

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

ООО «РАПИД БИО»

Жимбиев А.Ц.

2024г.



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

Набор реагентов

для качественного и полуколичественного определения

суммарных антител к *Treponema pallidum*

методом иммуноферментного анализа

«РАПИД-Сифилис-АТ-ИФА-одностадийный»

для диагностики *in vitro*

по ТУ 21.20.23-019-44090553-2023

2024 г.

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Полное наименование медицинского изделия

Набор реагентов для качественного и полуколичественного определения суммарных антител к *Treponema pallidum* методом иммуноферментного анализа «РАПИД-Сифилис-АТ-ИФА-одностадийный» для диагностики *in vitro* по ТУ 21.20.23-019-44090553-2023, далее по тексту – «РАПИД-Сифилис-АТ-ИФА-одностадийный», набор реагентов

1.2. Назначение набора

Набор реагентов «РАПИД-Сифилис-АТ-ИФА-одностадийный» предназначен для качественного и полуколичественного определения суммарных (IgA, IgM, IgG) антител к *Treponema pallidum* (*T. pallidum*) методом иммуноферментного анализа в сыворотке, плазме крови и ликворе человека, а также в препаратах крови человека (альбумин, иммуноглобулины, интерфероны, криопреципитат).

Набор реагентов «РАПИД-Сифилис-АТ-ИФА-одностадийный» может быть использован для скрининговой диагностики сифилиса, в том числе на станциях переливания крови, а также в составе комплексной серологической диагностики сифилиса. Предназначен для «ручной» постановки и для постановки на автоматических ИФА-анализаторах.

1.3. Состав медицинского изделия

Набор реагентов «РАПИД-Сифилис-АТ-ИФА-одностадийный» выпускается в шести базовых вариантах исполнения:

- 1) Комплект № 1.1 и 2.1 рассчитан на проведение анализа 96 образцов, включая контрольные образцы (на контрольные образцы используется 3 лунки);
- 2) Комплект № 1.2 и 2.2 рассчитан на проведение анализа 192 образцов, включая контрольные образцы (на контрольные образцы используется 3 лунки);
- 3) Комплект № 1.3 и 2.3 рассчитан на проведение анализа 480 образцов, включая контрольные образцы (на контрольные образцы используется 3 лунки).

Возможно дробное использование набора.

Таблица 1

Наименование (сокращенное название) и характеристика компонента набора	Компонентов в наборе					
	Комплект 1.1	Комплект 1.2	Комплект 1.3	Комплект 2.1	Комплект 2.2	Комплект 2.3
Микропланшет разборный (МТП), состоящий из двенадцати восьмилуночных стрипов с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок рекомбинантными белками <i>T. pallidum</i> , в рамке.	1	2	5	1	2	5
Положительный контрольный образец (К(+)), содержащий антитела к <i>T. pallidum</i> . Прозрачная или слегка опалесцирующая красного цвета жидкость, инактивированный.	1 фл. x 1,0 мл	1 фл. x 1,0 мл	2 фл. x 2,5 мл	1 фл. x 1,0 мл	1 фл. x 1,0 мл	2 фл. x 2,5 мл.
Отрицательный контрольный образец (К(-)), не содержащий антитела к <i>T. pallidum</i> . Прозрачная зеленого цвета жидкость, инактивированный.	1 фл. x 1,0 мл	1 фл. x 1,0 мл	2 фл. x 2,5 мл	1 фл. x 1,0 мл	1 фл. x 1,0 мл	2 фл. x 2,5 мл

(25х) концентрат для приготовления промывочного буферного раствора ((25х) ПБР) (25х) концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином. Прозрачная или опалесцирующая бесцветная жидкость.	1 фл. х 40,0 мл	2 фл. х 40,0 мл	3 фл. х 100,0 мл	1 фл. х 40,0 мл	2 фл. х 40,0 мл	3 фл. х 100,0 мл
Раствор для разведения образцов (РРО) опалесцирующая красного цвета жидкость. Готов к использованию.	1 фл. х 5,0 мл	1 фл. х 10,0 мл	1 фл. х 25,0 мл	1 фл. х 5,0 мл	1 фл. х 10,0 мл	1 фл. х 25,0 мл
Конъюгат рекомбинантные антигены <i>T. pallidum</i> , меченые пероксидазой хрена. Прозрачная или слегка опалесцирующая розового цвета жидкость. Готов к использованию.	1 фл. х 14,0 мл	2 фл. х 14,0 мл	5 фл. х 14,0 мл	1 фл. х 14,0 мл	2 фл. х 14,0 мл	5 фл. х 14,0 мл
(11х) концентрат тетраметилбензидина ((11х) ТМБ) (11х) концентрат тетраметилбензидина для приготовления субстратного раствора. Прозрачная бесцветная жидкость.	1 фл. х 1,5 мл	1 фл. х 3,0 мл	1 фл. х 7,5 мл	·	·	·
Раствор тетраметилбензидина (раствор ТМБ) стабилизированный водно-органический буферный раствор, содержащий ТМБ и пероксид водорода. Прозрачная бесцветная жидкость. Готов к использованию.	·	·	·	1 фл. х 14,0 мл	2 фл. х 14,0 мл	5 фл. х 14,0 мл
Цитратно-фосфатный буферный раствор (ЦФБ) прозрачная бесцветная жидкость. Готов к использованию.	1 фл. х 14,0 мл	2 фл. х 14,0 мл	5 фл. х 14,0 мл	·	·	·
Стоп-реагент 0,5М раствор серной кислоты. Готов к использованию.	1 фл. х 13,0 мл	1 фл. х 26,0 мл	3 фл. х 26,0 мл	1 фл. х 13,0 мл	1 фл. х 26,0 мл	3 фл. х 26,0 мл
Клейкая пленка для заклеивания планшета	2	4	10	2	4	10
Наконечники одноразовые к дозаторам пипеточным	16	32	80	16	32	80
Ванночки для реагентов	2	4	10	2	4	10
Инструкция по применению	1	1	1	1	1	1

РРО содержит натрия азид 0,01%.

К(+) и К(–) содержат натрия мертиолят 0,01%.

Конъюгат содержит натрия мертиолят 0,001%, Proclin 0,03%.

Примечание: (25х) ПБР, РРО, ЦФБ и Стоп-реагент являются универсальными вспомогательными компонентами и применимы для всех иммуноферментных тест-систем производства ООО «РАПИД БИО».

1.4. Область применения медицинского изделия

Клиническая лабораторная диагностика, включая, но не ограничиваясь: медицинские организации, клинико-диагностические лаборатории, станции переливания крови, научно-исследовательские учреждения, имеющие лицензию на оказание медицинских услуг.

Только для профессионального использования.

Только для диагностики *in vitro*.

1.5. Показания и противопоказания к применению

Набор реагентов «РАПИД-Сифилис-АТ-ИФА-одностадийный» предназначен для однократного применения по назначению. Противопоказания и побочные действия отсутствуют.

1.6. Потенциальные потребители

Набор реагентов «РАПИД-Сифилис-АТ-ИФА-одностадийный» применяется врачами-специалистами клинико-диагностических лабораторий и медицинскими лабораторными техниками.

1.7. Клиническое назначение

Сифилис – инфекционное заболевание, вызываемое бледной трепонемой (*Treponema pallidum*), передающееся преимущественно половым, а также трансфузионным, контактно-бытовым, трансплацентарным путем, характеризующееся поражением кожи, слизистых оболочек, нервной системы, внутренних органов и опорно-двигательного аппарата и отличающееся стадийным, рецидивирующим, прогрессирующим течением. К контагиозным биологическим жидкостям относятся грудное молоко, слюна и сперма больных сифилисом при соответствующих формах заболевания [1].

Treponema pallidum – спиралевидный микроорганизм, плохо окрашивается анилиновыми красителями из-за большого количества гидрофобных компонентов в цитоплазме. Не культивируется на искусственных питательных средах. Вне организма трепонема неустойчива, гибнет при нагревании, высушивании, под влиянием большинства антисептиков, в кислой и щелочной среде. Устойчива при низких температурах, во влажной среде [2].

Определение антител к *T. Pallidum* методом иммуноферментного анализа (ИФА) относят к рекомендуемым трепонемным исследованиям [1]. При заражении *T. Pallidum* первыми появляются IgA и IgM. Их можно выявить уже на второй неделе заболевания. Иммуноглобулины класса G обнаруживаются позже, через 3-4 недели после контакта с возбудителем, однако сохраняются в организме на определенном уровне в течение длительного времени (до года и более). Максимальная концентрация IgG наблюдается на 6-й неделе болезни, когда они начинают преобладать над IgM.

При успешной терапии концентрация антител IgG снижается, но антитела не исчезают, а сохраняются в крови в течение длительного времени. Поэтому после лечения заболевания рекомендованы контрольные исследования, включающие нетрепонемные тесты (например, RPR (микрореакция на сифилис качественно)) [1, 2].

Выявление суммарных антител классов A, M и G к *T. Pallidum* методом твердофазного иммуноферментного анализа можно использовать как эффективный сверхчувствительный скрининговый тест для диагностики сифилиса.

1.8. Информация о стерильности

Набор реагентов «РАПИД-Сифилис-АТ-ИФА-одностадийный» не содержит стерильных компонентов.

1.9. Описание измерительных характеристик и программного обеспечения

Не применимо.

Набор реагентов «РАПИД-Сифилис-АТ-ИФА-одностадийный» не автоматизирован и не содержит программного обеспечения.

1.10. Популяционные, демографические аспекты применения медицинского изделия

Предназначен для обследования всех групп населения. Популяционные, демографические особенности применения медицинского изделия отсутствуют.

1.11. Классификация медицинского изделия

Набор реагентов «РАПИД-Сифилис-АТ-ИФА-одностадийный» применяется в качестве вспомогательного средства в диагностике *in vitro*.

Код Общероссийского классификатора продукции по видам экономической деятельности ОКПД2 – 21.20.23.110.

Класс потенциального риска применения медицинского изделия для диагностики *ин витро* в соответствии с номенклатурной классификацией (по Приказу Минздрава России от 06.06.2012 N 4н) – 2б.

Вид медицинского изделия – 244320, «*Treponema pallidum* общие антитела ИВД, набор, иммуноферментный анализ (ИФА)».

1.12. Риски применения медицинского изделия

Риски применения набора реагентов «РАПИД-Сифилис-АТ-ИФА-одностадийный» проанализированы в соответствии с ГОСТ ISO 14971.

Все риски, связанные с набором реагентов, снижены до приемлемого уровня с помощью мер управления рисками. В области недопустимой зоны риски не выявлены.

Польза применения набора реагентов «РАПИД-Сифилис-АТ-ИФА-одностадийный» превалирует над рисками для пациента, производящего и эксплуатирующего персонала, третьих лиц и окружающей среды. Полный остаточный риск является допустимым.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

2.1. Описание принципа метода

Метод определения антител к *T. pallidum* основан на использовании одностадийного «сэндвич» варианта твердофазного иммуноферментного анализа.

Основой набора реагентов «РАПИД-Сифилис-АТ-ИФА-одностадийный» являются рекомбинантные антигены p15, p17, p47 и *tmpA T. pallidum*, сорбированные в лунках разборного полистиролового планшета.

Специфические антитела, присутствующие в исследуемом образце, вступают во взаимодействие с сорбированными на поверхности лунок планшета антигенами. Образовавшиеся комплексы «антиген-антитело» выявляют с помощью детектирующих антигенов *T. pallidum*, меченных пероксидазой хрена. Визуализация результата происходит при добавлении к комплексу «антиген-антитело-детектирующий антиген» хромогена с развитием окрашивания раствора, интенсивность которого прямо зависит от количества выявленных комплексов. После остановки реакции добавлением стоп-реагента проводят учет результатов анализа путем измерения оптической плотности с помощью планшетного спектрофотометра при длинах волн 450 нм (основная) и 620–650 нм (вспомогательная).

2.2. Необходимые материалы и оборудование, не входящие в комплект

- Термостат, позволяющий проводить инкубацию при $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$;
- Термостат – шейкер со скоростью вращения платформы 700 об/мин;
- Спектрофотометр вертикального сканирования позволяющий проводить измерения оптической плотности в лунках планшета при 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620-650 нм;
- Холодильник бытовой;
- Промывочное устройство для планшетов;
- Планшет разборный для предварительного разведения исследуемых образцов;
- Пипетки одноканальные со сменными наконечниками с изменяемым объемом отбора жидкостей: на 5–50 мкл; на 20–200 мкл; на 200–1000 мкл; на 1000–5000 мкл,

аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (погрешность не более 3%);

- Пипетка восьмиканальная со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объемы жидкости до 300 мкл, аттестованная по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (погрешность не более 3%);
- Центрифуга лабораторная на 1800-2200 g;
- Дистиллированная или деионизированная вода;
- Цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 500 мл;
- Стакан стеклянный вместимостью 1000 мл;
- Микропробирки;
- Перчатки резиновые или перчатки медицинские одноразовые;
- Бумага фильтровальная лабораторная;
- Дезинфицирующие средства, разрешенные к применению СанПин 3.3686-21, кроме хлорсодержащих.

Для постановки с использованием автоматического ИФА-анализатора, зарегистрированного на территории РФ:

- Анализатор с рабочей площадкой под размещение планшетов;
- Спектральный диапазон: 400 – 700 нм;
- Предусмотренный производителем для работы с наборами реагентов различных производителей с программным обеспечением, позволяющим корректировать протокол исследования пользователем и реализовывать любую методику, определяя качественные и количественные характеристики материалов.

Например, испытания набора проведены на автоматическом иммуноферментном анализаторе «Анализатор иммуноферментный автоматический «Лазурит» (LAZURITE)», производитель "Дайнекс Текнолоджис", США, РУ № ФСЗ 2009/03660.

2.3. Информация о наличии в медицинском изделии лекарственного средства, материалов животного и (или) человеческого происхождения

В состав набора реагентов «РАПИД-Сифилис-АТ-ИФА-одностадийный» не входят лекарственные препараты и фармацевтические субстанции.

Медицинское изделие изготовлено без использования материалов животного происхождения.

Перечень материалов человеческого происхождения:

– сыворотки крови человека и компоненты сыворотки крови, входящие в состав контрольных материалов, инаktivированы и протестированы на отсутствие антител к ВИЧ 1, 2, вирусу гепатита С и поверхностному антигену вируса гепатита В (HBsAg).

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Чувствительность

Чувствительность набора реагентов определяется по контрольным образцам стандартной панели предприятия (СПП «РАПИД-Сифилис-АТ-ИФА-одностадийный»), которые содержат антитела к *T. pallidum*, как процентное содержание положительных образцов, определенных набором к общему количеству истинно положительных образцов, и составляет 100 %.

3.2. Специфичность

Специфичность набора реагентов «РАПИД-Сифилис-АТ-ИФА-одностадийный» определяется по контрольным образцам стандартной панели предприятия (СПП «РАПИД-Сифилис-АТ-ИФА-одностадийный»), которые не содержат антитела к *T. pallidum*, как процентное содержание отрицательных образцов, определенных набором к общему количеству истинно отрицательных образцов, и составляет 100 %.

3.3. Аналитическая чувствительность (предел обнаружения)

Предел обнаружения IgM и IgG антител к *T. pallidum* определен с помощью первого международного стандарта «WHO International Standard «1st IS for human syphilis plasma IgG and IgM» (NIBSC code: 05/132, Великобритания). Минимальная определяемая концентрация при исследовании образцов – 0,001 МЕ/мл.

В связи с отсутствием эталона для измерения IgA антител к *T. pallidum*, предел обнаружения определен с помощью двукратного разведения контрольного образца стандартной панели предприятия (СПП «РАПИД-Сифилис-АТ-ИФА-одностадийный»), содержащего антитела класса IgA, в разведении 1/40. Набор реагентов определяет данное разведение контрольного образца, как положительное.

3.4. Перекрёстная реактивность

Перекрестная реактивность не наблюдалась при тестировании образцов, содержащих антитела к *Borrelia burgdorferi*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum*, возбудителям лептоспирозов, ВИЧ1, ВИЧ2, HSV1, HSV2, CMV, HBsAg, HCV, *Trichomonas vaginalis*.

3.5. Интерференция

Интерферирующие вещества у образцов, содержащих гемоглобин в концентрации до 200 г/л, билирубин – до 300 мг/л, триглицериды – до 250 мг/дл, молочную кислоту до 400 мг/мл, холестерол до 4 г/л, общий белок в концентрации до 90 г/л и ревматоидный фактор до 2560 МЕ/мл не оказывают влияние на результаты анализа.

В рамках проведения клинических испытаний влияние антикоагулянтов (К2ЭДТА, К3ЭДТА, Li-гепарин, Na-гепарин, цитрат натрия) на результаты анализа не выявлено.

3.6. Воспроизводимость

Внутрисерийный и межсерийный коэффициент вариации измерения оптической плотности не превышает 8%.

3.7. Диагностические характеристики

Для подтверждения диагностических характеристик были проведены клинико-лабораторные испытания. В совокупности было исследовано 559 биологических образцов сыворотки, плазмы и ликвора человека, а также препаратов крови человека. По результатам проведенных испытаний диагностическая чувствительность составила: 100% (с доверительной вероятностью 95%; доверительный интервал: от 97,76% до 100%), диагностическая специфичность составила: 100% (с доверительной вероятностью 95%; доверительный интервал: от 99,14% до 100%).

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Лабораторная диагностика сифилиса в субъектах Российской Федерации может проводиться в лабораториях организаций, имеющих санитарно-эпидемиологическое заключение на работу с возбудителями III-IV групп патогенности с использованием методов диагностики, не предполагающих накопление возбудителя, соответствующие условия работы и обученный персонал.

Взятие, транспортировка и хранение клинического материала должны осуществляться 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.

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 описаны в ГОСТ Р 53079.4 «Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа».

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

Все компоненты набора реагентов в используемых концентрациях являются нетоксичными.

Раствор тетраметилбензида (раствор ТМБ) является светочувствительным и должен быть защищен от света.

Стоп-реагент и раствор ТМБ обладают раздражающим действием на кожу и слизистые. В случае контакта с кожей, промойте большим количеством воды. В случае контакта с глазами, снимите контактные линзы, если вы ими пользуетесь, промойте глаза большим количеством воды в течение нескольких минут. Обеспечьте хорошую промывку, удерживая веки пальцами. При вдыхании получите доступ к свежему воздуху.

Не используйте наборы реагентов «РАПИД-Сифилис-АТ-ИФА-одностадийный» после истечения срока их действия.

Не смешивайте компоненты из разных серий наборов реагентов «РАПИД-Сифилис-АТ-ИФА-одностадийный», за исключением универсальных вспомогательных компонентов. Совместное использование набора реагентов с компонентами наборов других производителей запрещено.

5. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

5.1 Анализируемые образцы

Для проведения анализа используются образцы сыворотки/плазмы крови, образцы цереброспинальной жидкости (ликвора) и препараты, приготовленные из крови человека (альбумин, иммуноглобулины, интерфероны, криопреципитат). Лиофильно высушенные препараты предварительно приготовить, восстановив согласно инструкции по их применению, затем провести стандартный иммуноферментный анализ по методике, описанной в инструкции.

Минимальный объем исследуемого образца сыворотки/плазмы крови 10 мкл, ликвора – 20 мкл. Антикоагулянты (К2 ЭДТА, К3 ЭДТА, Li-гепарин, Na-гепарин, цитрат натрия) и активатор свертывания не влияют на результаты анализа.

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

Образцы ликвора допускается хранить не более 24 ч при температуре от +2°C до +8°C, не более 1 месяца при температуре минус 20 °C.

Замороженные образцы перед исследованием необходимо довести до комнатной температуры (+18°C до +25°C), тщательно перемешать для устранения возникающего при замораживании градиента концентраций. При работе с размороженными образцами следует учитывать, что каждый следующий цикл замораживания и размораживания снижает качество исследуемого материала. Рекомендуются однократное замораживание и размораживание образцов с целью получения достоверных результатов исследования, а также хранение нескольких замороженных аликвот образца.

Не допускается использование для исследования образцов с повышенным содержанием липидов и (или) с признаками гемолиза, и (или) с видимым микробным проростом.

Мутные образцы перед анализом необходимо отцентрифугировать в течение 10-15 мин при 1800-2200 g.

5.2 Подготовка к анализу

Привести все компоненты набора реагентов к комнатной температуре перед использованием.

МТП, К(+), К(-), РРО, ЦФБ, конъюгат, раствор ТМБ, стоп-реагент – готовы к использованию.

При дробном использовании набора реагентов оставшиеся реагенты тщательно закрыть соответствующими крышками, а планшет повторно упаковать в оригинальный пакет с силикагелем, удалив воздух нажатием и тщательно закрыть замок. Хранить при температуре от

+2°C до +8°C в течение срока годности. (25х) ПБР и стоп-реагент допускается хранить при комнатной температуре.

5.2.1 Приготовление промывочного буферного раствора

Во флаконе с (25х) ПБР может присутствовать осадок солей. В этом случае перед использованием рекомендуется прогреть флакон при температуре от +30°C до +40°C до полного растворения осадка. В зависимости от числа используемых стрипов внести в мерный цилиндр необходимый объем концентрата (25х) ПБР и довести его водой очищенной до объема, указанного в таблице 2.

Таблица 2

Кол-во стрипов Реагент	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
(25х) ПБР, мл	3	7	10	13	17	20	23	27	30	33	37	40
Вода очищенная, мл	до 75	до 175	до 250	до 325	до 425	до 500	до 575	до 675	до 750	до 825	до 925	до 1000

Готовый рабочий промывочный раствор хранить при температуре от +2°C до +8°C не более 6 месяцев, при температуре от +18°C до +26°C – не более 30 сут.

5.2.2. Приготовление субстратного раствора

Готовить непосредственно перед использованием в месте, защищенном от воздействия прямого солнечного света.

При использовании всего планшета внести 1,4 мл концентрата (11х) ТМБ в 14,0 мл ЦФБ, тщательно перемешать раствор, не допуская вспенивания.

При дробной постановке применять соотношение объемов концентрата (11х) ТМБ и ЦФБ, указанные в таблице 3 для разного числа используемых стрипов. Готовить раствор необходимо в чистой (желательно одноразовой) емкости с использованием одноразовых наконечников для дозаторов.

Таблица 3

Кол-во стрипов Реагент	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
(11х) ТМБ, мкл	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000	1100	1200
ЦФБ, мл	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

Готовый субстратный раствор хранить при температуре от +18°C до +26°C в защищенном от воздействия прямого солнечного света не более 10 часов.

5.2.3. Подготовка образцов сыворотки/плазмы крови

В случае проведения анализа с использованием замороженных образцов, пробирки предварительно разморозить при температуре от +2°C до +8°C. Образцы после разморозки тщательно перемешать.

5.2.3.1. Предварительное разведение исследуемых образцов для полуколичественного определения

Исследуемые образцы развести в соотношении 1:10. Для этого внести в микропробирки или лунки планшета для предварительного разведения (не входят в состав набора) по 90 мкл РРО и 10 мкл исследуемых образцов.

5.2.4. Подготовка микропланшета (МТП)

1. Привести МТП к комнатной температуре.
2. Рассчитать количество стрипов, необходимых для анализа.
3. Вскрыть пакет с планшетом выше замка «zip-lock».
4. Установить в рамке планшета необходимое количество стрипов. Оставшиеся стрипы упаковать в оригинальный пакет с силикагелем, удалив воздух нажатием и хранить при температуре от + 2°C до + 8°C в течение всего срока годности набора.

5.3. Проведение анализа

5.3.1. Качественное исследование

5.3.1.1. Процедура анализа по протоколу № 1

1. Внести во все лунки разборного микропланшета (МТП) по 90 мкл конъюгата. Затем в одну лунку МТП внести 10 мкл К(+), в две другие по 10 мкл К(-).
2. В оставшиеся лунки МТП внести по 10 мкл сыворотки/плазмы или 10 мкл препаратов, приготовленных из крови человека, или 20 мкл ликвора. Тщательно перемешать пипетированием.

Примечание: процедура внесения образцов по времени не должна превышать 15 минут от момента внесения первого образца.

3. Заклеить стрипы МТП клейкой пленкой.
Инкубировать в термостате при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 60 минут.
4. По окончании инкубации снять клейкую пленку и промыть 5 раз лунки планшета, внося не менее 350 мкл промывочного буферного раствора. При использовании промывочного устройства время между заполнением и аспирацией лунок должно быть не менее 30 секунд. По окончании промывки избавиться от остатков жидкости, постучав перевернутым планшетом о поверхность стола, покрытую фильтровальной бумагой.
5. Внести в каждую лунку планшета по 100 мкл предварительно приготовленного субстратного раствора (см. п.5.2.2. «Приготовление субстратного раствора») и инкубировать в течение 15 минут при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$.
6. Остановить реакцию внесением в каждую лунку МТП по 100 мкл содержимого флакона «Стоп-реагент». Перемешать содержимое лунок легким постукиванием по рамке планшета.
7. Провести измерение оптической плотности (ОП) растворов в лунках МТП при двух длинах волн 450 нм (основная) / 620 – 650 нм (сравнения) в течение 5 минут после остановки реакции.

5.3.1.2. Процедура анализа по протоколу № 2

1. Внести во все лунки разборного микропланшета (МТП) по 90 мкл конъюгата. Затем в одну лунку МТП внести 10 мкл К(+), в две другие по 10 мкл К(-).
2. В оставшиеся лунки МТП внести по 10 мкл сыворотки/плазмы или 10 мкл препаратов, приготовленных из крови человека, или 20 мкл ликвора. Тщательно перемешать пипетированием.

Примечание: процедура внесения образцов по времени не должна превышать 15 минут от момента внесения первого образца.

3. Заклеить стрипы МТП клейкой пленкой.
Инкубировать в термошейкере со скоростью вращения платформы 500 об/мин при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 30 минут.
4. По окончании инкубации снять клейкую пленку и промыть 5 раз лунки планшета, внося не менее 350 мкл промывочного буферного раствора. При использовании промывочного устройства время между заполнением и аспирацией лунок должно быть не менее 30 секунд. По окончании промывки избавиться от остатков жидкости, постучав перевернутым планшетом о поверхность стола, покрытую фильтровальной бумагой.
5. Внести в каждую лунку планшета по 100 мкл предварительно приготовленного субстратного раствора (см. п.5.2.2. «Приготовление субстратного раствора») для

комплектов № 1.1, 1.2, 1.3) или по 100 мкл готового раствора ТМБ (при использовании комплектов № 2.1, 2.2, 2.3), и инкубировать при комнатной температуре в течение 10 минут в защищенном от света месте.

6. Остановить реакцию внесением в каждую лунку МТП по 100 мкл содержимого флакона «Стоп-реагент». Перемешать содержимое лунок легким постукиванием по рамке планшета.
7. Провести измерение оптической плотности (ОП) растворов в лунках МТП при двух длинах волн 450 нм (основная) / 620 – 650 нм (сравнения) в течение 5 минут после остановки реакции.

Примечание: перед измерением ОП убедитесь, что синий цвет жидкости полностью сменился на желтый и раствор в лунках хорошо перемешался.

Общие рекомендации к процедуре проведения анализа

- Храните все реагенты при температуре от +2°C до +8°C.
- НЕ ДОПУСКАЙТЕ высыхания ячеек во время процедуры.
- Для точного измерения дозирование проб и контролей должны быть максимально точными. Используйте только хорошо откалиброванное оборудование.
- Всегда заранее имейте под рукой реагенты, подготовленные для следующего шага.

5.3.1.3. Учёт результатов качественного анализа

Результаты ИФА регистрировать с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность (ОП) при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения 620–650 нм. Выведение спектрофотометра на «нулевой» уровень осуществлять по воздуху.

Результаты ИФА учитываются только при следующих условиях:

- среднее значение ОП для К(+) не менее 0,8;
- среднее значение ОП для К(–) не выше 0,2.

При несоответствии полученных результатов заданным условиям исследование необходимо повторить.

Рассчитать ОП_{крит} по формуле:

$$\text{ОП}_{\text{крит}} = \text{ОП}(\text{К}(-))_{\text{ср}} + A, \quad (1)$$

где ОП(К(–))_{ср} – среднее значение ОП в лунках с К(–);

A – поправочный коэффициент, который прописывается для каждой серии в паспорте качества или инструкции по применению набора реагентов.

Для оценки степени позитивности исследуемых образцов может быть рассчитан коэффициент позитивности (КП) по формуле:

$$\text{КП} = \frac{\text{ОП}_{\text{обр}}}{\text{ОП}_{\text{крит}}}, \quad (2)$$

где ОП_{обр} – значение оптической плотности исследуемых образцов,
ОП_{крит} – пороговое значение, рассчитанное по формуле (1).

5.3.1.4. Интерпретация результатов

- Исследуемый образец учитывать, как положительный, если значение КП данного образца больше 1,1;
- Исследуемый образец учитывать, как сомнительный, если значение КП данного образца равно 1,0;
- Исследуемый образец учитывать, как отрицательный, если значение КП данного образца меньше 0,9.

Исследованные образцы, для которых получены сомнительные или неопределенные результаты (КП в интервале 0,9–1,1), подлежат повторному исследованию через 3-7 дней.

5.3.2. Полуколичественный анализ

5.3.2.1. Определение титра антител с помощью коэффициента позитивности (КП)

Исследуемый образец и К(+) необходимо проанализировать в двух лунках в разных разведениях: десятикратном и стократном.

Для стократного разведения образца предварительно развести образцы в десять раз (см. п. 5.2.3.1. «Предварительное разведение исследуемых образцов для полуколичественного определения»).

Внести во все лунки МТП по 90 мкл конъюгата, добавить в одну лунку 10 мкл цельного исследуемого образца, в другую 10 мкл этого же образца, предварительно разведенного в десять раз.

Далее провести процедуру анализа в соответствии с выбранным протоколом для Качественного исследования (см. подпункт 3 п. 5.3.1.1. или 5.3.1.2).

5.3.2.2. Учёт результатов полуколичественного анализа

Результаты ИФА регистрировать с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность (ОП) при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения 620–650 нм. Выведение спектрофотометра на «нулевой» уровень осуществлять по воздуху.

Титр антител в цельных образцах с ОП ниже 0,6 принимается равным 1:10. Для оценки титра в образцах с ОП выше 0,6 разводят в 10 и в 100 раз в РРО. Рассчитывают коэффициент позитивности по формуле:

$$КП = \frac{ОП_{обр} (1:100)}{ОП_{пор}}, \quad (3)$$

где ОП_{обр} (1:100) – значение оптической плотности исследуемых образцов, разведенных в 100 раз;

ОП_{пор} – пороговое значение, полученное при качественном исследовании.

Полученные значения КП с К(+) и образцами, разведенными в 100 раз использовать для определения титра по Таблице 4.

Таблица 4

Значение КП	0,46 и ниже	0,47–0,89	0,9–1,7	1,71–3,29	3,3–6,69	6,7–8,99	9,0–13,0	13,1 и выше
Титр образца	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560

Определение титра у исследуемых образцов считается достоверным только в случае совпадения титра К(+), указанного в паспорте на набор с данными из таблицы.

Внимание! Повторное исследование положительных образцов пациентов с целью мониторинга титра антител и коэффициента позитивности проводить по тому же протоколу анализа, что использовался при первичном исследовании.

5.5. Постановка с использованием ИФА-анализатора

Подготовить прибор в соответствии с инструкцией по его эксплуатации, ввести программу анализа, соответствующую используемому набору и провести анализ.

6. ОГРАНИЧЕНИЕ МЕТОДА

Надежные и воспроизводимые результаты будут получены, если процедура анализа осуществляется при точном следовании положениям данной Инструкции.

Процедуры промывки и удаления лишней жидкости являются обязательными. Недостаточная промывка приведет к низкой точности и завышению оптической плотности образцов.

7. ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ

Набор реагентов «РАПИД-Сифилис-АТ-ИФА-одностадийный» должен храниться при температуре от +2°C до +8°C в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим в течение всего срока годности. Срок годности комплектов – 24 месяца. Набор реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит.

В случае дробного использования набора реагентов, после первого вскрытия оригинальной упаковки неиспользованные компоненты следует хранить следующим образом:

- Оставшиеся неиспользованными стрипы необходимо тщательно упаковать в оригинальный пакет с замком и хранить при температуре от +2°C до +8°C в течение всего срока годности набора;
- Все реагенты после вскрытия флаконов следует хранить при температуре от +2°C до +8°C в течение всего срока годности набора;
- Для проведения анализа не следует использовать гемолизированную, мутную сыворотку/плазму крови, а также сыворотку/плазму крови с видимыми изменениями, вызванными ростом микроорганизмов. Если анализ производится не в день взятия крови, сыворотку/плазму следует хранить при температуре –20°C. Повторный цикл замораживания – оттаивания образцов сыворотки/плазмы крови не допускается.

Транспортирование медицинского изделия – при температуре от +2°C до +8°C транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. Допускается транспортирование при температуре до +26°C не более 15 суток.

Изделия, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

8. УТИЛИЗАЦИЯ

Использованные изделия – отходы класса Б. Утилизацию или уничтожение набора реагентов «РАПИД-Сифилис-АТ-ИФА-одностадийный» следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.3684.

После истечения срока годности набор реагентов «РАПИД-Сифилис-АТ-ИФА-одностадийный» утилизируется как отходы класса А в соответствии с СанПиН 2.1.3684.

9. ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ И РЕМОНТ

Медицинское изделие техническому обслуживанию и ремонту не подлежит.

10. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ И ПРАВИЛА ПРЕДОСТАВЛЕНИЯ РЕКЛАМАЦИЙ

Предприятие–изготовитель гарантирует соответствие медицинского изделия требованиям технических условий при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения, установленных технической документацией предприятия–изготовителя.

Срок годности медицинского изделия составляет 24 месяца с даты изготовления.

Медицинское изделие с истекшим сроком годности применению не подлежит.

По вопросам обращения медицинского изделия просьба обращаться к производителю. При выявлении побочных действий, не указанных в инструкции по применению, нежелательных реакций при применении, особенностей взаимодействия медицинских изделий между собой, фактов и обстоятельств, создающих угрозу жизни и здоровью граждан и медицинских работников при применении и эксплуатации, необходимо направлять сообщение, содержащее указанные сведения производителю.

11. КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Производитель:

Общество с ограниченной ответственностью «РАПИД БИО» (ООО «РАПИД БИО»).

Адрес юридического лица: 670000, Республика Бурятия, г. Улан-Удэ, ул. Свердлова 13А, офис 4, +7 495 105 99 16, info@rapidbio.ru, www.rapidbio.ru

Место производства медицинского изделия:

Общество с ограниченной ответственностью «РАПИД БИО» (ООО «РАПИД БИО»)
Россия, 121205, г. Москва, территория инновационного центра «Сколково», Большой бульвар, д. 42, стр.1

12. ЛИТЕРАТУРА

1. Клинические рекомендации Министерства здравоохранения Российской Федерации «Сифилис», 2020 г.
2. Бутов, Ю. С. Дерматовенерология. Национальное руководство. Краткое издание / под ред. Ю. С. Бутова, Ю. К. Скрипкина, О. Л. Иванова. - Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2020. - 896 с.

13. ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ ПРОИЗВОДИТЕЛЕМ (ИЗГОТОВИТЕЛЕМ) МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ

1. ГОСТ Р 51088-2013 «Медицинские изделия для диагностики ин витро. Реагенты, наборы реагентов, тест-системы, контрольные материалы, питательные среды. Требования к изделиям и поддерживающей документации»;

2. ГОСТ Р 51352-2013 «Медицинские изделия для диагностики ин витро. Методы испытаний»;

3. ГОСТ Р ИСО 15223-1-2023 «Изделия медицинские. Символы, применяемые для передачи информации, предоставляемой изготовителем. Часть 1. Основные требования»;

4. ГОСТ Р ИСО 18113-2-2015 «Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 2. Реагенты для диагностики in vitro для профессионального применения»;

5. ГОСТ Р ИСО 18113-1-2015 «Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования»;

6. ГОСТ Р ИСО 23640-2015 «Изделия медицинские для диагностики in vitro. Оценка стабильности реагентов для диагностики in vitro»;

7. ГОСТ ISO 13485-2017 «Изделия медицинские. Системы менеджмента качества. Требования для целей регулирования»;

8. ГОСТ ISO 14971-2021 «Изделия медицинские. Применение менеджмента риска к медицинским изделиям».

14. СИМВОЛЫ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

Символ	Описание
	Изготовитель
	Дата изготовления
	Предел температур
	Использовать до
	Код партии

Символ	Описание
	Содержимого достаточно для проведения n тестов
	Хрупкое, обращаться осторожно
	Микропланшет разборный
	Положительный контрольный образец
	Отрицательный контрольный образец

REF	Номер по каталогу
	Не допускать воздействия влаги
	Не допускать воздействия солнечного света
	Осторожно
	Обратитесь к инструкции по применению
IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro

(25x)ПБР	Концентрат для приготовления промывочного буферного раствора
РРО	Раствор для разведения образцов
(11x)ТМБ	Концентрат тетраметилбензидина,
ЦФБ	Цитратно-фосфатный буферный раствор
ТМБ	Раствор тетраметилбензидина

Внимание! Приступать к процедуре проведения анализа только после ознакомления с инструкцией по применению набора.

КРАТКАЯ СХЕМА ИФА БЕЗ ТЕРМОШЕЙКИРОВАНИЯ

Протокол № 1

«РАПИД-Сифилис-АТ-ИФА-однотадийный»

Внести	Для качественного исследования в лунки МТП по 90 мкл конъюгата; в одну лунку - 10 мкл К(+), в две другие – по 10 мкл К(-), в остальные лунки по 10 мкл сыворотки/плазмы или 10 мкл препаратов, приготовленных из крови человека или 20 мкл ликвора
	Для полуколичественного исследования в лунки МТП по 90 мкл конъюгата; добавить в одну лунку 10 мкл исследуемого образца, в соседнюю лунку этого же образца 10 мкл, но предварительно разведенного в 10 раз (см. п. 5.2.3.1)
Инкубация	60 мин, при температуре $(37 \pm 1)^{\circ}\text{C}$
Промыть	5 раз промывочным раствором
Внести	по 100 мкл приготовленного субстратного раствора (см. п.5.2.2) в каждую лунку
Инкубация	15 мин, при температуре $(37 \pm 1)^{\circ}\text{C}$, в темноте
Внести	по 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку
Измерить	ОП при двух длинах волн – 450 нм (основная) / 620–650 нм (сравнения)

КРАТКАЯ СХЕМА ИФА С ТЕРМОШЕЙКИРОВАНИЕМ

Протокол № 2

«РАПИД-Сифилис-АТ-ИФА-однотадийный»

Внести	Для качественного исследования в лунки МТП по 90 мкл конъюгата; в одну лунку - 10 мкл К(+), в две другие – по 10 мкл К(-), в остальные лунки по 10 мкл сыворотки/плазмы или 10 мкл препаратов, приготовленных из крови человека, или 20 мкл ликвора
	Для полуколичественного исследования в лунки МТП по 90 мкл конъюгата; добавить в одну лунку 10 мкл исследуемого образца, в соседнюю лунку этого же образца 10 мкл, но предварительно разведенного в 10 раз (см. п. 5.2.3.1)
Инкубация	30 мин, при температуре $(37 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ в орбитальном термощейкере, скорость вращения платформы 500 об/мин
Промыть	5 раз промывочным раствором
Внести	по 100 мкл предварительно приготовленного субстратного раствора (см. п.5.2.2) или по 100 мкл готового раствора ТМБ
Инкубация	10 мин, при температуре от $+18^{\circ}\text{C}$ до $+26^{\circ}\text{C}$, в темноте
Внести	по 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку
Измерить	ОП при двух длинах волн – 450 нм (основная) / 620–650 нм (сравнения)

Прошито, пронумеровано и
скреплено печатью

16

лист (ов)

Подпись

Жимбиев А.Ц.

М.П.

