СОГЛАСОВАНО

Проректор по научной работе
ФГБОУ ВО «ПИМУ»
Минздрава России
д.м.н. А. С. Благонравова

«16» ноября 2021 г.

ИНСТРУКЦИЯ
по применению

«Набор реагентов для количественного определения антител классов G,M,A к кардиолипину методом иммуноферментного анализа» («ДС-ИФА-АНТИ-КАРДИОЛИПИН-G,M,A»)

ЭЛЕКТРОННАЯ КОПИЯ ОФОРМЛЕНА ЦЕНТРОМ ИСПЫТАНИЙ И РЕГИСТРАЦИИ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ

НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННОЕ ОБЪЕДИНЕНИЕ

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель генерального директора
ООО «НПО «Диагностические системы»

_____ О.Н. Шлюндин

«___» _____ 2021 г.

REF

Σ 96

ИНСТРУКЦИЯ
по применению

«Набор реагентов для количественного определения антител классов G, M, A к кардиолипину методом иммуноферментного анализа» («ДС-ИФА-АНТИ-КАРДИОЛИПИН-G,M,A»)

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

СОДЕРЖАНИЕ

I. НАЗНАЧЕНИЕ ... 3
II. ПРИНЦИП ТЕСТА ... 3
III. СОСТАВ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ... 3
IV. ЭФФЕКТИВНОСТЬ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ ... 4
V. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ... 6
VI. УТИЛИЗАЦИЯ И УНИЧТОЖЕНИЕ ... 6
VII. НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ, НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ С НАБОРОМ РЕАГЕНТОВ ... 6
VIII. ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ ... 7
IX. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ... 7
X. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА ... 8
XI. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ ... 8
XII. ОГРАНИЧЕНИЯ ТЕСТА ... 9
XIII. СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ ... 10
XIV. ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ И РЕМОНТ ... 10
XV. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ... 10
XVI. ОБЪЯСНЕНИЕ ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СИМВОЛОВ ... 11
Приложение ... 12

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Набор реагентов рассчитан на проведение 96 определений (один разборный планшет), включая контрольные; предназначен для ручной постановки с возможностью дробного использования.

I. НАЗНАЧЕНИЕ

«Набор реагентов для количественного определения антител классов G, M, A к кардиолипину методом иммуноферментного анализа» («ДС-ИФА-АНТИ-КАРДИОЛИПИН-G,M,A») предназначен для количественного определения антител классов G, M, A к кардиолипину (суммарных антител), образующихся при антифосфолипидном синдроме (АФС), в сыворотке или плазме крови человека методом иммуноферментного анализа (ИФА).

Рекомендуется для клинической лабораторной диагностики АФС и прогнозирования риска развития тромботических осложнений и акушерской патологии при АФС.

Предназначен для профессионального использования специально обученным персоналом.

Область применения - клиническая лабораторная диагностика.

АФС – системное аутоиммунное состояние гиперкоагуляции, вызванное образованием антител к фосфолипидам или к фосфолипидсвязанным протеинам. АФС провоцирует образование тромбов (тромбоз) как в артериях, так и венах, а также связанные с беременностью осложнения, такие как выкидыш, мертворождение, преждевременные роды и тяжелая преэклампсия.

Присутствие антител к β2-гликопротеину 1 и/или кардиолипину классов G или M в сыворотке/плазме в средних и высоких титрах наряду с клиническими проявлениями, такими как тромбоз или осложнение беременности, являются основными диагностическими критериями постановки диагноза АФС. АФС может быть первичным или вторичным. Первичный АФС (ПАФС) возникает в отсутствие каких-либо других связанных с ним заболеваний. Вторичный АФС (ВАФС) встречается совместно с другими аутоиммунными заболеваниями, такими как системная красная волчанка (СКВ).

II. ПРИНЦИП ТЕСТА

Метод определения основан на непрямом двухстадийном иммуноферментном анализе. В лунках полистиролового планшета иммобилизован кардиолипин с очищенным β2-гликопротеином 1, используемым в качестве ко-фактора. При наличии в исследуемых образцах специфических антител классов G, M, A к кардиолипину образуется иммунный комплекс антиген-антитело (стадия 1), который детектируется конъюгатом – антитела к IgG, IgM, IgA человека, меченные пероксидазой хрена (стадия 2).

При добавлении ТМБ-Субстратного раствора в лунки планшета происходит окрашивание раствора в синий цвет. Реакцию останавливают добавлением в раствор стоп-реагента. При этом синий цвет раствора меняется на жёлтый. Интенсивность окрашивания прямо пропорциональна концентрации антител к кардиолипину в образце. Учет результатов можно проводить при длине волны 450 нм или 450/620-680 нм.

III. СОСТАВ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

Характеристики реагентов		Форма выпуска Σ 96
Иммуносорбент	Планшет полистироловый 96-луночный разборный (до лунок), в лунках которого сорбирован кардиолипин с очищенным β2-гликопротеином 1, используемым в качестве ко-фактора. Готов к применению.	1 планшет
Конъюгат	Антитела к IgG, IgM, IgA человека, меченные пероксидазой хрена. Готов к применению. Прозрачная или слегка опалесцирующая жёлтого цвета жидкость.	1 фл. 12,0 мл
К+	Контрольный положительный образец***. Готов к применению. Прозрачная или слегка опалесцирующая красного цвета жидкость.	1 фл. 1,2 мл
К-	Контрольный отрицательный образец***. Готов к применению. Прозрачная или слегка опалесцирующая зелёного цвета жидкость. Содержит 0,19% азида натрия*.	1 фл. 2,5 мл
Калибратор 0	Калибраторы, содержащие известные количества антител классов G, M, A к кардиолипину**. Готовы к применению. Прозрачные или слегка опалесцирующие светло-жёлтого цвета жидкости.	1 фл. 1,0 мл
Калибратор 1		1 фл. 1,0 мл
Калибратор 2		1 фл. 1,0мл
Калибратор 3		1 фл. 1,0 мл
Калибратор 4		1 фл. 1,0 мл
		1 фл. 1,0 мл

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

БР	Блок-раствор для разведения сывороток. Готов к применению. Прозрачная или слегка опалесцирующая розового цвета жидкость, допустимо образование осадка.	1 фл. 12,5 мл
РРС	Раствор для предварительного разведения сывороток. Готов к применению. Прозрачная или слегка опалесцирующая фиолетово-синего цвета жидкость.	1 фл. 12,5 мл
ПР	Промывочный раствор. Концентрат (×25) фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т). Прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная или светло-жёлтого цвета жидкость, допустимо образование осадка, полностью растворяющегося при температуре от 35 до 39 °С и встряхивании.	1 фл. 50,0 мл
Стоп-реагент	Раствор серной кислоты (0,2М)*. Готов к применению. Прозрачная бесцветная жидкость.	1 фл. 25,0 мл
ТМБ-Субстратный раствор	Готов к применению. Прозрачная бесцветная жидкость, возможно наличие окраски.	1 фл. 14,0 мл
Планшет для предварительного разведения сывороток	Планшет полистироловый с бесцветными лунками.	1 планшет
Плёнка защитная для ИФА-планшетов		2 шт.
Наконечники одноразовые		16 шт.
Ванночка пластиковая для жидких реагентов		2 шт.
Пакет полиэтиленовый с замком Zip-Lock		1 шт.
Бланк для построения калибровочного графика		1 шт.
Инструкция по применению		1 шт.

* Указано содержание вредных веществ в опасных концентрациях для реагентов, обозначенных символом «Внимание».

** Калибраторы аттестованы относительно E.N. Harris стандарта, Louisville APL Diagnostics, США и IgG (HCAL)/IgM (EY2C9) Sapporo стандартов, Werfen, Австралия, с использованием коллекции образцов, аттестованных в референс-тесте компании Orgentec Diagnostika, Германия. Значения концентраций суммарных антител к кардиолипину в Калибраторах указаны на потребительской упаковке и в паспорте на серию набора.

*** Диапазоны значений концентраций суммарных антител к кардиолипину для К- и К+ указаны на потребительской упаковке и в паспорте на серию набора.

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: К- – зелёный, К+ – красный.

Набор реагентов упакован в потребительскую упаковку (коробку картонную). Паспорт на серию входит в комплект сопроводительной документации на продукцию.

IV. ЭФФЕКТИВНОСТЬ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

4.1. Эквивалентность образцов сыворотки и плазмы крови человека

Исследованием положительных (n=25) и отрицательных (n=25) парных образцов сыворотки и плазмы крови человека, содержащей различные антикоагулянты (ЭДТА, гепарин, цитрат натрия), была показана их эквивалентность, что позволяет отнести показатели эффективности медицинского изделия к обоим видам исследуемых образцов.

4.2. Воспроизводимость и повторяемость

Исследование воспроизводимости проводили внутри планшета (повторяемость), между сериями и между планшетами одной серии. Коэффициент вариации не превышает 8%.

4.3. Аналитическая чувствительность

Аналитическая чувствительность не превышает 0,5 Ед/мл.

4.4. Диапазон измерения

Нижняя граница диапазона измерения соответствует 0,5 Ед/мл. Верхняя граница определяется

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

4.5. Линейность

Зависимость концентрации антител классов G, M, A к кардиолипину имеет линейный характер в диапазоне концентраций Калибраторов.

Значение «линейности» находится в пределах от 90 до 110%.

4.6. Открытие

Значение «открытия» находится в пределах от 90% до 110%.

4.7. Правильность

Данный аналитический параметр определяли путём сравнительной оценки образцов сыворотки крови в наборе реагентов «ДС-ИФА-АНТИ-КАРДИОЛИПИН-G,M,A» и с использованием «Реагентов для лабораторной диагностики аутоиммунных заболеваний in-vitro методом ИФА. Антитела к кардиолипину, скрининг (суммарные IgA, IgM, IgG) (Anti-Cardiolipin Screen)», Orgentec Diagnostika, Германия. Коэффициент детерминации составил 0,8567, наклон составил 0,8701. Качественное совпадение с тестом сравнения составило 99,0% (95%CI: 94,6% - 99,8%).

4.8. Аналитическая специфичность

- **Влияние интерферирующих веществ**

- интерференты эндогенной природы: не выявлена интерференция в образцах с содержанием билирубина до 0,4 мг/мл, гемоглобина до 10,0 мг/мл, липидов (триглицеридов) до 20,0 мг/мл, холестерина до 4,0 мг/мл;

- интерференты экзогенной природы: не выявлена интерференция в образцах с содержанием ацетилсалициловой кислоты до 0,03 мг/мл, преднизолона до 0,012 мг/мл, варфарина до 0,075 мг/мл, аторвастатина до 0,00075 мг/мл, гидроксихлорохина до 0,0057 мг/мл.

- **Перекрестная реактивность**

Исследовано 120 образцов сыворотки крови больных аутоиммунными заболеваниями: СКВ (n=43), системная склеродермия (n=15), болезнь Бехчета (n=15), ревматоидный артрит (n=29), анкилозирующий спондилит (n=3), полимиозит (n=1) и образцы, содержащие ревматоидный фактор (n=14). Перекрестной реактивности с антителами к системным ревматологическим заболеваниям не обнаружено.

4.9. Референтный интервал

Референтный интервал определен с использованием 121 образца сыворотки крови здоровых индивидуумов и составил от 0,80 до 5,12 Ед/мл. Рекомендуется в каждой лаборатории при использовании набора уточнить значения концентраций антител классов G, M, A к кардиолипину, соответствующие нормальным значениям для конкретной территории.

4.10. Диагностическая чувствительность

Диагностическая чувствительность набора реагентов «ДС-ИФА-АНТИ-КАРДИОЛИПИН-G,M,A» была оценена при исследовании:

- 30 образцов сыворотки крови больных ПАФС. Диагностическая чувствительность составила 78,9% (95% CI: 63,7-88,9%);
- 40 образцов сыворотки крови больных ВАФС. Диагностическая чувствительность составила 83,3% (95% CI: 70,4-91,3%);
- 10 образцов сыворотки крови беременных с патологией на фоне АФС. Диагностическая чувствительность составила 100,0% (95% CI: 72,2-100,0%).

Суммарная диагностическая чувствительность составила 84,2% (95% CI: 75,6-90,2%).

4.11. Диагностическая специфичность

Диагностическая специфичность набора реагентов «ДС-ИФА-АНТИ-КАРДИОЛИПИН-G,M,A» была оценена при исследовании:

- 201 образца сыворотки крови случайной выборки доноров. Специфичность составила 98,0% (95% CI: 95,1% -99,2%);
- 81 образца сыворотки крови беременных. Специфичность составила 97,6 (95% CI: 91,5% - 99,3%);
- 44 образцов сыворотки крови госпитальных пациентов с неинфекционными заболеваниями. Специфичность составила 95,5% (95% CI: 84,9% - 98,7%);
- 251 образца сыворотки крови пациентов с инфекционными заболеваниями (сифилис, гепатит B, гепатит C, ВИЧ-инфекция, COVID-19). Специфичность составила 98,8% (95% CI: 96,5% -99,5%).

Суммарная диагностическая специфичность составила 98,3% (95% CI: 96,8% - 99,1%).

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

V. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

5.1. Нестерильное медицинское изделие для диагностики *in vitro*. Потенциальный риск применения набора – класс 2а (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 горючие. Внешняя упаковка не является самовоспламеняемой, взрывоопасной.

5.4. Реагенты набора не содержат вредных веществ в опасных концентрациях, за исключением реагентов, обозначенных символом «Внимание». При использовании по назначению вероятность негативного воздействия на организм человека незначительна. Растворы в представленных объёмах и концентрациях не опасны 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.

5.5. Материал человеческого происхождения, использованный для приготовления реагентов набора, не содержит HBsAg, антиген p24 ВИЧ-1, антитела к ВИЧ-1,2 и вирусу гепатита С (ВГС).

5.6. При работе с реагентами набора (К+, К-, Калибраторами) и исследуемыми образцами нужно обращаться как с потенциально опасными материалами, т.к. ни один метод тестирования не может гарантировать отсутствие инфекционных агентов.

5.7. Отдельные реагенты набора приготовлены с использованием биологического материала животного происхождения.

5.8. Паспорт безопасности для набора реагентов может быть представлен по запросу клиента.

5.9. Для получения надежных результатов необходимо:
- обеспечить установленные условия хранения набора;
- строго соблюдать требования Инструкции по применению набора реагентов.

5.10. Не использовать МИ:
- при повреждении целостности упаковки реагентов;
- при несоответствии внешнего вида реагентов (см. п. III Состав набора реагентов);
- при повреждении маркировки.

VI. УТИЛИЗАЦИЯ И УНИЧТОЖЕНИЕ

6.1. Изделия в процессе хранения и транспортирования не выделяют вредных веществ, загрязняющих окружающую среду. Отходы, образующиеся в результате применения набора реагентов по назначению, установленному производителем, а также не использованные изделия (истекший срок годности, поврежденная потребительская упаковка/маркировка, поврежденная упаковка/маркировка реагентов и т.д.) относятся к медицинским отходам класса «А», «Б» и «Г» в соответствии со ст. 49 Федерального закона от 21.11.2011 г. N 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации».

6.2. Медицинские отходы подлежат сбору, обезвреживанию, размещению, хранению, транспортировке, учету и утилизации в соответствии с действующими правилами и нормативами (СанПиН 2.1.3684-21, СанПиН 3.3686-21, МУ 287-113).

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

- Вода дистиллированная (деионизированная);
- Дозаторы пипеточные переменного объёма для отбора жидкостей;
- Наконечники одноразовые для дозаторов пипеточных;
- Устройство для промывания планшетов (вошер);
- Планшетный спектрофотометр (ИФА-ридер) с фильтрами 450 нм и 620-680 нм;
- Бумага фильтровальная лабораторная;
- Средства измерения времени (часы. таймер).

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

VIII. ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Сбор образцов крови человека проводить в соответствии с текущей практикой методом венепункции. Для анализа использовать только нативные (неразведенные) образцы сыворотки крови человека или плазмы крови человека с различными антикоагулянтами (ЭДТА, гепарин, цитрат натрия).

При использовании плазмы с жидким антикоагулянтом (цитрат натрия) полученное значение концентрации необходимо умножить на фактор разведения.

Фактор разведения = (Объем антикоагулянта в пробирке + Общий объем крови в пробирке) / Общий объем крови в пробирке.

Во избежание гемолиза необходимо как можно быстрее отделить плазму от эритроцитов или сыворотку от сгустка. Образцы, содержащие агрегаты или осадок, осветлять центрифугированием. Термоинактивированные образцы анализу не подлежат.

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

Образцы хранить/транспортировать в соответствии с требованиями существующих нормативных документов. Допустимо однократное замораживание/оттаивание образцов.

IX. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

9.1. Общие требования и рекомендации:

- Нельзя использовать реагенты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме:
  - **ПР,** который взаимозаменяем во всех наборах реагентов производства ООО «НПО «Диагностические системы»;
  - **Стоп-реагента**, который может быть взаимозаменяемым в зависимости от молярности раствора;
  - **ТМБ-Субстратного раствора,** который взаимозаменяем во всех наборах реагентов для определения антител к β2-гликопротеину 1 и кардиолипину производства ООО «НПО «Диагностические системы».
  - другие реагенты также могут быть взаимозаменяемыми для постановки в большинстве наборов реагентов ООО «НПО «Диагностические системы»;
  - за более детальной информацией относительно других реагентов обратитесь в службу поддержки пользователей по телефону бесплатной линии 8-800-555-0300 (доб. 7626, 7655) или по E-mail: info@npods.ru; help-ds@npods.ru.
- Рабочие растворы готовить осторожно, исключая какое-либо загрязнение. Использовать одноразовую или химически чистую лабораторную посуду для приготовления реагентов. Не допускать контакта металлических предметов с реагентами.
- Каждая лунка Иммуносорбента предназначена для однократного использования.
- Не подвергать реагенты и рабочие растворы воздействию высоких температур или прямого солнечного света.
- Перед использованием флаконы с жидкими реагентами перемешать, не допуская вспенивания.

9.2. Реагенты, готовые к использованию:

- **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 (лунок).
- **К+, К-, Калибраторы, Конъюгат, БР, РРС, ТМБ-Субстратный раствор, Стоп-реагент (0,2М).**

9.3. Реагенты, требующие предварительного приготовления:

- **Рабочий ПР:** необходимый объём концентрата ПР (×25) развести в 25 раз соответствующим объёмом воды дистиллированной (деионизированной) (см. Таблицу 1) и тщательно перемешать.

Таблица 1

Расход ПР в зависимости от количества используемых стрипов при ручной постановке ИФА

Количество используемых стрипов		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Рабочий ПР	ПР (×25), 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

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

X. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

10.1. Общие требования и рекомендации:

- Использовать валидированные дозаторы и оборудование.
- Использовать новый наконечник 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 и ТМБ-Субстратного раствора.
- Избегать расплескивания образцов или растворов, содержащих образцы.
- Не допускать высыхания лунок Иммуносорбента между отдельными операциями.
- Соблюдать требования к промывке (рекомендованное количество циклов, объём раствора при наполнении, временные интервалы, эффективность отсасывания).
- Плёнки защитные для ИФА планшетов являются одноразовыми и повторному использованию после снятия не подлежат.

10.2. Проведение ИФА:

Этап	Процедура постановки
1	В лунки планшета для предварительного разведения сывороток внести по 90 мкл РРС и по 10 мкл исследуемых образцов, тщательно перемешивая пипетированием. При этом фиолетово-синий цвет должен измениться на голубовато-зелёный.
2	Внести в лунки Иммуносорбента по 90 мкл БР, за исключением лунок для К+, К-, Калибраторов.
3	Внести в лунки Иммуносорбента по 100 мкл К+, К-, Калибраторов.
4	В лунки Иммуносорбента, содержащие БР, внести по 10 мкл предварительно разведённых исследуемых образцов (конечное разведение исследуемых образцов 1:100), тщательно перемешивая пипетированием.
5	Планшет накрыть защитной плёнкой и выдержать **30 мин** при комнатной температуре (здесь (20-26) °С).
6	С помощью промывочного устройства удалить содержимое лунок в ёмкость с дезинфицирующим раствором и промыть планшет **3 раза** рабочим раствором ПР. Для этого осторожно внести рабочий ПР в лунки планшета до краёв (не менее 350 мкл в лунку), затем удалить в ёмкость с дезинфицирующим раствором. При необходимости аккуратно удалить остатки влаги путем отстукивания по сложенной в несколько слоёв фильтровальной бумаге. *Рекомендуется использовать автоматический микропланшетный вошер. Недостаточная промывка может неблагоприятно повлиять на точность анализа.*
7	Во все лунки планшета внести по 100 мкл Конъюгата.
8	Планшет накрыть защитной плёнкой и выдержать **15 мин** при комнатной температуре (здесь (20-26) °С).
9	С помощью промывочного устройства удалить содержимое лунок и промыть планшет **3 раза** рабочим ПР, как описано в п 6.
10	Во все лунки планшета внести по 100 мкл ТМБ-Субстратного раствора.
11	Планшет выдержать **15 мин** в защищённом от света месте при комнатной температуре (здесь (20-26) °С).
12	Реакцию остановить добавлением во все лунки по 150 мкл Стоп-реагента и через 1-2 мин, но не позднее 20 мин, измерить ОП при длине волны 450/620-680 нм. Допустимо измерять ОП при одной длине волны – 450 нм.

Схема проведения ИФА приведена в Приложении.

XI. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учёт результатов провести спектрофотометрически при двух длинах волн – 450 нм и при референс-длине волны в диапазоне от 620 до 680 нм с настройкой прибора по «воздуху». Допустим учёт результатов при одной длине волны – 450 нм.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

При правильной работе набора реагентов должно соблюдаться следующее соотношение: ОП Калибратора 0 < ОП Калибратора 1 < ОП Калибратора 2 < ОП Калибратора 3 < ОП Калибратора 4 < ОП Калибратора 5.

На бланке для построения калибровочного графика по оси абсцисс X отложить соответствующие значения концентрации антител классов G, M, A к кардиолипину в Калибраторах, выраженные в Ед/мл, по оси ординат Y отложить значения средней ОП Калибраторов. По полученным точкам построить калибровочный график.

По калибровочному графику определить концентрацию антител в исследуемых образцах.

Исследуемые образцы расценивать как положительные: если содержание суммарных антител ≥10 Ед/мл.

Исследуемые образцы расценивать как отрицательные: если содержание суммарных антител <10 Ед/мл.

Контрольный положительный образец (К+) и Контрольный отрицательный образец (К-) служат для проверки точности и достоверности результатов. Полученные величины концентраций специфических антител классов G, M, A к кардиолипину в образцах считать достоверными, если вычисленные по калибровочному графику значения концентраций антител в контрольных образцах попадают в пределы, указанные на потребительской упаковке и в паспорте на серию набора.

Если значение ОП образца выходит за пределы калибровки (превышает ОП Калибратора 5), то выдается результат «больше номинации Калибратора 5».

XII. МЕТОДЫ МАТЕМАТИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ РЕЗУЛЬТАТОВ

При учёте результатов с помощью встроенного или внешнего программного обеспечения спектрофотометра рекомендуется использовать следующие методы математической обработки результатов:

Марка спектрофотометра	Рекомендуемые методы математической обработки
Statfax 2100, 3200	Point-to-point
Tecan Sunrise	Point-to-point
Bio-Rad 680, iMark	4 PL-Cook-Wilkenson, Point-to-point
Multiscan EX, FC	Point-to-point

XIII. ОГРАНИЧЕНИЯ ТЕСТА

- Диагностика АФС возможна только при наличии одного клинического (тромбоз или осложнение беременности) и одного серологического критерия (присутствия антител к β2-гликопротеину 1 и/или кардиолипину классов G или M в сыворотке в средних и высоких титрах).
- Для исключения ложно-положительных результатов присутствие антител к β2-гликопротеину 1 и/или кардиолипину классов G или M в сыворотке должно быть подтверждено, по крайней мере, дважды в средних и высоких титрах, определенных в течение 12 недель.
- При отрицательных результатах определения волчаночного коагулянта, антител к β2-гликопротеину 1 и/или кардиолипину классов G или M и подозрении на наличие АФС рекомендовано дополнительное исследование на антитела к β2-гликопротеину 1 и/или кардиолипину класса A.
- АФС исключается, если менее 12 недель или более 5 лет выявляются анти-фосфолипидные антитела без клинических проявлений или наблюдаются клинические проявления без анти-фосфолипидных антител.
- Повышение уровня анти-фосфолипидных антител отмечают:

- при системных аутоиммунных заболеваниях (СКВ, ревматоидный артрит, системный склероз, первичный синдром Шегрена, дермато- и полимиозит, васкулит (узелковый полиартериит, микроскопический полиартериит, клеточный артериит, болезнь Бехчета, рецидивирующий полихондрит, лейкоцитокластический васкулит);
- у пациентов с инфекционной патологией, включая бактериальные инфекции (сифилис/лайм/боррелиоз, чума, сальмонеллезы, стафилококковые, стрептококковые инфекции, проказа), вирусные инфекции (ВИЧ-инфекция, цитомегаловирусная инфекция, гепатиты A, B, C, инфекции, вызванные вирусом Эпштейна-Барр, парвовирусом B19, аденовирусами, вирусами Herpes zoster, кори, краснухи, парвовирусами, COVID-19), паразитарные инвазии (туберкулез, другие микоплазмозы, малярия, лейшманиоз, токсоплазмоз, лихорадка Q);

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

· при злокачественных новообразованиях;
· при лимфопролиферативных заболеваниях (Болезнь Ходжкина, неходжкинская лимфома, лимфосаркома, Т клеточная лимфома кожи / синдром Сезари);
· при парапротеинемии (моноклональные гаммапатии, макроглобулинемия Вальденстрема, миелома);
· при незлокачественных гематологических состояниях (идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура, серповидноклеточная анемия, пернициозная анемия);
· на фоне других состояний (поздние стадии почечной недостаточности, сахарный диабет, аутоиммунные заболевания щитовидной железы, воспалительные заболевания кишечника, диализ, синдром Клайнфелтера, синдром Элерса-Данлоса).

XIV. СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

13.1	**Срок годности набора реагентов 18 месяцев. Наборы с истекшим сроком годности использованию не подлежат.**		
13.2	**Условия хранения набора реагентов**		
	Хранить наборы при температуре от 2 до 8 °С в сухом, защищенном от света месте с использованием оборудования и помещений, обеспечивающих заданные условия, в соответствии с установленными правилами. Замораживание не допускается. Наборы, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, использованию не подлежат.		
13.3	**Условия транспортирования набора реагентов**		
	Транспортировать наборы следует крытым транспортом, с соблюдением температурного режима, установленного изготовителем, в соответствии с установленными правилами перевозок. Наборы, транспортированные с нарушением температурного режима, использованию не подлежат.		
	Наборы реагентов транспортировать при температуре от 2 до 8 °С.		
13.4	**Условия и сроки хранения рабочих растворов** *(хранить в чистых флаконах в защищённом от света месте)*		
	Рабочий ПР	при температуре от 2 до 8 °С	не более 28 суток
		при температуре от 18 до 25 °С	не более 14 суток
13.5	**Условия и сроки хранения неиспользованных реагентов набора после вскрытия**		
	Хранить в сухом, защищённом от света месте при температуре от 2 до 8 °С. Замораживание не допускается.		
	Иммуносорбент	После вскрытия неиспользованные стрипы 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.	в течение срока годности набора реагентов
	Конъюгат, К+, К-, Калибраторы, БР, РРС, ПР, Стоп-реагент, ТМБ-Субстратный раствор	Флаконы плотно закрыть винтовыми крышками и хранить в упаковке производителя.	в течение срока годности набора реагентов

XV. ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ И РЕМОНТ

Набор реагентов «ДС-ИФА-АНТИ-КАРДИОЛИПИН-G,M,A» техническому обслуживанию и ремонту не подлежит.

XVI. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

- Производитель (изготовитель): Общество с ограниченной ответственностью «Научно-производственное объединение «Диагностические системы» (ООО «НПО «Диагностические системы»), 603157, Россия, г. Нижний Новгород, ул. Коминтерна, 47. Почтовый

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU Новгород, ул. Яблоневая, 22.

- Производитель гарантирует соответствие выпускаемого продукта требованиям нормативной и технической документации.
- Безопасность и качество набора реагентов гарантируются в течение всего установленного срока годности.
- Гарантии производителя не распространяются при нарушении условий хранения и транспортирования, а также в случае несоблюдения инструкции по применению.
- Рекламации на специфические и физические свойства набора направлять в адрес производителя:

ООО «НПО «Диагностические системы»
603093, Россия, г. Нижний Новгород, ул. Яблоневая, 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;
2) всех образцов кроводач пациента;
3) протоколов исследований с использованием других тест-систем с указанием производителя, серии, сроков годности.

XVII. ОБЪЯСНЕНИЕ ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СИМВОЛОВ

IVD	Медицинское изделие для диагностики *in vitro*		
	Изготовитель		Обратитесь к инструкции по применению
REF	Номер по каталогу	+2°C +8°C	Предел температуры
Σ	Содержимого достаточно для проведения *n* тестов (количество определений)		Не допускать воздействия солнечного света
LOT	Код партии (номер серии)		Беречь от влаги
	Дата изготовления (YYYY-MM)		Внимание
	Срок годности (дата истечения срока годности в формате YYYY-MM-DD)		Верх
	Не использовать при повреждении упаковки		Хрупкое, обращаться осторожно

Директор по производству
ООО «НПО «Диагностические системы», к.б.н. **В.К. Пименов**

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Приложение

Краткая схема

(допускается использование как форма записи)

Серия:	
Годен до:	Дата проведения:

Этапы проведения анализа			Отметка о выполнении
Выдержать набор реагентов		Не менее 30 мин, (20-26) °С	☐
Приготовить Рабочий ПР		1 часть ПР (х25) + 24 части H_2O	☐
Манипуляции на планшете для предварительного разведения сывороток:			
Внести РРС, исследуемые образцы		РРС по 90 мкл, исследуемые образцы по 10 мкл	☐☐
Внести БР, внести К+, К-, Калибраторы		В лунки Иммуносорбента по 90 мкл БР, в оставшиеся лунки по 100 мкл: К+, К-, Калибраторы 0, 1, 2, 3, 4, 5	☐☐
Внести предварительно разведённые исследуемые образцы		По 10 мкл в лунки Иммуносорбента, содержащие БР	☐
Инкубировать		Накрыть плёнкой, (20-26) °С, 30 мин	☐
Промыть Рабочим ПР		По 350 мкл 3 раза в каждую лунку	☐
Внести Конъюгат		По 100 мкл в каждую лунку	☐
Инкубировать		Накрыть плёнкой, (20-26) °С, 15 мин	☐
Промыть Рабочим ПР		По 350 мкл 3 раза в каждую лунку	☐
Внести ТМБ-Субстратный раствор		По 100 мкл в каждую лунку	☐
Инкубировать		(20-26) °С, в темноте, 15 мин	☐
Внести Стоп-реагент		По 150 мкл в каждую лунку	☐
Измерить ОП		При 450/620-680 нм или 450 нм	☐
Построить график:		f-X(Y)	☐
Провести оценку результатов			☐

Выполнил *(ФИО)*		*(подпись)*
Проверил *(ФИО)*		*(подпись)*

Прошнуровано, пронумеровано и скреплено печатью

13 (тринадцать) листов(а)

цифрами *прописью*

Проректор по научной работе

ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России, д.м.н. _____ Благонравова А.С.

личная подпись

Прошнуровано, пронумеровано и скреплено печатью

13 (тринадцать) листов(а)

цифрами *прописью*

Заместитель генерального директора _____ Шлюндин О.Н.

личная подпись

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU