитела к *T. pallidum* через 1-2 недели после первого забора крови. Желательно, чтобы повторно взятый образец исследовался одновременно с предыдущим («парные» образцы), что позволит с большей достоверностью оценить динамику образования специфических антител.

Определение титра антител

Набор реагентов «ИФА-АНТИ-ЛЮИС» можно использовать для определения титра антител к *T. pallidum* в образцах сыворотки (плазмы) крови человека.

Образцы сыворотки (плазмы) крови человека, при тестировании которых был получен положительный результат, могут быть использованы для полуколичественного анализа – определения титра специфических антител к *T. pallidum*. Титр антител можно определить двумя способами.

Способ 1.

1. Внести 180 мкл БР в первую лунку и 100 мкл БР в остальные лунки стрипа планшета.
2. Затем в первую лунку добавить 20 мкл образца, содержащего антитела к *T. pallidum*. Содержимое лунки тщательно перемешать осторожным пипетированием и перенести 100 мкл разведенного образца в

Инструкция по применению «ИФА-АНТИ-ЛЮИС»

шую лунку ряда, после чего содержимое этой лунки тщательно перемешать и так повторить до ряда, после перемешивания 100 мкл содержимого последней лунки стрипа отобрать и перенести в лунку с дезинфицирующим раствором.

Последующие операции выполнить в соответствии с п. X (п. 2-10). За титр антител к *T. pallidum* принимают максимальное разведение образца, при котором регистрируется положительный результат.

Способ 2.

Образцы с ОП/ОПкрит. $\leq B1$ имеют титр 1/10, а образцы $B1 < ОП/ОПкрит. < B2$ имеют титр 1/20.

Образцы с ОП/ОПкрит. $\geq B2$ необходимо развести в 100 раз. Для этого:

1. В 2 лунки планшета внести по 90 мкл БР.

2. В первую лунку добавить 10 мкл исследуемого образца (разведение в 10 раз).

3. После тщательного перемешивания содержимого лунки осторожным пипетированием 10 мкл введенного в 10 раз образца перенести во вторую лунку (разведение в 100 раз). Все последующие операции проводить в соответствии с п. X (п. 2-10).

4. Определить титр антител по таблице 4.

Примечание: допустимая погрешность определения титра по таблице соответствия составляет ± 1 титр.

Таблица 4

Соответствие величины ОП (1:100)/ОПкрит. титру антител класса G и M к *T. pallidum*

ОП (1:100)/ОПкрит	Титр антител
До B3	1/40
от B4 до B5	1/80
от B6 до B7	1/160
от B8 до B9	1/320
от B10 до B11	1/640
от B12 до B13	1/1280
от B14 до B15	1/2560
от B16	1/5120

где B1-B16 – коэффициенты, определяемые методом статистической обработки результатов ИФА на предприятии-изготовителе, величину которых указывают для каждой серии в инструкции по применению, вкладываемой в коробку с набором.

ХII. ОГРАНИЧЕНИЯ ТЕСТА

- Отрицательный результат исследования при определении антител не исключает наличия инфекции у пациента. Низкий уровень антител в таких образцах может быть вне пределов чувствительности ИФА.
- Реактивность образцов сыворотки (плазмы) крови и ликвора человека в ИФА в большинстве случаев сохраняется после проведенной терапии.
- Клинический диагноз не может основываться на результате одного теста, а должен базироваться на корреляции результатов лабораторных исследований с клиническими данными.
- Ложноположительные результаты исследования в ИФА могут наблюдаться при ВИЧ-инфекции, гепатитах, онкологических заболеваниях, хламидиозе, беременности, инфекционном мононуклеозе, лепре, аутоиммунных болезнях и наркозависимости.

ХIII. СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

13.1			Срок годности. Условия хранения набора реагентов «ИФА-АНТИ-ЛЮИС»	
Хранить в сухом, защищенном от света месте, при температуре от 2 до 8 °С. Замораживание не допускается.		Срок годности 12 месяцев. Срок годности серии указан на упаковке набора. Набор реагентов с истекшим сроком годности использованию не подлежит.		
13.2			Условия транспортирования набора реагентов «ИФА-АНТИ-ЛЮИС»	
при температуре от 2 до 8 °С.				
при температуре до 25 °С.				не более 10 сут
при температуре до 30 °С.				не более 5 сут
13.3			Условия и сроки хранения рабочих растворов (хранить в чистой, плотно закрытой емкости, в защищенном от света месте)	
Рабочий ПР		при температуре от 18 до 25 °С		не более 14 сут
		при температуре от 2 до 8 °С		не более 28 сут
Рабочий Конъюгат GM Рабочий Конъюгат G		при температуре от 18 до 25 °С.		не более 12 ч
СС		в химически чистых флаконах или специальной емкости, предназначенной для постановки на ИФА-анализаторах, при температуре от 18 до 25 °С		не более 10 ч

Инструкция по применению «ИФА-АНТИ-ЛЮИС»

Условия и сроки хранения неиспользованных реагентов набора после вскрытия

Иммуносорбент	При температуре от 2 до 8 °С. После вскрытия неиспользованные стрипы Иммуносорбента без рамки поместить в фольгированный пакет (не удаляя силикагель!) и тщательно герметизировать. Для этого край пакета следует свернуть 2-3 раза и поместить фольгированный пакет со стрипами в полиэтиленовый пакет с замком Zip-Lock. , Хранить в сухом, защищенном от света месте.	в течение 6 месяцев.
Неиспользованные жидкие реагенты набора	При температуре от 2 до 8 °С. Флаконы с реагентами плотно закрыть винтовыми крышками и хранить в упаковке производителя в сухом, защищенном от света месте.	в течение срока годности набора реагентов

IV. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

- Производитель гарантирует соответствие выпускаемого продукта требованиям нормативной и технической документации.
Безопасность и качество продукта гарантируются в течение всего срока годности.
- Рекламации на специфические и физические свойства набора направлять в адрес предприятия-изготовителя:

ООО «НПО «Диагностические системы»
603093, Россия, г. Нижний Новгород, ул. Яблонева, 22
Тел./факс: (831) 434-86-83, 8-800-555-0300
E-mail: info@npods.ru, www.npods.ru.

Для проведения расследования и получения объективных выводов по заявленной рекламации необходимо предоставление:

- 1) рекламационного набора реагентов;
- 2) всех исследованных образцов пациента;
- 3) протоколов исследований с использованием других методов с указанием серий, сроков годности;
- 4) протоколов исследований с использованием референтных тестов с указанием серий, сроков годности.

XV. ОБЪЯСНЕНИЕ ИСПОЛЗУЕМЫХ СИМВОЛОВ

	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>		Обратитесь к инструкции по применению
	Изготовитель		Температурный диапазон
	Номер по каталогу		Не допускать воздействия солнечного света
	Содержимого достаточно для проведения <i>n</i> -количества тестов (количество определений)		Беречь от влаги
	Код партии (номер серии)		Внимание
	Дата изготовления (YYYY-MM)		Вверх
	Срок годности (дата истечения срока годности в формате YYYY-MM-DD)		Хрупкое, обращаться осторожно

Директор по производству

ООО «НПО «Диагностические системы»

СОГЛАСОВАНО

Генеральный директор

ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

В.К. Пименов

И.К. Варнавичус



СХЕМА АНАЛИЗА

1	Внести	По 100 мкл К+, К-
2	Внести	По 90 мкл БР (для образцов сывороток и плазм крови) или по 50 мкл БР (для образцов ликвора)
3	Внести	По 10 мкл исследуемых образцов сывороток (плазм) крови человека или по 50 мкл образцов ликвора
4	Инкубировать	Процедура 1 (набор 1/набор 2): 30 мин, $(37,0 \pm 1,0)^{\circ}\text{C}$, термостат Процедура 2 (набор 1): 15 мин, 500 об/мин, $(37,0 \pm 1,0)^{\circ}\text{C}$, термошейкер
5	Промыть планшет	Рабочий ПР, 380 мкл, 4 раза
6	Внести	По 100 мкл рабочего Конъюгата GM / Конъюгата G
7	Инкубировать	Процедура 1 (набор 1/набор 2): 30 мин, $(37,0 \pm 1,0)^{\circ}\text{C}$, термостат Процедура 2 (набор 1): 20 мин, 500 об/мин, $(37,0 \pm 1,0)^{\circ}\text{C}$, термошейкер
8	Промыть планшет	Рабочий ПР, 380 мкл, 4 раза
9	Внести	По 100 мкл СС
10	Инкубировать	20 мин, при комнатной температуре или 15 мин, $(37,0 \pm 1,0)^{\circ}\text{C}$ в защищенном от света месте
11	Внести	По 150 мкл Стоп-реагента
12	Учет результатов	450 нм/620-680 нм или 450 нм

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 11 ЛИСТОВ

«13» 12 2018 год

Ген. Директор

ООО «ЦИРМИ-МЕДЦЕНТР»

Варнавичус Г.К.



Прошнуровано, пронумеровано и скреплено печатью

11 (одинадцать) листов(а)

цифрами

прописью

Заместитель генерального директора

Шлюндин О.Н.

личная подпись

