

«СОГЛАСОВАНО»

Директор ФИЦ ФТМ



М.И. Воевода

2022 г.

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

ООО «ИМБИАН ЛАБ»



В.В. Осипова

2022 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ *IN VITRO*

Набор реагентов для определения суммарных антител к *Treponema pallidum* в сыворотке (плазме) крови и ликворе человека методом одностадийного иммуноферментного «сэндвич» анализа «СИФ-GAM-ИМБИАН-ИФА», ТУ 21.20.23-143-41390295-2022

1. ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ

1.1. Назначение набора

Набор реагентов для определения суммарных антител к *Treponema pallidum* в сыворотке (плазме) крови и ликворе человека методом одностадийного иммуноферментного «сэндвич» анализа «СИФ-GAM-ИМБИАН-ИФА», ТУ 21.20.23-143-41390295-2022 предназначен для качественного выявления суммарных антител (IgG, IgA, IgM) к антигенам *Treponema pallidum* в сыворотке и плазме (с ЭДТА, гепарином, цитратом натрия) крови и ликворе человека методом одностадийного иммуноферментного «сэндвич» анализа.

Набор реагентов «СИФ-GAM-ИМБИАН-ИФА» рекомендуется применять:

- как вспомогательное средство диагностики сифилиса;
- для обследования доноров крови и органов человека;
- для скрининговых обследований на наличие антител к *Treponema pallidum*;
- для мониторинга эпидемиологической ситуации среди населения.

Популяционные и демографические аспекты применения изделия: выявление антител к *Treponema pallidum* целесообразно проводить у следующих групп населения:

- беременные женщины;
- доноры крови и органов для трансплантации;
- некоторые профессиональные контингенты (работники питания, образования, здравоохранения);
- военнослужащие;
- лица, отбывающие наказание в местах лишения свободы;
- иностранные граждане, получающие визу для проживания на территории России на срок более 3 месяцев;
- больные, готовящиеся к оперативному хирургическому вмешательству;
- лица, поступившие на стационарное лечение.

Только для диагностики *in vitro*.

1.2. Область применения – клиническая лабораторная диагностика.

1.3. Предназначенный пользователь

Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике специально обученным персоналом с высшим или средним медицинским, или биологическим образованием, прошедшим подготовку на лицензированных курсах первичной специализации по работе с патогенными для человека микроорганизмами и получившим

дополнительное специальное образование на курсах повышения квалификации. Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗДЕЛИЯ

2.1. Состав набора реагентов представлен в таблице 1.

Таблица 1. Состав набора реагентов «СИФ-GAM-ИМБИАН-ИФА»

Название компонента	Описание компонента	Комплект 1	Комплект 2	Комплект 3
Иммуно-сорбент	Запаянный в фольгированный пакет типа «зип-лок» 96-луночный разборный до лунок полистироловый планшет для иммунологических реакций с плоским дном (12 стрипов по 8 лунок) с сорбированными рекомбинантными антигенами <i>Treponema pallidum</i> .	1 шт.	2 шт.	5 шт.
К(+)	Инактивированный положительный контрольный образец на основе сыворотки крови человека, содержащий антитела к <i>Treponema pallidum</i> . Прозрачная жидкость желтого цвета. <i>Содержит проклин-300 (0,1 %)</i> . Готов к применению.	1 флакон (0,5 мл)	2 флакона (0,5 мл)	1 флакон (2,0 мл)
К(-)	Инактивированный отрицательный контрольный образец на основе сыворотки крови человека, не содержащий антитела к <i>Treponema pallidum</i> . Прозрачная жидкость синего цвета. <i>Содержит проклин-300 (0,1 %)</i> . Готов к применению.	1 флакон (1,0 мл)	2 флакона (1,0 мл)	1 флакон (4,0 мл)
ФСБ-Т (x26)	Концентрат промывочного раствора, 26-кратный. Слегка опалесцирующая, бесцветная жидкость, возможно выпадение осадка. <i>Содержит концентрат фосфатно-солевого буфера, бензоат натрия (0,5 %)</i> . Требуется разведения.	1 флакон (30,0 мл)	2 флакона (30,0 мл)	1 флакон (250,0 мл)
РК	Раствор конъюгата. Смесь рекомбинантных антигенов <i>Treponema pallidum</i> , конъюгированные с пероксидазой хрена. Прозрачная жидкость синего цвета, возможно выпадение осадка, исчезающего при встряхивании. <i>Содержит фосфатно-солевой буфер, стабилизаторы, фенол (0,2 %)</i> . Готов к применению.	1 флакон (13,0 мл)	2 флакона (13,0 мл)	1 флакон (60,0 мл)
ТМБ	Раствор тетраметилбензидина. Прозрачная бесцветная жидкость.	1 флакон (13,0 мл)	2 флакона (13,0 мл)	1 флакон (60,0 мл)

	Содержит тетраметилбензидин, стабилизаторы, диметилсульфоксид. Готов к применению.			
Стоп-реагент	Прозрачная бесцветная жидкость. Содержит кислоту серную (1,0 моль/литр). Готов к применению	1 флакон (13,0 мл)	2 флакона (13,0 мл)	1 флакон (60,0 мл)
Пленка для заклеивания планшета		2 шт.	4 шт.	10 шт.
Ванночки для реагентов		2 шт.	4 шт.	10 шт.
Наконечники для пипеток		16 шт.	32 шт.	80 шт.
Инструкция по применению набора реагентов		1 шт.	1 шт.	1 шт.

В комплект каждой поставки должен входить паспорт качества в одном экземпляре независимо от количества наборов реагентов в поставке.

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**.

Растворы реагентов **ФСБ-Т (x26)**, **ТМБ** и **Стоп-реагент** являются унифицированными неспецифическими компонентами наборами реагентов и могут применяться для исследования в любых сериях наборов реагентов.

2.3. Принцип метода

Принцип действия набора реагентов – одностадийный иммуноферментный «сэндвич» анализ. На поверхности лунок полистиролового планшета сорбированы рекомбинантные антигены, идентичные антигенам p15, p17, p47 и tpmA *Treponema pallidum*. В лунки вносится **РК**, содержащий смесь рекомбинантных антигенов *Treponema pallidum*, конъюгированных с пероксидазой хрена, а затем контрольные и анализируемые образцы. При наличии в образцах специфических антител классов G, M, A к антигенам *Treponema pallidum* образуется комплекс антиген-антитело-антиген-пероксидаза хрена. При добавлении **ТМБ** в результате ферментативной реакции содержимое лунок планшета окрашивается. Ферментативная реакция останавливается внесением **Стоп-реагента**.

3. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

3.1. Аналитические характеристики

3.1.1. Аналитическая чувствительность

Аналитическая чувствительность при исследовании на первом международном стандарте WHO International Standard 1st IS for human syphilitic plasma IgG and IgM NIBSC code: 05/132 составляет 0,001 МЕ/мл.

3.1.2. Чувствительность

Чувствительность при исследовании на контрольной панели сывороток «Антипаллидум-контрольная панель сывороток» (АО «Вектор-Бест», Россия, РУ №ФСР 2009/05494 от 25.03.2017) составляет 100% без ложноотрицательных результатов.

3.1.3. Специфичность

Специфичность при исследовании на контрольной панели сывороток «Антипаллидум-контрольная панель сывороток» (АО «Вектор-Бест», Россия, РУ №ФСР 2009/05494 от 25.03.2017) составляет 100% без ложноположительных результатов.

3.1.4. Хук-эффект

При исследовании на первом международном стандарте WHO International Standard 1st IS for human syphilitic plasma IgG and IgM NIBSC code: 05/132 в концентрации, не превышающей 3 МЕ/мл, ложноотрицательных результатов (хук-эффект) выявлено не было.

3.1.5. Повторяемость

В рамках проведения внутренних испытаний повторяемость определялась для 30 повторов 3 образцов сыворотки, 3 образцов плазмы крови, и 3 образцов ликвора человека на девяти сериях набора реагентов. Внутрисерийный и межсерийный коэффициенты вариации измерения оптической плотности не превысили 8%.

В рамках проведения технических испытаний коэффициент вариации измерения оптической плотности K(+) в восьми повторах не превысил 8%.

В рамках проведения клинических испытаний коэффициент вариации измерения оптической плотности K(+) в восьми повторах не превысил 8%.

Внутрисерийный коэффициент вариации результатов для 6 образцов сыворотки крови, 6 образцов плазмы крови человека, 6 образцов ликвора человека в 10 повторах одной серии не превысил 8%. Межсерийный коэффициент вариации результатов в одном и том же образце для каждого типа образца не превысил 8%.

3.1.6. Правильность

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

3.2. **Диагностические характеристики**

3.2.1. Воспроизводимость

Для определения воспроизводимости анализа была проведена оценка результатов повторяемости анализа в трех лабораториях: проведение предварительных испытаний в лаборатории экспериментального моделирования и патогенеза инфекционных заболеваний ФИЦ ФТМ, проведение технических испытаний в ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР» и проведение клинических испытаний в ЕИЗИ ФИЦ ФТМ.

Коэффициент вариации результатов при определении суммарных антител к *Treponema pallidum* не превышает 8,0%.

3.2.2. Перекрестная реактивность

В рамках проведения клинических испытаний перекрестную реактивность набора реагентов изучали на 190 заведомо отрицательных сыворотках крови человека из хранилища крови ФИЦ ФТМ, не содержащих антитела к *Treponema pallidum* и содержащих антитела к *Borrelia burgdorferi*, *Trichomonas vaginalis*, *Chlamydia trachomatis*; вирусу простого герпеса 1 и 2 типов; вирусу гепатита В; вирусу гепатита С, ревматоидный фактор, а также полученных от беременных женщин.

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

3.2.3. Интерферирующие вещества

В рамках проведения клинических испытаний оценку влияния интерферирующих веществ на результат анализа 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 мочевины (до 800,0 мг/л) в клинических образцах.

3.2.4. Эквивалентность

В рамках проведения клинических испытаний проводили оценку эквивалентности результатов анализа образцов сыворотки и плазмы крови человека (с гепарином, цитратом натрия и ЭДТА), полученных от одного и того же пациента, содержащих и не содержащих антитела к *Treponema pallidum*, методом ИФА при постановке по процедуре №1 и процедуре №2.

Результаты испытаний продемонстрировали эквивалентность сыворотки плазме крови человека (с гепарином, ЭДТА, цитратом натрия).

3.2.5. Стабильность

В рамках внутренних испытаний проведена оценка стабильности для установления срока годности и условий хранения набора реагентов «СИФ-GAM-ИМБИАН-ИФА».

По результатам испытаний установлено: набор реагентов сохраняет стабильность при температуре хранения от 2 до 8°C 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°C в течении 10 суток и дальнейшего хранения при температуре от 2 до 8°C в течение срока годности (24 месяца) и в течение 1 месяца после окончания срока годности; сохраняет стабильность после вскрытия компонентов набора реагентов и дальнейшем хранении их при температуре от 2 до 8°C в течение 24 месяцев.

Воздействие температуры не выше 28°C в течение 10 суток не влияет на характеристики набора реагентов. Допускается транспортирование при температуре не выше 28°C в течение 10 суток.

Рабочий промывочный раствор ФСБ-Т хранится в течение 15 суток при температуре от 18 до 28°C или 45 суток при температуре от 2 до 8°C.

3.2.6. Диагностическая чувствительность

В ходе клинико-лабораторных испытаний диагностическую чувствительность определения иммуноглобулинов класса G (IgG) к *Treponema pallidum* определяли на 222 положительных образцах сыворотки, плазмы крови и 36 положительных образцах ликвора. Диагностическая чувствительность для каждого вида биологического материала составила:

- сыворотка (плазма) крови – 100%, ДВ 95%, ДИ: 98,66% - 100%;
- ликвор – 100%, ДВ 95%, ДИ: 92,01% - 100%.

3.2.7. Диагностическая специфичность

В ходе клинико-лабораторных испытаний диагностическую специфичность определения иммуноглобулинов класса G (IgG) к *Treponema pallidum* определяли на 444 отрицательных образцах сыворотки, плазмы крови и 30 отрицательных ликвора. Диагностическая специфичность для каждого вида биологического материала составила:

- сыворотка (плазма) крови – 100%, ДВ 95%, ДИ: 99,33% - 100%;
- ликвор человека – 100%, ДВ 95%, ДИ: 90,50% - 100%.

3.2.8. Чувствительность скринингового тестирования

В ходе скринингового исследования, смоделированного в ходе клинико-лабораторных испытаний, чувствительность определяли на 204 положительных образцах (в том числе 154 образца последовательной сдачи крови, полученных после начала сероконверсии, 50 «взятых в тот же день» образцов свежих проб сыворотки и плазмы крови человека), показана 100% чувствительность (ДВ 95%, ДИ: 98,54% - 100%).

3.2.9. Специфичность скринингового тестирования

В ходе скринингового исследования, смоделированного в ходе клинико-лабораторных испытаний, специфичность определяли на 5012 отрицательных образцах, полученных от

доноров крови или органов человека, показана 100% специфичность (ДВ 95%, ДИ: 99,94% - 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 – класс 2б.

4.2. Набор реагентов предназначен только для профессионального использования. Работу следует проводить в специально оборудованном помещении лаборатории, отвечающей требованиям СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней». При работе с набором реагентов требуется соблюдать требования «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР 17 января 1991 года; ГОСТ Р 52905-2007 (ИСО 15190:2003) «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

4.3. Так как контрольные и анализируемые образцы являются потенциально инфицированным биоматериалом, то при работе с набором реагентов необходимо использовать индивидуальные средства защиты: халат, головной убор, маску, 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, инактивирована нагреванием при температуре $(56 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 3 ч, содержит антитела к *Treponema pallidum* и не содержит антитела к ВИЧ-1,2, вирусу гепатита С и поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg).

4.6. Сыворотка (плазма) крови человека, использованная для приготовления отрицательного контроля, инактивирована нагреванием при температуре $(56 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 3ч, не содержит антитела к *Treponema pallidum*, антитела к ВИЧ-1,2, вирусу гепатита С и поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg).

4.7. В состав компонентов **К(+)**, **К(-)**, **РК**, **ТМБ**, **ФСБ-Т(x26)** входят консерванты в концентрациях, являющихся нетоксичными. **К(+)** и **К(-)** содержат 0,1% Проклина 300, **РК** – 0,2% фенола; **ТМБ** – 0,5% бензоата натрия; **ФСБ-Т(x26)** – 0,5% бензоата натрия.

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.

4.9. Все компоненты, входящие в состав набора реагентов, предназначены только для диагностики *in vitro*. Все реактивы, входящие в состав компонентов набора реагентов в используемых концентрациях являются нетоксичными.

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. При использовании набора реагентов токсичных отходов не образуется. Образуются отходы классов А, Б и Г, которые необходимо 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 (кроме унифицированных растворов реагентов ФСБ-Т (х26), ТМБ и Стоп-реагент).

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 его компонентов.

5.7. Исследования проводить в соответствии с условиями внешней среды для постановки анализа, представленными в таблице 2.

Таблица 2. Условия внешней среды для постановки анализа

№п/п	Показатели	Значения
1	Температура воздуха	18-25°C
2	Относительная влажность	40-60%

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 прошедшие валидацию дозаторы и оборудование.

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 РК, ТМБ.

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 РК и ТМБ.

5.17. Рекомендуется для отбора РК и ТМБ 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 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 **K(+)** требуется аккуратная, тщательная работа без разбрызгивания компонентов и образцов.

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Термогигрометр, позволяющий измерять температуру воздуха в диапазоне $0-30^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$, относительную влажность – 20-90%;

- 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 (ГОСТ 58144-2018);

- бумага фильтровальная;

- таймер;

- одноразовые нестерильные медицинские перчатки;

- лабораторная посуда.

7. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

7.1. Нативная сыворотка, плазма (с гепарином, цитратом натрия, ЭДТА) крови или ликвор человека. Аналитический объем образца – 10 мкл.

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

7.3. Образцы ликвора до анализа ИФА хранить не более 24 ч при температуре от 2 до 8°C , не более 7 суток – при температуре минус 20°C .

7.4. Замороженные образцы перед исследованием прогреть до температуры (17 до 27°C) 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.

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

7.6. 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

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°C, аккуратно перемешать.

Внимание!

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

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

Компонент **ФСБ-Т(x26)** представлен в виде концентрата. Требуется разведение.

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 «зип-лок». 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 70% этиловым спиртом и затем дистиллированной 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.

Необходимое количество рабочего промывочного раствора **ФСБ-Т** приготовить в соответствии с таблицей 3.

Рабочий промывочный раствор **ФСБ-Т** хранить при температуре от 18 до 28°C не более 15 суток или при температуре от 2 до 8°C не более 45 суток.

Неиспользованный концентрат промывочного раствора **ФСБ-Т(х26)** хранить в упаковке производителя при температуре от 2 до 8°C до истечения срока годности набора.

Таблица 3. Приготовление рабочего раствора **ФСБ-Т**

Количество используемых стрипов, шт.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
ФСБ-Т (х26), мл	2,0	4,0	6,0	8,0	10,0	12,0	14,0	16,0	18,0	20,0	22,0	30,0
Вода*, мл	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500	550	750

Примечание: * вода дистиллированная по ГОСТ Р 58144-2018.

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Таблица 4. Постановка анализа по процедуре № 1 (использование термошейкера)

Этап анализа	Процедура этапа анализа	Примечание
1	Установить необходимое количество стрипов в рамку планшета.	
2	Во все лунки Иммуносорбента (для контрольных образцов и исследуемых образцов) внести по 90 мкл раствора конъюгата РК.	При использовании 1 стрипа допускается внесение К(-) в 1 лунку
3	Внести в одну лунку 10 мкл К(+). Внести в две лунки по 10 мкл К(-). Выбор лунок для расположения контролей произвольный. Например, лунка А1 для внесения К(+), лунки В1 и С1 – для К(-). Внести по 10 мкл анализируемых образцов. Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой.	Время внесения образцов при использовании всего планшета не должно превышать 10 мин. При внесении анализируемых образцов должна наблюдаться цветовая индикация внесения образца в лунку. При ошибке внесения анализируемого образца лунка бракуется. Запрещается удаление раствора из лунки с последующим внесением в нее нового образца
4	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 20 мин. Для инкубации использовать орбитальный термошейкер. Скорость вращения платформы шейкера: 700 об/мин.; температура инкубации: 37±1°C	
5	С помощью промывателя для планшетов удалить содержимое лунок. Пять раз промыть планшет рабочим раствором ФСБ-Т , внося в лунки 400 мкл раствора. Экспозиция между этапами отмывки – 30 секунд. По окончании промывки при необходимости удалить влагу из лунок, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге	Внимание! Недостаточная аспирация жидкости в лунке может привести к искажению результата исследования. Производитель рекомендует использовать режим отмывки с перекрестной придонной аспирацией. Внимание! Не допускать высыхания лунок Иммуносорбента в перерыве между завершением промывок и внесением реагентов.
6	Во все лунки планшета внести по 100 мкл ТМБ Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой.	Время внесения ТМБ при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты. Внимание! Остатки ТМБ из ванночек утилизировать – повторное использование запрещено.
7	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 10 мин. Для инкубации использовать орбитальный термошейкер. Скорость вращения платформы шейкера: 700 об/мин.; температура инкубации: 37±1°C	
8	Реакцию остановить внесением в каждую лунку Иммуносорбента по 100 мкл Стоп-реагента .	Время внесения Стоп-реагента 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:	Внимание! Учет реакции необходимо произвести не позднее, чем через 5 мин. после остановки

– основной - 450 нм, – референсный – 620-680 нм.	реакции
---	---------

Таблица 5. Постановка анализа по процедуре № 2 (использование термостата)

Этап анализа	Процедура этапа анализа	Примечание
1	Установить необходимое количество стрипов в рамку планшета.	
2	Во все лунки Иммуносорбента (для контрольных образцов и исследуемых образцов) внести по 90 мкл раствора конъюгата РК.	При использовании 1 стрипа допускается внесение К(-) в 1 лунку.
3	Внести в одну лунку 10 мкл К(+). Внести в две лунки по 10 мкл К(-). Выбор лунок для расположения контролей произвольный. Например, лунка А1 для внесения К(+), лунки В1 и С1 – для К(-). Внести по 10 мкл анализируемых образцов. Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой.	Время внесения образцов при использовании всего планшета не должно превышать 10 мин. При внесении анализируемых образцов должна наблюдаться цветовая индикация внесения образца в лунку. При ошибке внесения анализируемого образца лунка бракуется. Запрещается удаление раствора из лунки с последующим внесением в нее нового образца
4	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 30 мин. Для инкубации использовать термостат. Температура инкубации: 37±1°C, (допускается инкубация при комнатной температуре)	
5	С помощью промывателя для планшетов удалить содержимое лунок. Пять раз промыть планшет рабочим раствором ФСБ-Т, внося в лунки 400 мкл раствора. Экспозиция между этапами отмывки – 30 секунд. По окончании промывки при необходимости удалить влагу из лунок, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге	Внимание! Недостаточная аспирация жидкости в лунке может привести к искажению результата исследования. Производитель рекомендует использовать режим отмывки с перекрестной придонной аспирацией. Внимание! Не допускать высыхания лунок Иммуносорбента в перерыве между завершением промывок и внесением реагентов.
6	Во все лунки планшета внести по 100 мкл ТМБ Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой.	Время внесения ТМБ при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты. Внимание! Остатки ТМБ из ванночек утилизировать – повторное использование запрещено.
7	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 15 мин. Для инкубации использовать термостат. Температура инкубации: 37±1°C, (допускается инкубация при комнатной температуре)	
8	Реакцию остановить внесением в каждую лунку Иммуносорбента по 100 мкл Стоп-реагента.	Время внесения Стоп-реагента 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.	Внимание! Учет реакции необходимо произвести не позднее, чем через 5 мин. после остановки реакции

Использование ИФА-анализаторов

Набор реагентов «СИФ-GAM-ИМБИАН-ИФА» 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).

10.1. Показатели правильности определения

10.1.1. Значение ОП в лунке с К(+) должно быть не менее 1,000 о.е.

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

$$\text{ОП К(-) ср} = \frac{(\text{ОП К(-)}_1 + \text{ОП К(-)}_2)}{2} (1).$$

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

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

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

10.2. Расчет критического уровня

Рассчитать ОП критического уровня ОП_{крит} (cut off):

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

При использовании одного стрипа:

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

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

10.3. Расчет коэффициента позитивности

При необходимости рассчитать коэффициент позитивности (КП):

$$\text{КП} = \frac{\text{ОП}_{\text{обр}}}{\text{ОП}_{\text{крит}}}$$

10.3. Интерпретация результатов

Если ОП анализируемого образца меньше (<) ОП_{крит} (или КП < 0,8), результат исследования образца считают отрицательным: антитела к *Treponema pallidum* не обнаружены.

Если ОП анализируемого образца больше или равно (≥) 1,2 × ОП_{крит} (или КП ≥ 1,2), результат исследования образца считают положительным: антитела к *Treponema pallidum* обнаружены.

Если ОП анализируемого образца находится в диапазоне от 0,8 × ОП_{крит} до 1,2 × ОП_{крит} результат исследования образца считают неопределенным: необходимо провести повторное исследование образца, взятого через 2-4 недели. В случае повторного получения неопределенного результата, образец следует считать отрицательным.

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, РК и Иммуносорбент следует обеззараживать и утилизировать, как медицинские отходы класса Б.

11.7. Неиспользованные ТМБ и Стоп-реагент следует утилизировать, как отходы класса Г.

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

12. ОГРАНИЧЕНИЯ 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).

13. СРОК ГОДНОСТИ, УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ

Срок годности, условия транспортирования и хранения набора реагентов и компонентов представлены в Таблице 6.

Таблица 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. Внимание! Замораживание не допускается
Транспортировка	в течение срока годности	при температуре от 2 до 8°C
	10 суток	при температуре от 9 до 28°C
Вскрытые компоненты: Иммуносорбент, К(+), К(-), ФСБ-Т(х26), ТМБ, РК, Стоп-реагент,	в течение срока годности набора реагентов	хранить в упаковке производителя в сухом, защищенном от света месте, при температуре от 2 до 8°C
Рабочий промывочный	не более 15 суток	при температуре от 18 до 28°C

14. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

Производитель гарантирует соответствие набора реагентов «СИФ-GAM-ИМБИАН-ИФА» 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-GAM-ИМБИАН-ИФА» направлять по адресу предприятия-изготовителя: ООО «ИМБИАН ЛАБ», 630559, Россия, Новосибирская область, г.о. рабочий посёлок Кольцово, рп Кольцово, ул Садовая, д. 2/7, этаж 2, помещ. 2, тел.: +7 (383) 209 34 54, info@imbian.ru, www.imbian.ru.

15. 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).

16. СИМВОЛЫ МАРКИРОВКИ

Таблица 7. Символы, применяемые при маркировке

Символ	Наименование символа	Символ	Наименование символа
	Изготовитель		Использовать до
	Дата изготовления		Запрет на повторное применение
	Код серии		Биологический риск
	Номер по каталогу		Не допускать воздействия солнечного света
	Обратитесь к инструкции по применению		Содержимого достаточно для проведения n тестов
	Предел температуры		Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>
	Беречь от влаги		Не использовать при повреждении упаковки



H302: Вредно при проглатывании
H315: При попадании на кожу вызывает раздражение
H319: При попадании в глаза вызывает выраженное раздражение

17. ШТРИХКОД Набора реагентов для подтверждения наличия поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg) в сыворотке, плазме и препаратах крови человека «HBsAg-двухстадийный-подтверждающий-ИМБИАН-ИФА» по ТУ 21.20.23-171-41390295-2022:

№ комплекта	Штрих-код
Комплект 1	4620102802874
Комплект 2	4620102802881
Комплект 3	4620102802898

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

15 лист 06

Генеральный директор
ООО «ИМБИАН ЛАБ»

В.В. Осипова

"13" 05 2022 г.

