



УТВЕРЖДАЮ

Заместитель генерального директора
ООО «ННО «Диагностические системы»



О.Н. Шлюндин

«08» мая 2018 г.

REF



500

REF



1000

REF



500

ИНСТРУКЦИЯ по применению

**Набор реагентов «ЛЮИС-ТЕСТ»
для определения ассоциированных с сифилисом
реагиновых антител**

СОДЕРЖАНИЕ

I. НАЗНАЧЕНИЕ	3
II. ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ	3
III. ПРИНЦИП ТЕСТА	3
IV. СОСТАВ НАБОРА РЕАГЕНТОВ «ЛЮИС-ТЕСТ»	3
V. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	4
VI. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	4
VII. УТИЛИЗАЦИЯ И УНИЧТОЖЕНИЕ	5
VIII. НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ, НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ С НАБОРОМ РЕАГЕНТОВ	5
IX. ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ	5
X. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ	5
XI. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА	5
XII. ОГРАНИЧЕНИЕ ТЕСТА	7
XIII. СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ	8
XIV. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА	8
XV. ОБЪЯСНЕНИЕ ИСПОЛЪЗУЕМЫХ СИМВОЛОВ	8

Вариант исполнения 1 (набор 1) – с неокрашенным кардиолипидным антигеном, рассчитан на проведение 500 (комплект 1) и 1000 (комплект 2) определений в реакции микропреципитации ассоциированных с сифилисом реактивных антител.

Вариант исполнения 2 (набор 2) – с окрашенным кардиолипидным антигеном, рассчитан на проведение 500 определений в реакции микропреципитации ассоциированных с сифилисом реактивных антител, включая исследование контрольных образцов.

I. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «ЛЮИС-ТЕСТ» для определения ассоциированных с сифилисом реактивных антител, предназначен для определения ассоциированных с сифилисом реактивных антител в образцах сыворотки (плазмы) крови, ликвора человека и должен использоваться в клинико-диагностических лабораториях специально обученным персоналом.

II. ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ

У больных активными формами сифилитической инфекции в сыворотке (плазме) крови и, при некоторых формах, в спинномозговой жидкости появляются реактивные антитела, специфически взаимодействующие с липидными антигенами клеточной мембраны возбудителя заболевания *T. pallidum*. К регламентированным методам исследования, применяемым для диагностики сифилитической инфекции, относятся нетрепонемные тесты, предназначенные для определения реактивных антител с использованием кардиолипидного антигена: реакция микропреципитации (РМП), тест быстрого определения реактивов плазмы (Rapid Plasma Reagin Test, RPR) и другие.

Кардиолипидный антиген, входящий в состав набора реагентов «ЛЮИС-ТЕСТ», содержит кардиолипин, лецитин, холестерин, холин-хлорид, ЭДТА и тимеросал в качестве консерванта.

После успешно проведенной специфической терапии с применением антибактериальных средств у пациентов с сифилитической инфекцией наблюдается снижение содержания реактивных антител к *T. pallidum*, и обычно через несколько месяцев результаты реактивных тестов становятся отрицательными. Результаты полуколичественного определения реактивных антител (титра антител) могут быть использованы в качестве критериев оценки эффективности антибиотикотерапии больных сифилисом, излеченности и возможности снятия с клинико-диагностического наблюдения.

III. ПРИНЦИП ТЕСТА

При проведении реакции микропреципитации кардиолипидный антиген взаимодействует с присутствующими в сыворотке (плазме) крови или ликворе больных сифилисом реактивными антителами:

- с образованием белых агрегатов, наличие которых определяют визуально или с использованием лупы с двукратным увеличением. Определение проводят на предметном стекле или в реакционных лунках диаметром 1-1,2 см и глубиной не менее 0,5 см пластины из прозрачного материала (Приказ Минздрава РФ от 26.03.2001 N 87, приложение № 1) (*для набора 1*).
- с образованием визуально определяемых темных агрегатов. Определение проводят в реакции микропреципитации на тест-картах (*для набора 2*).

IV. СОСТАВ НАБОРА РЕАГЕНТОВ «ЛЮИС-ТЕСТ»

4.1. Состав набора.

Таблица 1

Характеристики реагентов		Набор 1		Набор 2
		комплект 1	комплект 2	-
КА неокрашенный	Кардиолипидный антиген, суспензия, содержащая кардиолипин, лецитин, холестерин с добавлением холин-хлорида, ЭДТА (стабилизатор), тимеросал (консервант). После тщательного перемешивания осторожным опрокидыванием флакона КА представляет собой суспензию молочно-белого цвета, при отстаивании разделяется на опалесцирующую бесцветную жидкость и осадок белого цвета	3 флакона по 5,0 мл	8 флаконов по 3,75 мл или 3 флакона по 10,00 мл	-
КА окрашенный	Кардиолипидный антиген, суспензия, содержащая кардиолипин, лецитин, холестерин с добавлением холин-хлорида, ЭДТА (стабилизатор), тимеросал (консервант), судан черный (краситель). После тщательного перемешивания осторожным опрокидыванием флакона КА представляет собой суспензию темного сине-серого цвета, при отстаивании разделяется на опалесцирующую бесцветную или голубоватую жидкость с осадком темного сине-серого цвета.	-	-	2 флакона по 5,0 мл -
К+	Положительный контрольный образец, содержащий реактивные антитела к антигенам <i>T. Pallidum</i> , инактивированный. Прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость красного цвета.	1 флакон 1,0 мл	-	1 флакон 1,0 мл

Набор комплектуется готовыми реагентами. Имеется маркировка посредством штрих-кодов, а также цветовая кодировка реагентов. Цветовая кодировка реагентов – условное обозначение цвета/окраски жидких реагентов. КА (неокрашенный) – бесцветный; КА (окрашенный) – синий; К+ – красный.

Реагенты помещают в коробку картонную или пакет полиэтиленовый, куда вкладывают инструкцию по применению.

4.2. Принадлежности: тест-карты (50 шт.), пипетка (капельница) пластмассовая для дозирования КА (1 шт.).

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

V. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диагностическая чувствительность

Диагностическая чувствительность набора реагентов оценена на 400 клинических образцах сывороток (плазм) крови человека и составила 98,5% (95% CI: 97,2-99,8 %) (394/400), что на 100% соответствует результатам теста «Syphilis RPR Test» (Human, Германия).

Диагностическая чувствительность набора реагентов оцененная на 30 клинических образцах ликвора, - 86,7% (95% CI: 70,3-94,7%) (26/30), что на 100% соответствует результатам теста «Антиген кардиолипидный для реакции микропреципитации (РМП)» (Микроген НПО ФГУП (НПО БИОМЕД), РФ).

Специфичность набора реагентов «ЛЮИС-ТЕСТ» при исследовании образцов сывороток (плазм) крови человека составила 99,0% (95% CI: 98,7-99,2%) (5280/5333), при исследовании ликвора – 100% (95% CI: 99,0-100%) (371/371) .

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.

VI. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

6.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2б (Приказ Минздрава России от 06 июня 2012 г. № 4Н).

6.2. 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».

6.3. Реагенты набора не содержат вредных веществ в опасных концентрациях. 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 на медицинской помощи.

6.4. Достоверность результатов зависит от выполнения следующих правил лабораторной практики:

- Нельзя использовать реагенты из наборов разных серий и смешивать их в процессе приготовления растворов.

6.5. Правила лабораторной практики и меры предосторожности.

- Не изменять процедуру проведения анализа.
- Не использовать реагенты после истечения срока годности, указанного на упаковке.
- Тщательно промывать лабораторную посуду.
- Не допускать высыхания реакционной среды в лунке пластины или на поверхности предметного стекла!
- После использования капельницы тщательно продезинфицировать, затем промыть водой дистиллированной или деионизированной и высушить.
- Использовать валидированные дозаторы и оборудование, новые наконечники одноразовые для каждого образца.
- Не подвергать реагенты воздействию высокой температуры или прямого солнечного света во время инкубации и хранения.
- Промывать руки после работы с набором реагентов и исследуемыми образцами.
- При работе с набором реагентов и исследуемыми образцами использовать спецодежду и одноразовые перчатки.
- В помещении с иммунодиагностическими материалами нельзя употреблять пищу, пить, курить, применять косметику.

- Необходимо избегать распыливания образцов или растворов, содержащих образцы. При распыливании немедленно дезинфицировать поверхность раствором хлорсодержащего средства, согласно инструкции по применению.
 - Отходы, содержащие биологические образцы, нужно нейтрализовать до сброса в канализацию. Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями СП 1.3.2322-08 и МУ 287-113.
 - Сыворотки крови человека, использованные при приготовлении K+, не содержат HBsAg, p24 антигена ВИЧ-1, антител к ВИЧ-1, 2 и HCV.
 - При работе с реагентами набора «ЛЮИС-ТЕСТ», исследуемыми образцами и оборудованием нужно обращаться как с потенциально опасными материалами, т.к. ни один известный метод тестирования не может гарантировать отсутствие инфекционных агентов.
- 6.6. Паспорт безопасности на набор реагентов «ЛЮИС-ТЕСТ» может быть представлен по запросу клиента.

VII. УТИЛИЗАЦИЯ И УНИЧТОЖЕНИЕ

Отходы, образующиеся в результате использования набора и принадлежностей, относятся к медицинским отходам в соответствии со ст. 49 Федерального закона № 323-ФЗ от 21.11.2011 г. «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).

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

- Предметное стекло или реакционная пластина из прозрачного материала с лунками диаметром 1-1,2 см и глубиной не менее 0,5 см.
- Дозаторы пипеточные переменного объема для отбора жидкостей.
- Наконечники одноразовые для дозаторов пипеточных.
- Шейкер с частотой колебаний 200 об/мин или ротатор с частотой колебаний (100 ± 50) об/мин.
- Бумага фильтровальная лабораторная.
- Изотонический (физиологический) раствор с содержанием натрия хлорида. Используется при контроле КА, а также при определении титра реагиновых антител в K+ и исследуемых образцах.

IX. ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Сбор образцов крови человека проводить в соответствии с текущей практикой методом венопункции. Для исследования можно использовать образцы сыворотки крови человека (как прогретые в течение 30 мин при температуре $(56,0 \pm 1,0)^{\circ}\text{C}$, так и непрогретые), образцы плазмы человека, образцы ликвора, полученные стандартными методами. Образцы, содержащие агрегаты или осадок, осветлять центрифугированием при 1000-2000 об/мин (15 мин, 2-8 $^{\circ}\text{C}$).

Образцы можно хранить в соответствии с требованиями существующих нормативных документов. Образцы сыворотки (плазмы) крови человека с выраженным гемолизом, гиперлипидемией и бактериальным ростом анализу не подлежат. Длительное хранение допустимо при температуре не выше минус 20 $^{\circ}\text{C}$ (замораживание/оттаивание не более 1 раза). Во избежание осаждения фибрина плазму размораживать в течение нескольких минут при температуре $(39,0 \pm 1,0)^{\circ}\text{C}$ на водяной бане.

X. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

Перед использованием все реагенты набора выдержать не менее 30 мин при комнатной температуре.

- **K+** (контрольный положительный образец), готовый к применению – перед использованием флакон с реагентом перемешать, не допуская вспенивания.
- **КА (кардиолипидный антиген)**, готовый к применению – перед использованием КА перемешать, осторожно опрокидывая флакон не менее 30 раз до получения однородной суспензии. Необходимое для исследования количество КА отобрать в чистый стеклянный флакон.

При использовании пипетки (капельницы) – резервуар капельницы сжать, иглу опустить в стеклянный флакон с доведенным до однородного состояния кардиолипидным антигеном (осторожным перемешиванием) и набрать необходимое количество его в капельницу.

По окончании заполнения капельницы флакон с кардиолипидным антигеном необходимо закрыть!

XI. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Примечание: Если при работе используется капельница, то перед исследованием антиген в капельнице осторожно перемешать, капельницу перевести в вертикальное положение иглой вниз, первую каплю сбросить, проверив тем самым проходимость иглы, а следующие капли нанести на поверхности лунок или кругов (не касаясь кончиком иглы поверхности круга!).

Этап	Набор 1	Набор 2
	Определение реактивных антител к <i>T. pallidum</i> (качественное исследование).	
1.	На поверхность предметного стекла или в лунки пластины дозатором пипеточным нанести 90 мкл исследуемого образца и равномерно распределить его наконечником дозатора по всей поверхности круга (лунки), после чего наконечник сбросить в емкость для дезинфекции.	На поверхность одного из кругов тест-карты дозатором пипеточным нанести 50 мкл исследуемого образца и равномерно распределить его наконечником дозатора по всей поверхности круга, после чего наконечник сбросить в емкость для дезинфекции.
1.1.	При контроле КА (проводить каждый раз в день исследования): на поверхность других лунок точно так же нанести 90 мкл К+ и 90 мкл физиологического раствора (для комплекта 1).	на поверхность других кругов тест-карты точно так же нанести 50 мкл К+ и 50 мкл физиологического раствора .
2.	На поверхность предметного стекла или в реакционные лунки пластины с исследуемыми образцами, К+ и физиологическим раствором добавить дозатором пипеточным 30 мкл гомогенной суспензии КА (при использовании капельницы – 2 капли).	На поверхность кругов тест-карты с нанесенными исследуемыми образцами, К+ и физиологическим раствором добавить дозатором пипеточным 16 мкл гомогенной суспензии КА (при использовании капельницы – 1 капля).
3.	Ингредиенты реакции перемешать осторожным покачиванием пластины, стекла или тест-карты на шейкере с частотой колебаний 200 об/мин в течение 8-10 мин или на ротаторе с частотой колебаний (100 ± 50) об/мин в течение 8 мин, после чего немедленно провести учет результатов.	
4.	Учет результатов исследования образцов и КА.	
4.1.	При исследовании образцов. <u>Результаты исследования считать положительными</u> , если в лунке пластины, стекла или на круге тест-карты с исследуемым образцом видны белые агрегаты (<i>набор 1</i>)/темные агрегаты (<i>набор 2</i>) разной величины: крупные (реакция ++++), средние (реакция +++), мелкие (реакция ++) с четкими просветлениями жидкости между ними.	
4.2.	При контроле КА. На поверхности стекла или в лунке пластины с К+ должны быть видны белые агрегаты (<i>набор 1</i>)/темные агрегаты (<i>набор 2</i>) хлопья частиц средних размеров с четкими просветлениями жидкости между ними (положительная реакция интенсивностью не менее +++). В лунках с физ. раствором, где реакционная среда должна оставаться без агрегатов и просветлений, с равномерно распределенными в ней частицами (отрицательная реакция).	
4.3.	При отрицательном результате исследования , свидетельствующем об отсутствии реактивных антител в исследуемом образце, состояние реакционной среды не изменяется. На поверхности стекла, круга или в лунке пластины с образцом наблюдается равномерное распределение частиц без образования агрегатов.	
4.4.	Образцы, показавшие в качественном исследовании положительные результаты (++++, +++) необходимо исследовать полуколичественным методом для определения титра реактивных антител.	
5.	Определение титра реактивных антител (полуколичественное исследование).	
5.1.	В лунках пластины или на поверхности стекла приготовить 2-кратные разведения исследуемых образцов на физ. растворе от 1:2 до 1:512 в соответствии с приведенной схемой постановки (см. таблицу 3).	
5.2.	Ингредиенты реакции перемешать осторожным покачиванием пластины или стекла на шейкере с частотой колебаний 200 об/мин в течение 8-10 мин или на ротаторе с частотой колебаний (100 ± 50) об/мин в течение 8 мин, после чего немедленно провести учет результатов.	
5.3.	Учет результатов провести с учетом критериев оценки, приведенных в разделе 4.	

Схема приготовления разведений исследуемых образцов

№ лунки		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Разведение			1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512
Пациенты для набора 1	Физиологический раствор, мл	.	90	90	90	90	90	90	90	90	90
	Образец, мл	90	90	.	.	.	.	.	.	.	.
	Перемешивание и перенос в последующую лунку, мл		90 →	90 →	90 →	90 →	90 →	90 →	90 →	90 →	90 удаление
Пациенты для набора 2	Физиологический раствор, мл	.	50	50	50	50	50	50	50	50	50
		50	50	.	.	.	.	.	.	.	.
	Перемешивание и перенос в последующую лунку, мл		50 →	50 →	50 →	50 →	50 →	50 →	50 →	50 →	50 удаление

Титром реакиновых антител считать максимальное разведение образца, дающее положительный результат – образование в лунке или на поверхности стекла агрегатов.

После окончания исследования остатки кардиолипинового антигена из капельницы перелить в отдельный стеклянный флакон, хранить при температуре от 2 до 8 °С и использовать до конца срока годности набора реагентов.

ХII. ОГРАНИЧЕНИЕ ТЕСТА

- Температура реагентов и образцов имеет критическое значение для результатов; температура должна быть комнатной.
- Время проведения реакции должно соответствовать заданному. Более длительное проведение реакции может привести к ложноположительным результатам из-за высыхания жидкости на поверхности круга.
- Реактивные образцы должны быть проверены в специфичном трепонемном тесте.
- Иногда наблюдаются биологические ложноположительные реакции с кардиолипиновым антигеном. Такие реакции наблюдаются у пациентов, в прошлом страдавших наркозависимостью или имеющих такие заболевания как системная красная волчанка, оспа, мононуклеоз, лепра, вирусная пневмония и др.
- Титры реакиновых антител у пациентов после лечения скрытого или позднего сифилиса или пациентов, повторно инфицированных сифилисом, не снижаются так быстро, как у пациентов на ранней стадии первичного инфицирования. В действительности у них может сохраниться низкий уровень реактивности на всю жизнь.
- Эффект прозоны наблюдается у пациентов с вторичным сифилисом. Ложноотрицательные результаты нетрепонемных тестов, возникающие за счет прозоны, могут также наблюдаться на ранних и поздних стадиях сифилиса. Нерективный образец, проявляющий прозону, слегка зернистый или «шероховатый». Такие образцы должны быть дополнительно исследованы. В этом случае необходимо приготовить разведение образца. Образец титруется до конечной точки, дающей положительную реакцию.
- Пинта, фрамбезия, беджель и другие трепонемные заболевания дают положительную реакцию в данном тесте.
- В соответствии со всеми диагностическими методами, окончательный диагноз не должен основываться на результатах одного теста, а должен базироваться на корреляции результатов нескольких тестов с клиническими данными.

ХІІІ. СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

13.1.	Условия и сроки хранения набора реагентов «ЛЮИС-ТЕСТ»	
	Хранить в сухом, защищенном от света месте, при температуре от 2 до 8 °С. Замораживание не допускается.	Срок годности 18 месяцев. Срок годности серии указан на упаковке набора. Набор с истекшим сроком годности использованию не подлежит.
13.2.	Условия и сроки транспортирования набора реагентов «ЛЮИС-ТЕСТ»:	
	при температуре от 2 до 8 °С.	
	при температуре до 25°С.	не более 10 суток
	при температуре до 30°С.	не более 5 суток
13.3.	Условия и сроки хранения неиспользованных реагентов набора после вскрытия (флаконы с реагентами плотно закрыть винтовыми крышками и хранить в сухом, защищенном от света месте).	
	КА, К+	при температуре от 2 до 8 °С. В упаковке производителя, в течение срока годности набора реагентов.

ХІV. 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. Яблоневая, д. 22,

Тел./факс: (831) 434-86-83, 467-82-15, 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 образцов кроводач пациента;
- 3) протоколов исследований с использованием других методов с указанием серии, сроков годности;
- 4) протоколов исследований с использованием референтных наборов реагентов с указанием номера серии, сроков годности.

ХV. ОБЪЯСНЕНИЕ ИСПОЛЪЗУЕМЫХ СИМВОЛОВ

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

Директор по производству

ООО «НПО «Диагностические системы»



В.К. Пименов

Прошнуровано, пронумеровано и скреплено печатью

8 (Восемь) листов(а)

цифрами

прописью

Заместитель генерального директора

Шлюндин О.Н.

личная подпись

