

«СОГЛАСОВАНО»

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по научной работе  
ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России

Генеральный директор  
ООО «ИМБИАН ЛАБ»

Т.И. Поспелова

В.В. Осипова

«10» августа 2021 г.

2021 г.

## ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ IN VITRO

**Набор реагентов для определения суммарных антител к *Treponema pallidum* (бледная трепонема) в сыворотке (плазме) крови человека методом одностадийного иммуноферментного «сэндвич» анализа «СИФ-АТ Screen», ТУ 21.20.23-010-41390295-2020**

### 1. Назначение набора

1.1. Набор реагентов для определения суммарных антител к *Treponema pallidum* (бледная трепонема) в сыворотке (плазме) крови человека методом одностадийного иммуноферментного «сэндвич» анализа «СИФ-АТ Screen», ТУ 21.20.23-010-41390295-2020 предназначен для качественного выявления иммуноглобулинов класса G (IgG), класса M (IgM) и класса A (IgA) к антигенам p15, p17, p47 и tмрa *Treponema Pallidum* в сыворотке и плазме (с ЭДТА, гепарином, цитратом натрия) крови человека методом одностадийного иммуноферментного «сэндвич» анализа.

Набор реагентов «СИФ-АТ Screen» рекомендуется применять:

- как вспомогательное средство диагностики сифилиса;
- мониторинга эпидемиологической ситуации среди населения.

Только для диагностики *in vitro*.

1.2. Область применения - клиническая лабораторная диагностика.

1.3. Набор реагентов «СИФ-АТ Screen» предназначен для профессионального применения. Потенциальный потребитель: профессиональная квалификационная группа "Средний медицинский и фармацевтический персонал не ниже 2 квалификационного уровня, профессиональная квалификационная группа "Врачи и провизоры" всех уровней (Приказ МЗ РФ № 526 от 06.08.2007).

### 2. Характеристика изделия

2.1. Состав набора реагентов «СИФ-АТ Screen»:

Т а б л и ц а 1. Состав набора реагентов «СИФ-АТ Screen»

| Название компонента | Описание компонента                                                                                                                                                                                                                           | Комплект 1 | Комплект 2 | Комплект 3 |
|---------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|------------|------------|
| Иммуно-сорбент      | Запаянный в фольгированный пакет 96-луночный разборный полистироловый планшет для иммунологических реакций с плоским дном (12 стрипов по 8 лунок) с сорбированным рекомбинантными антигенами p15, p17, p47 и tмрa <i>Treponema pallidum</i> . | 1 шт.      | 2 шт.      | 5 шт.      |

|                                              |                                                                                                                                                                                                     |                       |                        |                        |
|----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|
| <b>K(+)</b>                                  | Инактивированный положительный контрольный образец на основе сыворотки крови человека, содержащий антитела к <i>Treponema pallidum</i> . Готов к применению. Прозрачная жидкость желтого цвета      | 1 флакон<br>(0,4 мл)  | 2 флакона<br>(0,4 мл)  | 1 флакон<br>(2,0 мл)   |
| <b>K(-)</b>                                  | Инактивированный отрицательный контрольный образец на основе сыворотки крови человека, не содержащий антитела к <i>Treponema pallidum</i> . Готов к применению. Прозрачная жидкость синего цвета    | 1 флакон<br>(0,8 мл)  | 2 флакона<br>(0,8 мл)  | 1 флакон<br>(4,0 мл)   |
| <b>ФСБ-Т (x26)</b>                           | Концентрат промывочного раствора, 26-кратный. Фосфатно-солевой буферный раствор с твином. Слегка опалесцирующая, бесцветная жидкость, возможно выпадение осадка. Требуется разведение               | 1 флакон<br>(30,0 мл) | 2 флакона<br>(30,0 мл) | 1 флакон<br>(250,0 мл) |
| <b>РК</b>                                    | Раствор конъюгата. Смесь рекомбинантных антигенов p15, p17, p47 и tмра <i>Treponema pallidum</i> , конъюгированные с пероксидазой хрена. Прозрачная жидкость зеленого цвета. Готов к использованию. | 1 флакон<br>(10,0 мл) | 2 флакона<br>(10,0 мл) | 1 флакон<br>(50,0 мл)  |
| <b>ТМБ(x11)</b>                              | Концентрат ТМБ, 11 кратный. Прозрачная бесцветная жидкость                                                                                                                                          | 1 флакон<br>(1,3 мл)  | 2 флакона<br>(1,3 мл)  | 1 флакон<br>(6,1 мл)   |
| <b>РРТ</b>                                   | Раствор для разведения ТМБ. Прозрачная бесцветная жидкость                                                                                                                                          | 1 флакон<br>(13,0 мл) | 2 флакона<br>(13,0 мл) | 1 флакон<br>(61,0 мл)  |
| <b>Стоп-реагент</b>                          | Прозрачная бесцветная жидкость. Готов к использованию                                                                                                                                               | 1 флакон<br>(7,0 мл)  | 2 флакона<br>(7,0 мл)  | 1 флакон<br>(31,0 мл)  |
| Пленка для заклеивания планшета              |                                                                                                                                                                                                     | 3 шт.                 | 6 шт.                  | 15 шт.                 |
| Инструкция по использованию набора реагентов |                                                                                                                                                                                                     | 1 шт.                 | 1 шт.                  | 1 шт.                  |

## 2.2. Число анализируемых проб

Набор реагентов рассчитан на 96 определений (комплект 1), 192 определения (комплект 2) и 480 определений (комплект 3) включая контрольные образцы, с использованием анализатора автоматического иммуноферментного открытого типа или с помощью ручной постановки анализа.

Возможны отдельные независимые постановки анализа с необходимым количеством стрипов Иммуносорбента.

## 2.3. Принцип метода

Принцип действия набора реагентов – одностадийный иммуноферментный «сэндвич» анализ. На поверхности лунок полистиролового планшета сорбированы рекомбинантные антигены p15, p17, p47 и tмра *Treponema pallidum*. В лунки вносятся контрольные и анализируемые образцы, а затем раствор конъюгата содержащий смесь рекомбинантных антигенов p15, p17, p47 и tмра *Treponema pallidum*, конъюгированных с пероксидазой хрена. При наличии в образцах специфических антител к антигенам *Treponema pallidum* образуется

комплекс антиген-антитело-антиген-пероксидаза хрена. При добавлении рабочего раствора ТМБ в результате ферментативной реакции содержимое лунок планшета окрашивается. Ферментативная реакция останавливается внесением **Стоп-реагента**. Интенсивность окрашивания (оптическая плотность), пропорциональная количеству антител к антигенам *Treponema pallidum* в анализируемом образце, регистрируется с помощью спектрофотометра.

### **3. Аналитические характеристики**

#### **3.1. Чувствительность набора реагентов**

Чувствительность набора реагентов «СИФ-АТ Screen» при исследовании на контрольной панели сывороток «Антипаллидум-контрольная панель сывороток» (АО «Вектор-Бест», Россия, кат. D-1840; РУ № ФСР 2009/05494 от 25.03.2017) составляет 100%.

#### **3.2. Специфичность набора реагентов**

Специфичность набора реагентов «СИФ-АТ Screen» при исследовании на контрольной панели сывороток «Антипаллидум-контрольная панель сывороток» (АО «Вектор-Бест», Россия, кат. D-1840; РУ № ФСР 2009/05494 от 25.03.2017) составляет 100%.

#### **3.3. Повторяемость**

В рамках проведения внутренних испытаний повторяемость определялась для трех положительных образцов в 30 повторях на девяти сериях набора реагентов «СИФ-АТ Screen». Внутрисерийный и межсерийный коэффициенты вариации измерения ОП не превысили 8 %.

В рамках проведения технических испытаний повторяемость определялась для восьми повторов K(+). Коэффициент вариации измерения оптической плотности K(+) в восьми повторях на наборе реагентов не превысил 8 %.

В рамках проведения клинических испытаний повторяемость определялась для 6 образцов сыворотки крови и 6 образцов плазмы крови человека. Внутрисерийный коэффициент вариации результатов образцов каждого типа в 10 повторях одной серии не превышает 8 %. Межсерийный коэффициент вариации результатов в одном и том же образце для каждого типа образца на наборе реагентов «ВГС-АТ Подтверждающий» не превысил 8 %.

#### **3.4. Воспроизводимость**

Для определения воспроизводимости анализа была проведена оценка результатов повторяемости анализа в трех лабораториях. Внутрисерийный и межсерийный коэффициенты вариации результатов набора реагентов «СИФ-АТ Screen» при исследовании положительных образцов, содержащих антитела к сифилису не превышает 8,0 %.

#### **3.5. Правильность**

Правильность определения положительного контроля в ходе проведения технических испытаний набора реагентов составила 100%.

#### **3.6. Перекрестная реактивность**

В рамках клинических испытаний перекрестную реактивность набора реагентов изучали на 185 заведомо отрицательных сыворотках крови человека из хранилища крови ФИЦ ФТМ, не содержащих антитела к *Treponema pallidum* и содержащих антитела к различным инфекционным агентам – вирусу гепатита В, вирусу гепатита С, ВИЧ-1,2, туберкулезу; а также содержащие ревматоидный фактор и от беременных женщин.

Результаты ИФА показали, что ложноположительные результаты при применении набора отсутствуют.

#### **3.7. Интерферирующие вещества**

В рамках клинических испытаний оценку влияния интерферирующих веществ на результат анализа набора «СИФ-АТ Screen» проводили на образцах сыворотки крови человека, содержащих и не содержащих антитела к *Treponema pallidum*.

На результат анализа не оказывают влияние гемоглобин (до 300,0 г/л), билирубин (до 300,0 мг/л), холестерин (до 4,0 г/л), общий белок (до 150,0 г/л), глюкоза (до 2,0 г/л), триглицериды (до 10,0 г/л), этанол (2,0 г/л), молочная кислота (до 400,0 мг/л) и мочеви́на (до 800,0 мг/л) в клинических образцах.

### **3.8. Эквивалентность**

В рамках клинических испытаний оценку эквивалентности результатов анализа набора «СИФ-АТ Screen», полученных при постановке анализа на сыворотке и плазме крови человека (с гепарином, цитратом натрия и ЭДТА), полученных от одного и того же пациента, содержащих и не содержащих антитела к сифилису, методом ИФА при постановке по процедуре №1 (термошейкер) и процедуре №2 (термостат).

### **3.9. Стабильность**

В рамках внутренних испытаний проведена оценка стабильности для установления срока годности и условий хранения набора «СИФ-АТ Screen».

В результате установлено, набор «СИФ-АТ Screen» - сохраняет стабильность при температуре хранения от 2 до 8 °С в течение срока годности (24 мес.) и в течение 1 мес. после окончания срока годности; сохраняет стабильность после транспортировки при температуре от 9 до 28 °С в течении 7 дней и дальнейшего хранения при температуре от 2 до 8 °С в течение срока годности (24 мес.) и в течение 1 мес. после окончания срока годности; сохраняет стабильность после вскрытия компонентов набора реагентов и дальнейшем хранении их при температуре от 2 до 8 °С в течение 24 месяцев. Воздействие температуры не выше 28 °С в течение 7 суток не влияет на характеристики набора реагентов. Допускается транспортирование при температуре не выше 28 °С в течение 7 суток. Рабочий промывочный раствор ФСБ-Т хранится в течение 3 суток при температуре от 18 до 28 °С или 30 суток при температуре от 2 до 8 °С. Рабочий раствор ТМБ хранится не более 60 минут при температуре от 18 до 28 °С.

### **3.10. Диагностическая чувствительность набора реагентов**

В ходе клинико-лабораторных испытаний диагностическую чувствительность выявления антител к *Treponema pallidum* определяли на 222 положительных образцах, показана 100 % чувствительность (ДИ 95%: 98,66% - 100%).

### **3.11. Диагностическая специфичность набора реагентов**

В ходе клинико-лабораторных испытаний диагностическую специфичность выявления антител к *Treponema pallidum* определяли на 360 отрицательных образцах, показана 100 % специфичность (ДИ 95%: 99,17% - 100%).

## **4. Меры предосторожности**

4.1. Потенциальный риск применения набора реагентов по Номенклатурной классификации медицинских изделий, утвержденной Приказом Минздрава Российской Федерации № 4н от 6 июня 2012 года (в редакции Приказа Минздрава России от 25.09.2014 N 557н) – класс 2б.

4.2. Набор реагентов предназначен только для профессионального использования. Работу следует проводить в специально оборудованном помещении лаборатории, отвечающей требованиям СП 1.3.2322 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV группы патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней». При работе с набором реагентов требуется соблюдать «Инструкцию по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденную Минздравом СССР 17 января 1991 года; ГОСТ Р 52905 (ИСО 15190:2003) «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

4.3. Так как контрольные и анализируемые образцы, компоненты набора реагентов являются потенциально инфицированным биоматериалом, то при работе с набором реагентов

необходимо использовать индивидуальные средства защиты: халат, головной убор, резиновые или пластиковые перчатки, специальную обувь, защитные очки или щиток).

4.4. Обрабатывать руки после работы с набором реагентов и образцами в соответствии с действующей нормативной документацией.

4.5. Сыворотка (плазма) крови человека, использованная для приготовления положительного контроля, инаktivирована нагреванием при температуре  $(56 \pm 1)^\circ\text{C}$  в течение 3 ч, содержит антитела к *Treponema Pallidum* человека и не содержат p24 ВИЧ-1, HBsAg, антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2 и ВГС.

4.6. Сыворотка (плазма) крови человека, использованная для приготовления отрицательного контроля, инаktivирована нагреванием при температуре  $(56 \pm 1)^\circ\text{C}$  в течение 3 ч, не содержит антитела к *Treponema Pallidum*, антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2, ВГС, p24 ВИЧ-1 и HBsAg.

4.7. В состав компонентов **K(+)**, **K(-)**, **РК**, **ТМБ(x11)**, **РРТ**, **ФСБ-Т(x26)** входят консерванты в концентрациях, являющихся нетоксичными. **K(+)** содержит 0,1% Проклина 300, **K(-)** – 0,1% Проклина 300; **РК** – 0,1% фенола; **РРТ** – 0,03% бензоата натрия; **ФСБ-Т(x26)** – 0,2% бензоата натрия. Все реактивы, входящие в состав компонентов набора реагентов в используемых концентрациях, являются нетоксичными.

4.8. **Стоп-реагент** обладает раздражающим действием, за счет кислоты серной входящей в состав. При работе избегать попадания **Стоп-реагента** на кожу и слизистые. В случае попадания промыть пораженный участок большим количеством проточной воды. Все компоненты, входящие в состав набора реагентов, предназначены только для диагностики «in vitro». Все реактивы в используемых концентрациях, входящие в состав компонентов набора реагентов – нетоксичные.

4.9. Нельзя пипетировать растворы ртом.

4.10. Все промывные растворы следует собирать в специальный контейнер и обрабатывать дезинфицирующими средствами, разрешенными для применения на территории РФ в установленном порядке.

4.11. Все твердые отходы следует собирать в специальный контейнер, обеззараживать в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемиологических (профилактических) мероприятий».

4.12. Лабораторную посуду многоразового использования и расходные материалы, контактирующие с исследуемыми и контрольными образцами, следует обеззараживать с использованием дезинфицирующих средств, не содержащих активный кислород и хлор, оказывающих негативное воздействие на качество анализа.

4.13. Инструменты, оборудование, а также рабочие поверхности столов необходимо протирать 70 % раствором этилового спирта.

## **5. Обеспечение качества исследований**

5.1. Выполнять процедуру анализа следует в строгом соответствии с инструкцией, прилагаемой к набору реагентов.

5.2. Не использовать реагенты с истекшим сроком годности.

5.3. Не использовать реагенты других производителей.

5.4. Нельзя использовать реагенты из наборов разных серий или смешивать их в процессе анализа.

5.5. Не подвергать реагенты воздействию высоких температур и прямых солнечных лучей в процессе использования и хранения.

5.6. Недопустимо замораживание набора реагентов, как целиком, так и отдельных ее компонентов.

5.7. Исследования проводить в помещении с комнатной температурой (в соответствии с действующей нормативной документацией).

5.8. Не проводить исследования в присутствии паров щелочей, кислот, альдегидов, в запыленном помещении.

5.9. Для дезинфекции использовать реагенты, не оказывающие воздействия на ферментативную реакцию: дезинфицирующие средства на основе четвертичных аммониевых соединений, спиртов, третичных аминов.

5.10. В помещении, где проводится исследование, не использовать дезинфицирующие средства, содержащие активный кислород и хлор.

5.11. Использовать чистую, тщательно промытую лабораторную посуду.

5.12. Использовать дозаторы и оборудование, имеющие свидетельство о поверке и протокол калибровки.

5.13. При работе с образцами и реагентами набора использовать чистые, новые одноразовые наконечники отдельно для каждого анализируемого образца и компонента набора реагентов.

5.14. Исключить контакт металлических предметов с раствором конъюгата (РК), концентратом ТМБ (ТМБ(x11)) и раствором для разведения ТМБ (РРТ).

5.15. Использовать новые одноразовые ванночки для каждого компонента набора реагентов.

5.16. Не использовать одну и ту же емкость, в том числе и многоразовую, после промывки, для раствора конъюгата РК и рабочего раствора ТМБ.

5.17. Рекомендуется для отбора раствора конъюгата (РК) и концентрата ТМБ (ТМБ(x11)) использовать разные дозаторы пипеточные. При использовании одного дозатора необходимо тщательно следить за чистотой посадочного конуса дозатора. Перед сменой реагента тщательно обрабатывать внутреннюю и внешнюю поверхности посадочного конуса 70% этиловым спиртом.

5.18. Для отмывки **Иммуносорбента** рекомендуется использовать автоматическое или ручное промывочное устройство. В конце рабочего дня необходимо проводить промывку системы подачи жидкости дистиллированной (деионизированной) водой. Не реже 1 раза в неделю следует обрабатывать шланги и емкости промывочного устройства 70% этиловым спиртом.

5.19. Для исключения контаминации образцов друг другом и **К(+)** требуется аккуратная, тщательная работа без разбрызгивания компонентов и образцов.

## **6. Оборудование и материалы**

- дозаторы лабораторные переменного объема одно- и многоканальные вместимостью от 10 до 1000 мкл;

- наконечники одноразовые к дозаторам лабораторным вместимостью от 10 до 1000 мкл;

- ванночки для разведения компонентов;

- микроцентрифуга лабораторная на 1000-3000 об/мин;

- термостатирующее устройство для планшетов (или термостат) с режимом термостатирования  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  или орбитальный термошейкер, поддерживающий температуру  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  и с частотой вращения платформы 700 об/мин.;

- устройство для промывания планшета (вошер);

- спектрофотометр вертикального сканирования позволяющий выполнять измерения оптической плотности содержимого лунок планшета при 450 нм (основной фильтр) и 620-680 нм (референсный фильтр) или анализатор автоматический иммуноферментный открытого типа;
- холодильная или морозильная камера;
- цилиндры мерные не ниже 2 класса точности объемом 100 и 1000 мл, колба лабораторная вместимостью 1000 мл;
- ёмкость с крышкой для жидкого дезинфицирующего средства;
- вода дистиллированная или деионизированная;
- бумага фильтровальная;
- таймер;
- одноразовые нестерильные медицинские перчатки;
- лабораторная посуда.

## 7. Анализируемые пробы

7.1. Нативная сыворотка, плазма (с гепарином, цитратом натрия, ЭДТА) крови человека. Аналитический объем образца - 20 мкл.

7.2. Образцы сыворотки (плазмы) крови до анализа ИФА хранить не более 7 суток при температуре от 2 до 8 °С. Длительное хранение (до 6 месяцев) анализируемых образцов осуществлять при температуре минус 20 °С.

7.3. Замороженные образцы перед исследованием прогреть до температуры (17 до 27 °С) тщательно перемешать для устранения возникающего при заморозке градиента концентраций. При работе с размороженными образцами следует учитывать, что каждая последующая заморозка-разморозка снижает качество исследуемого материала. С целью получения достоверных результатов исследования, производитель набора реагентов рекомендует использовать только однократное замораживание-размораживание образцов, а также хранение нескольких замороженных аликвот образца.

7.4. Не рекомендуется использование для исследования образцов с повышенным содержанием липидов и (или) с признаками гемолиза, и (или) с видимым микробным загрязнением («проростом»).

7.5. Образцы, содержащие осадок, взвешенные частицы, перед анализом подвергнуть центрифугированию в течение 10 мин при частоте вращения 3000 об/мин.

### Внимание!

Перед подготовкой реагентов к работе и проведением исследования производитель настоятельно рекомендует еще раз прочитать раздел «Обеспечение качества исследований» настоящей инструкции по применению.

## 8. Подготовка компонентов для исследования

Т а б л и ц а 2. Условия внешней среды для постановки анализа

| №п/п | Показатели              | Значения           |
|------|-------------------------|--------------------|
| 1    | Температура воздуха     | (25±5) °С          |
| 2    | Относительная влажность | 40-75 %            |
| 3    | Атмосферное давление    | 630-800 мм рт. ст. |

### 8.1. Предварительные манипуляции

Перед использованием вскрыть упаковку набора реагентов и извлечь все компоненты, включая запечатанный Иммуносорбент.

Выдержать компоненты в течение 30 мин при температуре от 18 до 28°С, аккуратно перемешать.

### Внимание!

**К(+), К(-), РК и Стоп-реагент** готовы к использованию и не требуют дополнительных разведений.

Неиспользованные **К(+), К(-), РК и Стоп-реагент** хранить в упаковке производителя при температуре от 2 до 8°C до истечения срока годности набора.

Компоненты **ФСБ-Т(x26)**, и **ТМБ(x11)** представлены в виде концентрата. Требуют разведения.

#### 8.2. Подготовка Иммуносорбента

Вскрыть пакет с **Иммуносорбентом**. Установить в рамку **Иммуносорбента** необходимое количество стрипов. Неиспользуемые в данной постановке стрипы сразу после вскрытия пакета с планшетом поместить в фольгированный пакет с застежкой типа zip-lock. Из пакета удалить остаточный воздух, закрыть застежку, убрать в холодильную камеру.

Хранить неиспользованные стрипы при температуре от 2 до 8°C до истечения срока годности набора реагентов.

Рамку планшета сразу после использования промыть дистиллированной (деионизированной) водой. Затем – 70% этиловым спиртом и повторно дистиллированной (деионизированной) водой. Просушить, используя фильтровальную бумагу. Хранить в упаковке производителя вместе с другими неиспользованными реагентами.

**Иммуносорбент** (стрипы) использовать однократно!

#### 8.3. Приготовление рабочего промывочного раствора ФСБ-Т

**Внимание!** В процессе хранения и транспортировки концентрата промывочного раствора (**ФСБ-Т (x26)**) возможно выпадение осадка солей.

При наличии осадка во флаконе с **ФСБ-Т(x26)** выдержать при температуре 37±1°C до полного растворения солей.

Содержимое флакона с **ФСБ-Т(x26)** перелить в мерный цилиндр вместимостью 1000 мл и довести объем раствора до 750 мл водой дистиллированной (деионизированной).

При использовании одного или нескольких стрипов **Иммуносорбента** необходимое количество рабочего промывочного раствора **ФСБ-Т** приготовить в соответствии с Таблицей 2.

Рабочий промывочный раствор **ФСБ-Т** хранить при температуре от 18 до 28°C не более 3 дней или при температуре от 2 до 8°C не более 30 дней.

Неиспользованный концентрат промывочного раствора (**ФСБ-Т(x26)**) хранить в упаковке производителя при температуре от 2 до 8°C до истечения срока годности набора.

#### 8.4. Приготовление рабочего раствора ТМБ

Во флакон с **РРТ**, используя новый наконечник дозатора пипеточного добавить содержимое флакона с **ТМБ(x11)**. Флакон с **РРТ** закрыть крышкой и аккуратно перемешать содержимое, переворачивая флакон 12-15 раз.

Перед внесением в лунки **Иммуносорбента** рабочий раствор **ТМБ** аккуратно перелить в ванночку для внесения реагентов.

При использовании одного или нескольких стрипов **Иммуносорбента** необходимое количество рабочего раствора **ТМБ** приготовить в соответствии с Таблицей 2. Смешивание соответствующих объемов **РРТ** и **ТМБ(x11)** допустимо выполнять, используя ванночку для внесения реагентов. Компоненты смешиваются аккуратным 12-15-кратным пипетированием.

Рабочий раствор **ТМБ** хранить при температуре от 18 до 28°C не более 60 минут в защищенном от света месте.

Неиспользованный концентрат **ТМБ (ТМБ(x11))** хранить в упаковке производителя при температуре от 2 до 8°C до истечения срока годности набора.

Т а б л и ц а 3. Сводная таблица приготовления рабочих растворов

| Количество используемых стрипов, шт. | Рабочий промывочный раствор ФСБ-Т |           | Рабочий раствор ТМБ |         |
|--------------------------------------|-----------------------------------|-----------|---------------------|---------|
|                                      | ФСБ-Т (x26), мл                   | Вода*, мл | ТМБ (x11), мл       | РРТ, мл |
| 1                                    | 2,0                               | до 50     | 0,1                 | 1,0     |
| 2                                    | 4,0                               | до 100    | 0,2                 | 2,0     |
| 3                                    | 8,0                               | до 150    | 0,3                 | 3,0     |
| 4                                    | 10,0                              | до 200    | 0,4                 | 4,0     |
| 5                                    | 12,0                              | до 250    | 0,5                 | 5,0     |
| 6                                    | 14,0                              | до 300    | 0,6                 | 6,0     |
| 7                                    | 18,0                              | до 450    | 0,7                 | 7,0     |
| 8                                    | 20,0                              | до 500    | 0,8                 | 8,0     |
| 9                                    | 22,0                              | до 550    | 0,9                 | 9,0     |
| 10                                   | 24,0                              | до 600    | 1,0                 | 10,0    |
| 11                                   | 26,0                              | до 650    | 1,1                 | 11,0    |
| 12                                   | 30,0                              | до 750    | 1,3                 | 13,0    |

Примечание: \* вода дистиллированная или деионизированная

## 9. Проведение анализа

### 9.1. Процедура № 1 (использование термошейкера)

Т а б л и ц а 4. Постановка анализа по процедуре № 1

| Этап анализа | Процедура этапа анализа                                                                                                                                                                                                                                                             | Примечание                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1            | Установить необходимое количество стрипов в рамку планшета                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 2            | Внести в одну лунку <b>20 мкл К(+)</b> .<br>Внести в две лунки <b>по 20 мкл К(-)</b> .<br>Выбор лунок для расположения контролей произвольный.<br>Например, лунка A1- <b>К(+)</b> , лунки B1 и C1 – <b>К(-)</b>                                                                     | При использовании 1 стрипа допускается внесение <b>К(-)</b> в 1 лунку                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 3            | В остальные лунки <b>Иммуносорбента</b> внести по <b>20 мкл</b> анализируемых образцов, а затем по <b>80 мкл</b> раствора конъюгата <b>РК</b> во все лунки (включая контрольные образцы).<br>Заклеить лунки <b>Иммуносорбента</b> (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой. | Время внесения образцов при использовании всего планшета не должно превышать 10 мин.<br><br>Неправильное соотношение в лунке объемов анализируемого образца и <b>РК</b> может привести к искажению результата исследования.<br><br>При ошибке внесения анализируемого образца лунка бракуется. Запрещается удаление раствора из лунки с последующим внесением в нее нового образца |
| 4            | Инкубировать <b>Иммуносорбент</b> (стрипы) в течение 30 мин.<br>Для инкубации использовать орбитальный термошейкер.<br>Скорость вращения платформы шейкера: 700 об/мин.;<br>температура инкубации: 37± 1°C                                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 5            | С помощью промывателя для планшетов удалить содержимое лунок.<br>Семь раз промыть планшет рабочим раствором                                                                                                                                                                         | <b>Внимание!</b> Недостаточная аспирация жидкости в лунке может привести к искажению результата исследования.                                                                                                                                                                                                                                                                      |

|   |                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                               |
|---|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|   | ФСБ-Т, внося в лунки <b>400 мкл раствора</b> .<br>Экспозиция между этапами отмывки – 30 секунд.<br>По окончании промывки при необходимости удалить влагу из лунок, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге | Производитель рекомендует использовать режим отмывки с перекрестной придонной аспирацией.<br><b>Внимание!</b> Не допускать высыхание лунок <b>Иммуносорбента</b> в перерыве между завершением промывок и внесением реагентов. |
| 6 | Во все лунки планшета внести по <b>100 мкл рабочего раствора ТМБ</b>                                                                                                                                             | Время внесения рабочего раствора ТМБ при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты.<br><b>Внимание!</b> Остатки рабочего раствора ТМБ из ванночек утилизировать – повторное использование запрещено.        |
| 7 | Инкубировать <b>Иммуносорбент</b> (стрипы) в течение 10 мин.<br>Для инкубации использовать орбитальный термошейкер.<br>Скорость вращения платформы шейкера: 700 об/мин.;<br>температура инкубации: 37± 1°C       |                                                                                                                                                                                                                               |
| 8 | Реакцию остановить внесением в каждую лунку <b>Иммуносорбента по 50 мкл Стоп-реагента</b> .                                                                                                                      | Время внесения <b>Стоп-реагента</b> при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты                                                                                                                           |
| 9 | Измерить оптическую плотность содержимого лунок с помощью спектрофотометра при длине волны 450 нм<br>или используя два фильтра:<br>основной - 450 нм<br>референсный – 620-680 нм.                                | <b>Внимание!</b><br>Учет реакции необходимо произвести не позднее, чем через 5 мин. после остановки реакции                                                                                                                   |

## 9.2 Процедура № 2 (использование термостата)

Т а б л и ц а 5. Постановка анализа по процедуре № 2

| Этап анализа | Процедура этапа анализа                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | Примечание                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|--------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1            | Установить необходимое количество стрипов в рамку планшета                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 2            | Внести в одну лунку <b>20 мкл К(+)*</b> .<br>Внести в две лунки по <b>20 мкл К(-)*</b> .<br>Выбор лунок для расположения контролей произвольный.<br>Например, лунка A1- <b>К(+)</b> , лунки B1 и C1 – <b>К(-)</b>                                                                                                                                                                                                                                      | При использовании 1 стрипа допускается внесение <b>К(-)</b> в 1 лунку                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 3            | В остальные лунки <b>Иммуносорбента</b> внести по <b>20 мкл</b> анализируемых образцов, а затем по <b>80 мкл</b> раствора конъюгата <b>РК</b> во все лунки (включая контрольные образцы).<br>Заклеить лунки <b>Иммуносорбента</b> (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой.<br><b>Внимание!</b> После внесения контролей, образцов и раствора конъюгата необходимо аккуратно перемешать содержимое лунок аккуратным постукиванием по планшету. | Время внесения образцов при использовании всего планшета не должно превышать 10 мин.<br><br>Неправильное соотношение в лунке объемов анализируемого образца и <b>РК</b> может привести к искажению результата исследования.<br><br>При ошибке внесения анализируемого образца лунка бракуется. Запрещается удаление раствора из лунки с последующим внесением в нее нового образца |
| 4            | Инкубировать <b>Иммуносорбент</b> (стрипы) в течение 45 мин.<br>Для инкубации использовать термостат. Температура инкубации: 37± 1°C                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 5            | С помощью промывателя для планшетов удалить содержимое лунок.<br>Семь раз промыть планшет рабочим раствором <b>ФСБ-Т</b> , внося в лунки <b>400 мкл раствора</b> .                                                                                                                                                                                                                                                                                     | <b>Внимание!</b> Недостаточная аспирация жидкости в лунке может привести к искажению результата исследования.<br>Производитель рекомендует использовать                                                                                                                                                                                                                            |

|   |                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                        |
|---|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|   | Экспозиция между этапами отмывки – 30 секунд. По окончании промывки при необходимости удалить влагу из лунок, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге              | режим отмывки с перекрестной придонной аспирацией.<br><b>Внимание!</b> Не допускать высыхание лунок <b>Иммуносорбента</b> в перерыве между завершением промывок и внесением реагентов.                                 |
| 6 | Во все лунки планшета внести по 100 мкл рабочего раствора ТМБ                                                                                                            | Время внесения рабочего раствора ТМБ при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты.<br><b>Внимание!</b> Остатки рабочего раствора ТМБ из ванночек утилизировать – повторное использование запрещено. |
| 7 | Инкубировать <b>Иммуносорбент</b> (стрипы) в течение 15 мин. Для инкубации использовать термостат. Температура инкубации: 37± 1°C                                        |                                                                                                                                                                                                                        |
| 8 | Реакцию остановить внесением в каждую лунку Иммуносорбента по 50 мкл Стоп-реагента.                                                                                      | Время внесения <b>Стоп-реагента</b> при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты                                                                                                                    |
| 9 | Измерить оптическую плотность содержимого лунок с помощью спектрофотометра при длине волны 450 нм или используя два фильтра: основной - 450 нм референсный – 620-680 нм. | <b>Внимание!</b> Учет реакции необходимо произвести не позднее, чем через 5 мин. после остановки реакции                                                                                                               |

### 9.3 Использование ИФА-анализаторов

Набор реагентов «СИФ-АТ Screen» адаптирован для любых открытых полуавтоматических и автоматических иммуноферментных анализаторов.

Процедуру анализа проводить также, как и для ручной постановки анализа.

### 10. Расчеты

Результаты регистрируют при помощи спектрофотометра вертикального сканирования. Оптическую плотность (ОП) измеряют при длине волны 450 нм или используя два фильтра - 450 нм (основной фильтр) и 620-680 нм (референсный фильтр).

Нулевой уровень («бланк») устанавливают по воздуху.

#### 10.1. Критерии правильности теста

Для определения соответствия полученных результатов измерений критериям правильности теста рассчитывают среднее значение ОП в лунках с К(-).

Рассчитать ОП К(-) среднее:

$$\text{ОП К(-) среднее} = \frac{\text{ОП К(-)}_1 + \text{ОП К(-)}_2}{2}$$

При использовании 1 стрипа значение ОП К(-) среднее не определяют.

Среднее значение ОП К(-) должно быть не более 0,200.

При использовании одного стрипа: значение ОП в лунке с К(-) должно быть не более 0,200.

Значение ОП в лунке с К(+) должно быть не менее 0,500.

Если полученные значения ОП в лунках с контрольными образцами не соответствуют критериям правильности теста, результаты теста не учитывают. Исследование проводят повторно.

Рассчитать ОП критического уровня – ОП крит.(Cut off):

$$\text{ОП крит.} = \text{ОП К(-) среднее} + 0,200^*$$

При использовании одного стрипа: ОП крит. = ОП К(-) + 0,200\*

\*0,200 – коэффициент, определенный методом статистической обработки результатов исследований на предприятии-изготовителе.

Или рассчитайте коэффициент позитивности (КП):

$KП = OПобразца / OПкрит.$

#### 10.2. Интерпретация результатов

Если ОП анализируемого образца меньше ( $<$ ) ОПкрит. (или  $KП < 1$ ), результат исследования образца считают отрицательным: антитела к *Treponema pallidum* не обнаружены.

Если ОП анализируемого образца больше или равно ( $\geq$ ) ОПкрит. (или  $KП \geq 1$ ), результат исследования образца считают положительным: антитела к *Treponema pallidum* обнаружены.

#### 11. Утилизация отходов

11.1. Уничтожение и утилизацию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемиологических (профилактических) мероприятий» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

11.2. Все промывные растворы, собранные в специальный контейнер и обработанные дезинфицирующими средствами, разрешенными для применения на территории РФ в установленном порядке, следует утилизировать как отходы класса В.

11.3. Все твердые отходы, собранные в специальный контейнер, обеззараженные в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемиологических (профилактических) мероприятий», следует утилизировать как отходы класса В.

11.4. Неиспользованные наборы реагентов с истекшим сроком годности перед утилизацией следует разукomплектовать.

11.5. Неиспользованный концентрат промывочного раствора следует утилизировать, как отходы класса А.

11.6. Неиспользованные положительные и отрицательные контроли набора, раствор конъюгата и иммуносорбент следует обеззараживать и утилизировать, как медицинские отходы класса Б.

11.7. Неиспользованные концентрат ТМБ-субстрата и стоп-реагент следует утилизировать, как отходы класса Г.

11.8. Утилизация проводится специализированными организациями, которые имеют лицензию на право утилизации медицинских отходов.

#### 12. Ограничение теста

Следует помнить, что результаты тестирования на антитела не могут быть единственным критерием для диагностики или исключения Сифилиса, или для определения статуса инфекции.

**Отрицательный результат исследования при наличии сифилиса возможен:**

- во время серонегативного окна – период времени при заражении сифилисом, длящийся с момента инфицирования до выработки иммунной системой антител; серонегативное окно может составлять от 2-х недель до 3-х месяцев;

- у пациентов со слабым иммунным ответом (состояние иммуносупрессии).

**Возможные причины ложноположительных результатов:**

- беременность у женщин;

- наличие параллельных вирусных инфекций (ВИЧ, Вирус гепатита В и С);

- наличие различных соматических заболеваний (язвенные процессы в ЖКТ, диабет).

**Срок годности, условия транспортировки и хранения**

Срок годности, условия транспортировки и хранения набора реагентов и компонентов представлены в Таблице 3.

Т а б л и ц а 6. Срок годности, условия транспортировки и хранения набора реагентов и компонентов

| Параметр                                                                                    | Период                                    | Условия                                                                                                                                            |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Срок годности набора реагентов                                                              | 24 месяца                                 | хранить в упаковке производителя в сухом, защищенном от света месте, при температуре от 2 до 8°C.<br><b>Внимание!</b> Замораживание не допускается |
| Транспортировка                                                                             | в течение срока годности                  | при температуре от 2 до 8° С                                                                                                                       |
|                                                                                             | 7 суток                                   | при температуре от 9 до 28°C                                                                                                                       |
| Вскрытые компоненты: К(+), К(-), ФСБ-Т(х26), ТМБ(х11), РК, РРТ, Стоп-реагент, Иммуносорбент | в течение срока годности набора реагентов | хранить в упаковке производителя в сухом, защищенном от света месте, при температуре от 2 до 8° С                                                  |
| Рабочий раствор ТМБ                                                                         | не более 60 минут                         | от 18 до 28°C в защищенном от света месте                                                                                                          |
| Рабочий промывочный раствор ФСБ-Т                                                           | не более 3 дней                           | при температуре от 18 до 28°C                                                                                                                      |
|                                                                                             | не более 30 дней                          | при температуре от 2 до 8°C                                                                                                                        |

**13. Гарантийные обязательства**

Производитель гарантирует соответствие набора реагентов «СИФ-АТ Screen» требованиям нормативной и эксплуатационной документации, а также качество и безопасность продукта в течение всего срока годности.

Рекламации на специфические и физические свойства набора реагентов «СИФ-АТ Screen» направлять по адресу предприятия-изготовителя: ООО «ИМБИАН ЛАБ», 630559, Россия, Новосибирская область, р.п. Кольцово, ул. Садовая, д. 2/7.

Тел. +7 (383) 209 34 54, [info@imbian.ru](mailto:info@imbian.ru), [www.imbian.ru](http://www.imbian.ru)

**14. Форма подачи рекламаций**

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

- рекламационный набор реагентов (при наличии) с сопроводительным письмом, содержащим информацию о выявленных несоответствиях;
- исследуемые образцы;
- протоколы исследований, выполненных другим методом (указать наименование, серию, срок годности набора);

- протоколы исследований, выполненных референсным набором – любой набор реагентов для иммуноферментного выявления суммарных антител к *Treponema pallidum*, имеющий регистрационное удостоверение Российской Федерации (указать наименование, серию, срок годности набора).

## 15. Символы маркировки

Т а б л и ц а 7. Символы, применяемые при маркировке

| Символ                                                                              | Наименование символа                                                                                                                              | Символ                                                                              | Наименование символа                         |
|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|
|    | Использовать до                                                                                                                                   |    | Запрет на повторное применение               |
|    | Дата изготовления                                                                                                                                 |    | Осторожно!                                   |
|    | Код серии                                                                                                                                         |    | Не допускать воздействия солнечного света    |
|    | Номер по каталогу                                                                                                                                 |    | Содержимого достаточно для 96 определений    |
|    | Содержимого достаточно для 192 определений                                                                                                        |    | Содержимого достаточно для 480 определений   |
|   | Обратитесь к инструкции по применению                                                                                                             |   | Медицинское изделие для диагностики in vitro |
|  | Предел температуры                                                                                                                                |  | Не использовать при повреждении упаковки     |
|  | Беречь от влаги                                                                                                                                   |  | Биологический риск                           |
|  | Н302: Вредно при проглатывании<br>Н315: При попадании на кожу вызывает раздражение<br>Н319: При попадании в глаза вызывает выраженное раздражение |  | Изготовитель                                 |

## 16. Штрих-код Набора реагентов «ВГС-АТ Подтверждающий»

Т а б л и ц а 8. Штрих-коды комплектов набора реагентов

| № комплекта | Штрих-код       |
|-------------|-----------------|
| Комплект 1  | 4 620102 800979 |
| Комплект 2  | 4 620102 801792 |
| Комплект 3  | 4 620102 801808 |

## Краткая схема анализа набора реагентов «СИФ-AT Screen»

### Вариант № 1 (использование термошейкера)

| Этап анализа | Процедура этапа анализа.                                                                                                                                                   |
|--------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1            | Установить необходимое количество стрипов в рамку планшета                                                                                                                 |
| 2            | Внести в одну лунку <b>Иммуносорбента</b> 20 мкл <b>K(+)</b> , внести в две лунки <b>Иммуносорбента</b> по 20 мкл <b>K(-)</b>                                              |
| 3            | В остальные лунки <b>Иммуносорбента</b> внести по 20 мкл анализируемых образцов, а затем по 80 мкл раствора конъюгата РК во все лунки (включая контрольные образцы).       |
| 4            | <b>Инкубировать в течение 30 мин в термошейкере при 700 об/мин и при температуре 37±1 °С</b>                                                                               |
| 5            | Семь раз промыть <b>Иммуносорбент</b> рабочим раствором ФСБ-Т, внося в лунки 400 мкл раствора.<br>Экспозиция между этапами отмывки – 30секунд                              |
| 6            | Во все лунки <b>Иммуносорбента</b> внести по 100 мкл рабочего раствора ТМБ.                                                                                                |
| 7            | <b>Инкубировать в течение 10 мин в термошейкере при 700 об/мин и при температуре 37±1 °С</b>                                                                               |
| 8            | Внести в каждую лунку <b>Иммуносорбента</b> по 50 мкл <b>Стоп-реагента</b>                                                                                                 |
| 9            | Измерить оптическую плотность содержимого лунок с помощью спектрофотометра при длине волны 450 нм, или используя два фильтра: основной (450 нм) и референсный (620-680 нм) |

### Вариант № 2 (использование термостата)

| Этап анализа | Процедура этапа анализа.                                                                                                                                                   |
|--------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1            | Установить необходимое количество стрипов в рамку планшета                                                                                                                 |
| 2            | Внести в одну лунку <b>Иммуносорбента</b> 20 мкл <b>K(+)</b> , внести в две лунки <b>Иммуносорбента</b> по 20 мкл <b>K(-)</b>                                              |
| 3            | В остальные лунки <b>Иммуносорбента</b> внести по 20 мкл анализируемых образцов, а затем по 80 мкл раствора конъюгата РК во все лунки (включая контрольные образцы).       |
| 4            | <b>Инкубировать в течение 45 мин в термостате при температуре 37±1 °С</b>                                                                                                  |
| 5            | Семь раз промыть <b>Иммуносорбент</b> рабочим раствором ФСБ-Т, внося в лунки 400 мкл раствора.<br>Экспозиция между этапами отмывки – 30секунд                              |
| 6            | Во все лунки <b>Иммуносорбента</b> внести по 100 мкл рабочего раствора ТМБ.                                                                                                |
| 7            | <b>Инкубировать в течение 15 мин в термостате при температуре 37±1 °С</b>                                                                                                  |
| 8            | Внести в каждую лунку <b>Иммуносорбента</b> по 50 мкл <b>Стоп-реагента</b>                                                                                                 |
| 9            | Измерить оптическую плотность содержимого лунок с помощью спектрофотометра при длине волны 450 нм, или используя два фильтра: основной (450 нм) и референсный (620-680 нм) |

Разработал Буторин Д.В. Буторин



Прошнуровано, пронумеровано и  
скреплено печатью 15 листов

Отв. за регистрацию и учет  
договоров НИР ФГБОУ ВО НГМУ  
Минздрава России

Л.Н. Захарова  
«15» августа 2021 г.