

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»

М.Д. Хусаинов

«01» марта 2022 г.

М.П.

ОГРН 1025404347550

Новосибирская область, г.п. Колыванов

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для иммунохемилюминесцентного

выявления суммарных антител к *Treponema pallidum*

для автоматического ИХЛА-анализатора «Люминит»

(Антипаллидум-суммарные антитела-Люминит)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для иммунохемилюминесцентного выявления суммарных антител к *Treponema pallidum* для автоматического ИХЛА-анализатора «Люминит» «Антипаллидум-суммарные антитела-Люминит» (далее по тексту – набор) предназначен для качественного определения суммарных антител к *Treponema pallidum* в сыворотке (плазме) крови и ликворе человека методом иммунохемилюминесцентного анализа (ИХЛА) на микрочастицах с использованием анализатора иммунохемилюминесцентного автоматического «Люминит» (Luminite) с принадлежностями.

Набор может быть использован для массового скрининга населения, включая скрининг доноров крови и её компонентов, тканей и органов, а также для диагностики сифилиса как составная часть комплекса серологических реакций.

1.2. Набор рассчитан на проведение анализа 108 образцов, включая калибровочный и контрольные образцы.

2. КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ТЕСТА

Сифилис – хроническое инфекционное заболевание, вызываемое бледной трепонемой (*Treponema pallidum*), характеризующееся поражением кожи, слизистых оболочек, нервной системы, внутренних органов и опорно-двигательного аппарата и отличающееся стадийным, рецидивирующим, прогрессирующим течением. Передается преимущественно половым путем, однако существуют и другие способы инфицирования: контактно-бытовой, трансплацентарный (вертикальный) и трансфузионный [1].

Инкубационный период в среднем продолжается 28-30 дней. В некоторых случаях может сокращаться до 14 дней или удлиняться до нескольких месяцев. [2]. Несмотря на имеющееся многообразие манифестных форм, все большее количество случаев сифилитической инфекции протекает бессимптомно. Основополагающими в лабораторной диагностике сифилиса являются серологические

Инструкция составлена сотрудниками АО «Вектор-Бест»: директором НИИ СД М.Ю. Рукавишниковым, директором по производству В.К. Ткачевым, нач. отделения ИФА сифилиса Т.Г. Вят-
ЭЛЕКТРОННАЯ КОПИЯ ОФОРМЛЕНА ЦЕНТРОМ ИСПЫТАНИЙ И РЕГИСТРАЦИИ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ
минесцентного анализа А.С. Сальниковым.

методы, из которых наибольшее значение имеют специфические трепонемные тесты, выявляющие антитела к *Treponema pallidum* [3].

Специфические антитела против белковых антигенов *Treponema pallidum* начинают выявляться к концу инкубационного периода. По мере развития инфекционного процесса концентрация их в сыворотке крови нарастает, сохраняется в течение всего заболевания и на протяжении нескольких лет после успешной терапии, с постепенным снижением уровня [4].

Определение специфических антител в ликворе (СМЖ) совместно с другими клинико-лабораторными исследованиями способствуют достоверной диагностике нейросифилиса и принятию решения о назначении специфической терапии [5].

Тестирование на антитела к *Treponema pallidum* является в России обязательным при скрининге доноров крови, органов и тканей [6] и рекомендованным при скрининге отдельных категорий населения [7].

3. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

3.1. Принцип метода

Метод основан на одностадийном «сэндвич»-варианте твердофазного иммунохемилюминесцентного анализа с применением рекомбинантных антигенов. При наличии в исследуемом образце антител к *Treponema pallidum* они связываются с рекомбинантными антигенами, иммобилизованными на поверхности магнитных микрочастиц и входящими в состав конъюгата. При добавлении хемилюминесцентного субстратного раствора к образовавшемуся комплексу «антиген-антитело» происходит эмиссия фотонов. Интенсивность люминесценции пропорциональна содержанию антител к *Treponema pallidum* в анализируемом образце. Результаты ИХЛА регистрируются измерением интенсивности люминесценции в реакционной кювете.

3.2. Состав набора

Компонент набора (сокращение)		Кол-во
<i>Описание</i>		
Штатив с двухмерным штрих-кодом с реагентами:		2 шт.
Микрочастицы с антигенами <i>Treponema pallidum</i> Магнитные микрочастицы с иммобилизованными рекомбинантными антигенами <i>Treponema pallidum</i> . Содержит ProClin 150 (0,05%).	1 фл., 3,7 мл	
Калибровочный образец (КО)* Содержит антитела к <i>Treponema pallidum</i> . Содержит натрия азид (0,1%).	2 фл. по 2,5 мл	
Конъюгат, концентрат Рекомбинантные антигены <i>Treponema pallidum</i> с пероксидазой хрена. Содержит ProClin 300 (0,005%), натрия мертиолят (0,01%).	2 фл. по 0,35 мл	
Разводящий раствор (РР) Содержит фенол (0,125%); натрия мертиолят (0,02%).	1 фл., 9,0 мл	
Положительный контрольный образец (К⁺) Содержит антитела к <i>Treponema pallidum</i> . Содержит натрия азид (0,1%).		2 проб. по 1,0 мл

Отрицательный контрольный образец (K ⁻) Не содержит антитела к <i>Treponema pallidum</i> . Содержит ProClin 300 (0,085%), натрия мертиолят (0,02%).	2 проб. по 1,0 мл
---	-------------------------

*аттестован относительно калибраторов набора реагентов «Syphilis Elecsys and cobas e analyzers», «Roche Diagnostics GmbH, Германия, РЗН 2017/5265 от 13.01.2017.

4. ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ И АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

4.1. Диагностическая чувствительность:

- при исследовании 512 серопозитивных образцов сыворотки (плазмы) крови составила 100% (интервал 99,28% – 100% с доверительной вероятностью 95%);
- при исследовании 21 серопозитивного образца ликвора составила 100% (интервал 83,89% – 100% с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическая специфичность:

- при исследовании 750 серонегативных образцов сыворотки (плазмы) крови составила 100% (интервал 99,51% – 100% с доверительной вероятностью 95%);
- при исследовании 29 серонегативных образцов ликвора составила 100% (интервал 88,06% – 100% с доверительной вероятностью 95%).

4.2. Аналитическая специфичность:

- при исследовании 301 образца сыворотки (плазмы) крови пациентов, свободных от сифилитической инфекции, но содержащих антитела к другим патогенам: к клещевым боррелиозам, к вирусам гепатитов А, В, С, Е, вирусам простого герпеса 1 и 2 типа, цитомегаловирусу, ВИЧ-1,2, вирусу Эпштейна-Барр, вирусу кори, вирусу эндемического паротита, вирусу клещевого энцефалита, *Helicobacter pylori*, *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Mycoplasma hominis*, *Chlamydia trachomatis*, а также сыворотки (плазмы) крови беременных женщин и пациентов с антителами к ревматоидному фактору не получено ложноположительных результатов, что свидетельствует об отсутствии кросс-реактивности и высокой специфичности.

4.3. Потенциально интерферирующие вещества – триглицериды в концентрации до 40 мг/мл, билирубин в концентрации до 0,40 мг/мл, гемоглобин в концентрации до 7 мг/мл, общий белок в концентрации до 140 мг/мл – не оказывают влияния на получение правильных результатов выявления суммарных антител к *Treponema pallidum* в испытываемых наборах реагентов.

4.4. Воспроизводимость:

Для оценки воспроизводимости были исследованы следующие образцы: два положительных с разной степенью позитивности, отрицательный, а также контрольные образцы, входящие в состав набора.

Воспроизводимость внутри постановки оценивалась по 16 повторам каждого образца.

Воспроизводимость между постановками оценивалась в течение 5 дней, по 4 постановки в день

(с интервалом не менее 2 часов) с использованием 4 повторов каждого образца.

№№ образца	Воспроизводимость					
	в пределах постановки n= 16			между постановками n= 80 (5×4×4)		
	КПср	Стандартное отклонение	Коэффициент вариации, %	КПср	Стандартное отклонение	Коэффициент вариации, %
1	1,115	0,085	7,7	1,113	0,103	9,2
2	11,928	0,617	5,2	10,689	0,949	8,9
3	0,060	0,008	н/п	0,037	0,009	н/п
K ⁻	0,002	0,001	н/п	0,002	0,001	н/п
K ⁺	6,841	0,405	5,9	6,029	0,554	9,2

н/п – не показательно ввиду очень низкого значения КП.

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

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

5.3. Некоторые компоненты содержат ProClin 150, ProClin 300, фенол, натрия мертиолят, натрия азид в концентрациях, указанных в п. 3.2. «Состав набора».

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

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

5.5. При использовании набора образуются отходы классов А, Б, В и Г, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) 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-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».

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

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

– Анализатор иммунохемилюминесцентный автоматический «Люминит» (Luminite) с принад-

жесткостями (далее по тексту – анализатор);

- пластиковые пробирки для образцов в тех случаях, когда имеющаяся пробирка не удовлетворяет соответствующим требованиям (см. Руководство по эксплуатации анализатора);
- холодильник бытовой;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

7. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

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

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

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

7.3. Образцы сыворотки (плазмы) крови и ликвора следует хранить при температуре (2-8) °C не более 5 суток, или при температуре минус 18 °C и ниже, если требуется более длительное хранение. Допускается однократное замораживание. После размораживания образцы следует тщательно перемешать.

7.4. Инактивированные при 56 °C образцы сыворотки крови также могут быть использованы для анализа.

7.5. Образцы сыворотки крови, содержащие взвешенные частицы, необходимо очистить центрифугированием.

7.6. Объем образца должен быть достаточен для проведения иммунохемилюминесцентного анализа с учетом «мертвого» объема 200-400 мкл (см Руководство по эксплуатации анализатора).

8. ОБРАЩЕНИЕ С РЕАГЕНТАМИ

При использовании набора необходимо строгое соблюдение данной инструкции по применению, иначе надёжность получаемых результатов не может быть гарантирована.

8.1. Набор с реагентами хранить только в вертикальном положении!

8.2. Не извлекайте флаконы с реагентами из штатива, в который они установлены, не переставляйте флаконы из одного штатива в другой.

8.3. После установки штатива с реагентами на борт анализатора не извлекайте штатив до завершения его полного использования, иначе его дальнейшее применение станет невозможным. Хранение реагентов после первого использования возможно только на борту анализатора не более 30 дней. Срок годности реагентов на борту анализатора контролируется автоматически.

8.4. Пробирки с контрольными образцами K^+ , K^- сразу после проведения процедуры контроля

необходимо извлечь из штатива для проб, закрыть и хранить в холодильнике при температуре (2–8) °С до следующего использования. Срок хранения контрольных образцов после первого вскрытия – не более 30 дней.

9. КАЛИБРОВКА И КОНТРОЛЬ

9.1. При первом использовании каждого штатива с реагентами автоматически выполняется процедура калибровки. Повторная калибровка осуществляется на 16 день хранения штатива с реагентами на борту анализатора, если он не был за это время полностью использован. Кроме того, калибровка может быть обновлена в любой момент по требованию.

Калибровка — это коррекция значения интенсивности люминесценции дискриминационного уровня (cut-off) с учетом результатов анализа калибровочного образца (КО), входящего в состав набора, исследованного в дубле. Необходимые для проведения калибровки параметры считываются со штрих-кода штатива с реагентами.

9.2. После калибровки необходимо выполнить анализ контрольных образцов K^+ и K^- , входящих в состав набора. Полученные для контрольных образцов значения интенсивностей люминесценции должны соответствовать заданным диапазонам значений, указанным в штрих-коде штатива с реагентами и в паспорте на используемую серию набора. Только при получении удовлетворительных значений контрольных образцов K^+ и K^- можно анализировать исследуемые образцы.

9.3. В дальнейшем контроль с использованием K^+ и K^- должен проводиться в начале каждого 24-часового цикла использования теста. Если значение хотя бы одного из контрольных образцов не соответствует заданному диапазону значений, необходимо повторить процедуру калибровки и контроля.

10. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

10.1. Подготовить анализатор иммунохемилюминесцентный автоматический «Люминит» (Luminite) с принадлежностями (анализатор) к работе в соответствии с Руководством по эксплуатации анализатора.

10.2. Установить штатив с реагентами на борт анализатора, не открывая флаконы. Перемешивание микрочастиц перед использованием и приготовление конъюгата в рабочем разведении происходит автоматически.

10.3. Пробирки с контрольными образцами K^+ , K^- открыть и поместить в штатив для проб.

10.4. Пробирки с исследуемыми образцами открыть и поместить в штативы для проб. Минимально требуемый объем образца равен 20 мкл на одно измерение плюс «мертвый» объем (см. п. 7.6.).

10.5. Установить штативы для проб в соответствующее отделение анализатора.

10.6. Идентификация исследуемых образцов, штатива с реагентами и контрольных образцов осуществляется анализатором путем считывания соответствующих штрих-кодов. Допускается внесение информации об исследуемых образцах вручную.

10.7. Запуск теста осуществлять в соответствии с Руководством по эксплуатации анализатора.

11. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ

11.1. Анализатор автоматически производит расчёт коэффициента позитивности образца

(КП_{обр}) как соотношения интенсивности люминесценции исследуемого образца (I_{обр.}) и дискриминационного уровня люминесценции (I_{cut-off}):

$$\text{КП}_{\text{обр}} = I_{\text{обр}} / I_{\text{cut-off}}$$

11.2. Результат считается положительным, если $\text{КП}_{\text{обр}} \geq 1$.

Результат считается отрицательным, если $\text{КП}_{\text{обр}} < 1$.

11.3. Образцы с первично положительным результатом требуют повторного тестирования.

12. ОГРАНИЧЕНИЯ ТЕСТА

12.1. Для достижения заявленных характеристик теста необходимо строгое соблюдение инструкции по применению.

12.2. Применение теста ограничено обнаружением антител к *Treponema pallidum* в сыворотке, плазме крови и ликворе человека. Характеристики теста в отношении проб другой природы не установлены.

12.3. Антитела к *Treponema pallidum* могут быть обнаружены у подавляющего большинства пациентов с сифилисом, однако результаты теста могут быть отрицательными на ранней стадии инфекции, в период серонегативного окна.

12.4. Отрицательный результат означает, что тестируемый образец не содержит антитела к *Treponema pallidum* или содержит их в концентрации ниже определяемого набором уровня.

12.5. Положительный результат теста не является диагнозом и должен интерпретироваться специалистом с учетом собранного анамнеза, данных клинического обследования и результатов других серологических тестов.

13. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

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

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

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

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

13.5. Набор предназначен для однократного применения.

14. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

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

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

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

14.3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

15. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1) Клинические рекомендации «Сифилис» (утв. Минздравом России) 2020.
- 2) Дерматовенерология. Национальное руководство / под ред. Ю.К. Скрипкина, Ю.С. Бутова, О.Л. Иванова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. – с. 546.
- 3) Дмитриев Г.А., Глазко И.И. Диагностика инфекций, передаваемых половым путем. М.: «Издательство БИНОМ», 2007. – с. 116-119.
- 4) Черешнев В.А., Патрушева Н.Б., Бейкин Я.Б. и др. Сифилис. Иммунология и лабораторная диагностика. Екатеринбург: Издательство УрО РАН, 2006. – с. 104-106.
- 5) Дмитриев Г.А. Нейросифилис: проблемы и решения. Издательство БИНОМ, 2016. – с. 119.
- 6) Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 28.10.2020 № 1166н «Об утверждении порядка прохождения донорами медицинского обследования и перечня медицинских противопоказаний (временных и постоянных) для сдачи крови и (или) ее компонентов и сроков отвода, которому подлежит лицо при наличии временных медицинских показаний, от донорства крови и (или) ее компонентов».
- 7) Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 26 марта 2001 г. N 87 «О совершенствовании серологической диагностики сифилиса».

По вопросам, касающимся качества набора «Антипаллидум-суммарные антитела-Люминит» обращаться:

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

тел. (383) 252-51-62, 227-60-30.

тел./факс (383), 252-51-81, 252-51-77.

E-mail: plkobtk@vector-best.ru

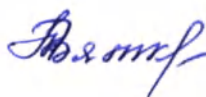
Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 252-51-74.

Нач. лаборатории
иммунолюминесцентного
анализа НИИ СД
АО «Вектор-Бест»



А.С. Сальников

Нач. отделения
ИФА сифилиса
АО «Вектор-Бест»



Т.Г. Вяткина

Директор по производству
АО «Вектор-Бест»

В.К. Ткачев

Директор НИИ СД
АО «Вектор-Бест»

М.Ю. Рукавишников

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



Т.И. Поспелова



Прошнуровано, пронумеровано и
скреплено печатью 9 листов.

Отв. за учет договоров НИР ФГБОУ ВО НГМУ
Минздрава России

Захарова Л.Н

"01" марта 2022 г.

