«УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный директор
ЗАО «ЭКОлаб»
_____ Т.Ю. Гашенко
«12» 05 2022 г.

ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов «Антиген кардиолипиновый для реакции микропреципитации» "Сифилис-АгКЛ-РМП"

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «Антиген кардиолипиновый для реакции микропреципитации» "Сифилис-АгКЛ-РМП" предназначен для качественного выявления и полуколичественного определения антител к *Treponema pallidum* в сыворотке, плазме крови, спинно-мозговой жидкости (СМЖ) человека в реакции микропреципитации (РМП) с антигеном кардиолипиновым.

Функциональное назначение: скрининг и диагностика. Применение изделия не имеет популяционных и демографических ограничений.

Для однократного применения набора по назначению.

Для клинической лабораторной диагностики in vitro.

Показания и противопоказания к применению изделия

Набор реагентов **"Сифилис-АгКЛ-РМП** показан к применению для обследования больных с симптомами сифилиса и при контроле эффективности лечения.

Противопоказаний не существует.

Потенциальные потребители изделия

Лабораторные подразделения лечебно-профилактических учреждений.

Профессиональный уровень потенциальных пользователей

Врач клинической лабораторной диагностики, медицинский лабораторный техник.

Описание целевого аналита, сведения о его научной обоснованности

Сифилис – хроническое инфекционное заболевание, которое вызывается бледной трепонемой и характеризуется системным поражением организма и стадийным прогредиентным течением. Сифилис относят к числу социально значимых инфекций.

Возбудитель сифилиса - Бледная трепонема (лат. *Treponema pallidum*) — вид грамотрицательных спирохет, *T. pallidum* подвид pallidum.

Пути заражения: половой, бытовой, трансплантационный (внутриутробное инфицирование плода от инфицированной матери), гемотрансфузионный.

Выделяют 5 форм сифилиса: первичный сифилис, вторичный сифилис, третичный сифилис, нейросифилис, врожденный сифилис.

Для сифилиса характерно волнообразное течение со сменой периодов заболевания.

Методы диагностики.

Действующий приказ Министерства Здравоохранения РФ № 87 от 26 марта 2001 года «О совершенствовании серологической диагностики сифилиса» предусматривает использование для серо-и ликвордиагностики сифилиса следующих реакций: микрореакция преципитации (МР) с кардиолипиновым антигеном или ее модификации (RPR- РПР, TRUST - ТРАСТ, VDRL - ВДРЛ), иммуноферментный анализ (ИФА), реакция пассивной гемагглютинации (РПГА), реакция иммунофлюоресценции (РИФ) в модификациях, комплекс серологических реакций на сифилис (КСР), состоящий из реакции связывания комплемента (РСК) с трепонемным и кардиолипиновым антигенами и МР, реакция иммобилизации бледных трепонем (РИТ).

При этом нетрепонемные тесты (МР и РСК с кардиолипиновым антигеном) используются лишь как отборочные, а также при контроле эффективности лечения, т.к. после проведенной терапии у пациентов наблюдается снижение реагиновых антител к *Treponema pallidum*.

ЭЛЕКТРОННАЯ КОПИЯ ОФОРМЛЕНА ЦЕНТРОМ ИСПЫТАНИЙ И РЕГИСТРАЦИИ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ

Прогноз при лечении первичного и вторичного сифилиса благоприятный. Поздние стадии заболевания приводят к тяжёлым поражениям сердечнососудистой, нервной систем, слепоте, психическим расстройствам и смерти.

Данный анализ позволяет выявить в сыворотке, плазме крови, спинномозговой жидкости (СМЖ) человека реагиновые антитела, специфически взаимодействующие с липоидными антигенами клеточной мембраны *Treponema pallidum*.

СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

Выпускается в восьми базовых вариантах комплектации:

Комплект №1

Наименование	Описание	Комплект № 1	
		Исполнение 1	Исполнение 2
Антиген кардиолипиновый (АгКЛ-РМП)	Раствор в спирте этиловом абсолютированном трех высокоочищенных липидов: кардиолипина – 0,03 %; лецитина – 0,27 % и холестерина – 0,9 %. Прозрачная бесцветная жидкость, допускается выпадение кристаллов холестерина, растворяющихся при нагревании до 37 °С	10 ампул (по 2,0 мл)	10 ампул (по 2,0 мл)
Раствор холин-хлорида в 0,9 % растворе натрия хлористого	Прозрачная бесцветная жидкость со специфическим запахом	1 флакон (10,0 мл)	1 флакон (10,0 мл)
К+, инактивированный	Инактивированная иммунная сыворотка крови кролика, содержащая антитела к кардиолипиновому антигену в титре не ниже, чем 1:4; опалесцирующая жидкость от светло-жёлтого до буроватого цвета	-	1 флакон (1,0 мл)
К-, инактивированный	Инактивированная сыворотка крови кролика, не содержащая антитела к кардиолипиновому антигену; опалесцирующая жидкость от светло-жёлтого до буроватого цвета	-	1 флакон (1,0 мл)

Комплекты №2/1; № 2/2; № 2/3

Наименование	Описание	Комплект № 2/1		Комплект № 2/2		Комплект № 2/3	
		500 опр.		1000 опр.		2000 опр.	
		Исполнение 1	Исполнение 2	Исполнение 1	Исполнение 2	Исполнение 1	Исполнение 2
Взвесь АгКЛ в 10 % растворе холин-хлорида	Взвесь, содержащая кардиолипина – 0,03 %; лецитина – 0,27 %, холестерина – 0,9 %; суспензия молочно-белого цвета, при отстаивании разделяющаяся на опалесцирующую бесцветную жидкость и плотный осадок белого цвета	3 фл. (по 5,0 мл)	3 фл. (по 5,0 мл)	6 фл. (по 5,0 мл)	6 фл. (по 5,0 мл)	7 фл. (по 10,0 мл)	7 фл. (по 10,0 мл)

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

К+, инактивированный	Инактивированная, иммунная сыворотка крови кролика, содержащая антитела к кардиолипиновому антигену в титре не ниже, чем 1:4; опалесцирующая жидкость от светло-жёлтого до буровато-го цвета	-	1 флакон (1,0 мл)	-	1 флакон (1,0 мл)	-	1 флакон (1,0 мл)
К-, инактивированный	Инактивированная, сыворотка крови кролика, не содержащая антитела к кардиолипиновому антигену; опалесцирующая жидкость от светло-жёлтого до буровато-го цвета	-	1 флакон (1,0 мл)	-	1 флакон (1,0 мл)	-	1 флакон (1,0 мл)

Примечания. 1. Набор включает все реагенты, необходимые для постановки РМП, кроме физиологического раствора.

2. В составе изделия отсутствуют материалы, вступающие в непосредственный или опосредованный контакт с организмом пациента и персонала, использующего изделие, при выполнении требований эксплуатационной документации (инструкции по применению).

3. В составе изделия отсутствуют лекарственные средства и фармацевтические субстанции.

Компоненты набора упакованы в коробку, в коробку вложена инструкция по применению.

ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Комплект № 1 рассчитан на проведение 1000 исследований.
Комплект № 2/1 рассчитан на проведение 500 исследований.
Комплект № 2/2 рассчитан на проведение 1000 исследований.
Комплект № 2/3 рассчитан на проведение 2000 исследований.
Во всех комплектах Исполнение 2 дополнено контрольными образцами.

Методы стерилизации изделия

Изделие не требует стерилизации.

Программное обеспечение работы изделия

Отсутствует.

Техническое обслуживание и ремонт изделия

Изделие не требует технического обслуживания и не подлежит ремонту.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Тест основан на взаимодействии кардиолипинового антигена (АгКЛ), аналогичного липопротеиновому антигену *Treponema pallidum*, с соответствующими антителами (реагинами), которые появляются в плазме (сыворотке) нелеченых больных через 2-3 недели, а в спинномозговой жидкости – через 4-8 недель после заражения.

Взаимодействие АгКЛ с реагинами приводит к реакции микропреципитации (выпадение хлопьев разной величины) и регистрируется визуально.

ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

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

Сыворотка прогретая при температуре 56±1°С в течение 30 мин или плазма (с гепарином, цитратом натрия, ЭДТА) объемом 90 мкл на 1 исследование.

Сбор образцов крови должен производиться в соответствии с надлежащей практикой методом венопункции (ГОСТ Р 53079.4-2008 «Обеспечение качества клинических лабораторных исследований»).

Реакцию проводят с сывороткой, инактивированной при температуре 56 ± 1°С в течение 30 мин, плазмой крови (с гепарином, ЭДТА, цитратом натрия) или СМЖ, получаемыми стандартными методами.

Образцы сыворотки (плазмы) крови с выраженным гемолизом, гиперлипидемией и бактериальным ростом исследованию не подлежат.

Образцы (сыворотки, плазмы, СМЖ), предназначенные для исследования, могут храниться от 2 до 8 °С не более 7 сут, допустимо их длительное хранение в замороженном состоянии при температуре минус 20 °С и ниже. Повторное замораживание размороженных образцов не допускается.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность набора определяется по панели стандартных образцов предприятия, содержащих антитела к *Treponema pallidum* (СОП-016$^+$), как процентное содержание образцов, определенных набором как положительные (осадок в виде хлопьев разной величины), и составляет 100%.

Специфичность набора определяется по панели стандартных образцов предприятия, не содержащих антитела к *Treponema pallidum* (СОП-016$^-$), как процентное содержание образцов, определенных набором как отрицательные (отрицательная реакция в виде опалесценции), и составляет 100%.

Аналитическая специфичность:

Перекрестных иммунологических реакций, обусловленных наличием общих антигенных детерминант с листереллами, Borrelia burgdorferi, Clamidia trachomatis а также содержанием ревматоидного фактора в концентрации более 8 МЕ/мл в ходе клинических испытаний набора реагентов «Сифилис-АгКЛ-РМП» не выявлено.

Частота ложноположительных реакций при исследовании образцов, полученных от пациентов с патологическими состояниями, связанными с деструкцией тканей (почек, печени, легких, щитовидной железы) составляет не более 3,2 %.

Интерферирующие вещества: гемоглобин – в концентрации до 200 г/л, билирубин - в концентрации до 120 мкмоль/л, триглицериды – в концентрации до 11 ммоль/л, не оказывают влияния на результат анализа.

Диагностическая чувствительность набора реагентов: 99,63 % - 100% (с доверительной вероятностью 95 %).

Диагностическая специфичность набора реагентов: 99,77 % - 100% (с доверительной вероятностью 95 %).

Диагностическая чувствительность для каждого вида биологического материала:

Сыворотка крови человека: 99,25 %-100%
Плазма крови человека: 99,01 %-100%
Спинномозговая жидкость 97,05% -100%

Диагностическая специфичность для каждого вида биологического материала:

Сыворотка крови человека: 99,67 %-100%
Плазма крови человека: 99,01 %-100%
Спинномозговая жидкость 97,05% -100%

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2б (Приказ МЗ РФ № 4н от 6 июня 2012 г.).

Набор биологически безопасен, однако с исследуемыми образцами необходимо обращаться как с потенциально инфицированным материалом.

Меры предосторожности при работе с набором – соблюдение правил "Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений" (Утв. Минздравом СССР 17 января 1991 г.), ГОСТ Р 52905–2007 (ИСО 15190:2003).

K^+, K^- содержат азид натрия в безопасной концентрации.

Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию 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-противоэпидемических (профилактических) мероприятий" и МУ 287-113 "Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения".

Набор реагентов, 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" относится к классу Б (эпидемиологически опасные отходы).

СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

Оборудование и материалы

- центрифуга лабораторная, обеспечивающая угловую скорость 1000-2000 об/мин;
- шейкер лабораторный;
- термостат или водяная баня, обеспечивающие температуру прогревания (37±1) ^{0}C или (56±1) ^{0}C, соответственно;
- секундомер;
- пипетки Пастеровские;
- пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,02 и 5,0 мл;
- пробирки вместимостью 10 мл;
- 0,9% раствор натрия хлористого;
- пластина из плексигласа (планшет), допускается использование стекла;
- перчатки резиновые или пластиковые.

Подготовка реагентов для анализа

Комплект № 1

Перед использованием все реагенты выдержать не менее 30 мин. при температуре от 18 до 25 °C.

Приготовление рабочего раствора холин-хлорида

Для анализа 100 образцов к 1,0 мл холин-хлорида добавить 6 мл 0,9% раствора натрия хлористого, тщательно перемешать.

Приготовление эмульсии АгКЛ

Перед приготовлением эмульсии проверить прозрачность ампулированного антигена. При выпадении кристаллов холестерина их растворить нагреванием ампул в термостате или водяной бане при температуре (37±1) ^{0}C или (56±1) ^{0}C, соответственно.

Для анализа 100 образцов к 2,0 мл 0,9 % раствора натрия хлористого добавить содержимое одной ампулы (2,0 мл) антигена кардиолипинового. Смесь перемешать и оставить при комнатной температуре на 30 мин, после чего центрифугировать при 1000-2000 об/мин в течение 15 мин. Надосадочную жидкость слить. К осадку добавить весь приготовленный рабочий раствор холин-хлорида.

При подготовке к анализу иного числа образцов объемы реагентов, необходимые для этой подготовки, должны быть пропорционально изменены.

Хранить антигенную эмульсию в плотно закрытой стеклянной емкости без доступа света не более 6 сут. при температуре (4±2) ^{0}C.

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

Допускается хранение антигенной эмульсии при комнатной температуре в течение 14 сут. при условии внесения в нее мертиолята натрия до конечной концентрации 0,01 %.

Комплекты №2/1; № 2/2; № 2/3

Перед использованием реагенты выдержать не менее 30 мин. при температуре от 18 до 25 °С, взвесь АгКЛ тщательно перемешать до образования однородной суспензии.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Качественный метод

Для комплекта №1

На обычное стекло или углубление пластинки из плексигласа наносят 90 мкл исследуемого образца, затем добавляют 30 мкл антигенной эмульсии. Ингредиенты перемешивают покачиванием стекла в течение 5 мин., затем в каждую каплю эмульсии добавляют по 90 мкл 0,9 % раствора натрия хлористого, вновь перемешивают покачиванием стекла и оставляют при комнатной температуре на 5 мин (оптимальный температурный режим реакции 23-28 ^{0}С).

Для комплектов №2/1; № 2/2; № 2/3

На обычное стекло или углубление пластинки наносят 90 мкл исследуемого образца, затем добавляют 30 мкл антигенной эмульсии. Стекло или пластинку поместить на платформу шейкера и вращать в горизонтальной плоскости 8 мин, после чего сразу же произвести учет результатов реакции (оптимальный температурный режим реакции 23-28 ^{0}С).

Учет результатов реакции

При исследовании образцов от больных сифилисом наблюдается положительная реакция в виде выпадения хлопьев разной величины, оцениваемая в крестах (крупные (++++) и средние (+++) с четким просветлением жидкости - реакция положительная, мелкие (++) - реакция слабоположительная), а с плазмой или инактивированной сывороткой от здоровых лиц наблюдается отрицательная реакция в виде опалесценции.

Результаты реакции учитываются визуально при освещении не ниже 300 люкс.

Возможен документированный учет результатов с использованием аппаратно-программного комплекса типа «Эксперт-Лаб», «ЭколА».

Полуколичественный метод (определение титра реагинов)

Титр реагинов определяется только в исследованных образцах, давших положительную или слабоположительную реакцию.

1. Исследуемую пробу развести физиологическим раствором в соотношении 1:1, 1:2; 1:4, 1:8, 1:16, 1:32.
2. Каждое разведение исследовать также, как и в качественном методе.

Титром реагинов в исследуемом образце считать максимальное разведение, с которым получена положительная или слабоположительная реакция, при условии отрицательной реакции с последующим разведением. Если положительная реакция получена с максимальным из использованных разведении, для определения титра реагинов ряд разведений необходимо продолжить.

СРОК ГОДНОСТИ

Комплект №1 исполнение 1 и 2 - 2 года.

Комплект № № 2/1, 2/2, 2/3 исполнение 1 и 2 – 1,5 года.

Наборы с истекшим сроком годности применению не подлежат.

ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ

Для комплекта №1 исполнений 1 и 2

Хранение наборов должно осуществляться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от +2 до +25 °С (исполнение 1), от +2 до +8 °С (исполнение 2) в течение всего срока годности. Замораживание не допускается.

Для комплекта №2/1, 2/2, 2/3 исполнений 1 и 2

Хранение наборов должно осуществляться в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от +2 до +8 °С в течение всего срока годности. Замораживание не допускается.

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

После вскрытия упаковок неиспользованные реагенты допускается хранить в плотно закрытых упаковках в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, при температуре от +2 до +8 °С до истечения срока годности.

Транспортирование

Транспортирование наборов – при температуре от +2 до +8 °С (*для Комплекта №1 исполнение 1 от +2 до +25 °С*) транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. Допускается транспортирование при температуре от +9 до +25 °С в течение 15 сут. Замораживание не допускается.

УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для учреждений здравоохранения.

ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Набор реагентов **«Антиген кардиолипиновый для реакции микропреципитации» "Сифилис-АгКЛ-РМП"**, соответствует ТУ 9398-016-70423725-2021 с изм. № 1, Национальным стандартам РФ и нормативным документам в части требований безопасности и эффективности.

По вопросам, касающимся качества и обращения набора **"Сифилис-АгКЛ-РМП** следует обращаться по адресу: 142530 Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1-1а, Закрытое Акционерное Общество «ЭКОлаб» (ЗАО "ЭКОлаб"); тел. 8(49643)3-23-11, 3-30-93, факс (8-49643)-3-30-85, 8-800-333-33-47, e-mail: ekolab-sekretar@mail.ru

При предъявлении рекламации по поводу несоответствия физических и специфических характеристик набора реагентов заявленным для проведения объективного расследования производителем причин несоответствия потребитель должен предоставить:

1. набор реагентов той серии, на которую предъявляется рекламация;
2. все спорные исследуемые образцы пациентов;
3. протоколы анализа с указанием наименования, серии и сроков годности использованного набора реагентов.
4. протоколы исследования с использованием других методов/наборов реагентов с указанием серии, сроков годности, производителя примененных наборов реагентов.

Директор ЗАО "ЭКОлаб" по научной работе С.Г.Марданлы

Генеральный директор ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР» П.К.Варнавичус

«12» 05 2022 г.

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

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 7 ЛИСТОВ
«12» 05 2022 год
Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичус П.К.

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью
7 лист 06
Ген. директор ЗАО "ЭКОлаб"
Гашенко Т.Ю.
"12" 05 2022 г.

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