



НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННОЕ ОБЪЕДИНЕНИЕ
ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ

REF	L-431	Σ	100
REF	L-432	Σ	200
REF	L-433	Σ	500

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов

"ДС-РПГА-АНТИ-ЛЮИС"

Иммунодиагностикум эритроцитарный для выявления
специфических антител к *Treponema pallidum*

Содержание

I. НАЗНАЧЕНИЕ	3
II. ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ	3
III. ПРИНЦИП ТЕСТА	3
IV. СОСТАВ НАБОРА "ДС-РПГА-АНТИ-ЛЮИС"	4
V. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ.....	5
VI. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.....	5
VII. ИНСТРУКЦИИ ПО БЕЗОПАСНОСТИ.....	5
VIII. НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ, НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ С НАБОРОМ РЕАГЕНТОВ	6
IX. ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ	6
X. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ	7
XI. ПРОВЕДЕНИЕ РПГА	7
XII. СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ	10
XIII. ОБЪЯСНЕНИЕ СИМВОЛОВ	11
XIV. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	11
Приложение 1.....	12
Приложение 2.....	13

Набор реагентов выпускается в трех вариантах комплектации:

комплект 1 рассчитан на проведение 100 определений, включая постановку контрольных образцов;
комплект 2 рассчитан на проведение 200 определений, включая постановку контрольных образцов;
комплект 3 рассчитан на проведение 500 определений, включая постановку контрольных образцов.

I. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов "ДС-РПГА-АНТИ-ЛЮИС" предназначен для качественного и полуколичественного определения специфических антител к *Treponema pallidum* в сыворотке, плазме крови и ликворе человека в реакции пассивной гемагглютинации (РПГА).

II. ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Возбудителем сифилиса является бактерия *T. pallidum*. Основным путем инфицирования и заражения сифилисом является половой путь, однако возможно заражение плода от больной сифилисом матери или передача возбудителя гемотрансмиссионным путем. Выявление антител к *T. pallidum* играет важную роль при диагностике сифилиса.

Широко применяемая для диагностики сифилиса реакция пассивной гемагглютинации обладает одновременно качествами отборочного и подтверждающего теста, для нее характерны высокие показатели диагностической эффективности, простота постановки, возможность автоматизации и быстрого получения результатов. В отличие от нетрепонемных тестов (реакция микропреципитации с кардиолипиновым антигеном в различных модификациях постановки), реактивность трепонемных тестов, в частности РПГА, после лечения сохраняется в большинстве случаев длительное время.

III. ПРИНЦИП ТЕСТА

Набор "ДС-РПГА-АНТИ-ЛЮИС" предназначен для качественного и полуколичественного определения специфических антител к *T. pallidum* в сыворотке, плазме крови и ликворе человека в реакции пассивной гемагглютинации (РПГА). Формализированные куриные эритроциты сенсibilизированы рекомбинантными антигенами – аналогами иммунодоминантных белков возбудителя сифилиса *T. pallidum*. Присутствие в биологических образцах антител к *T. pallidum* приводит к формированию пространственной структуры иммунных комплексов антиген-антитело, которые осаждаются на вогнутой сферической поверхности на дне лунок (формирование «перевернутых зонтиков») – положительный результат. Величина зоны осаждения зависит от содержания антител в образце. Результат считается отрицательным при наличии компактного осадка эритроцитов на дне лунки в виде точки («пуговки») без просвета в центре или со слабо различимым просветом в центре.

IV. СОСТАВ НАБОРА "ДС-РПГА-АНТИ-ЛЮИС"

Таблица 1

	Форма выпуска		
	комплект 1	комплект 2	комплект 3
СЭ (сенсibilизированные эритроциты) – формалинизированные куриные эритроциты, сенсibilизированные рекомбинантными антигенами – аналогами иммунодоминантных белков возбудителя сифилиса <i>T. pallidum</i> ; Гомогенная взвесь красновато-коричневого цвета, разделяющаяся при хранении на гомогенный осадок красновато-коричневого цвета и прозрачную или слегка опалесцирующую, бесцветную или желтоватого цвета надосадочную жидкость.	2 флакона по 4,5 мл	4 флакона по 4,5 мл	10 флаконов по 4,5 мл
КЭ (контрольные эритроциты) – формалинизированные куриные эритроциты, не сенсibilизированные рекомбинантными антигенами. Гомогенная взвесь красновато-коричневого цвета, разделяющаяся при хранении на гомогенный осадок красновато-коричневого цвета и прозрачную или слегка опалесцирующую, бесцветную или желтоватого цвета надосадочную жидкость.	2 флакона по 4,5 мл	4 флакона по 4,5 мл	10 флаконов по 4,5 мл
К+ (контрольный положительный образец), инактивированный, жидкий – сыворотка или плазма крови человека, содержащая антитела к <i>T. pallidum</i> , не содержащая HBsAg, антиген p24 ВИЧ-1, антитела к ВИЧ-1,2 и вирусу гепатита С. Прозрачная или слегка опалесцирующая розового цвета жидкость.	1 флакон 0,2 мл	1 флакон 0,2 мл	1 флакон 0,5 мл
К- (контрольный отрицательный образец), инактивированный, жидкий – сыворотка или плазма крови человека, не содержащая антитела к <i>T. pallidum</i> , ВИЧ-1,2 и вирусу гепатита С, а также HBsAg и антиген p24 ВИЧ-1. Прозрачная или слегка опалесцирующая желтого цвета жидкость.	1 флакон 0,2 мл	1 флакон 0,2 мл	1 флакон 0,5 мл
РРО - раствор для разведения образцов. Прозрачная или слегка опалесцирующая фиолетового цвета жидкость.	1 флакон 21,0 мл	2 флакона по 21,0 мл	5 флаконов по 21,0 мл
Планшет иммунологический с U-образным профилем дна лунок для постановки РПГА.	2 шт.	4 шт.	10 шт.
Планшет для предварительного разведения образцов.	1 шт.	2 шт.	5 шт.

Реагенты помещают в коробку картонную, куда вкладывают инструкцию по применению.

V. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ (см. Приложение 2 к данной инструкции).

VI. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

6.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2Б (приказ Министерства здравоохранения РФ № 4Н от 06 июня 2012 г.).

6.2. Достоверность результатов зависит от правильного выполнения следующих правил лабораторной практики:

- Нельзя использовать реагенты с истекшим сроком годности.
- Нельзя использовать реагенты из наборов разных серий и смешивать их в процессе приготовления растворов.
- Перед использованием все реагенты выдержать при температуре от 18 до 24 °С в течение 30 мин.
- Необходимо использовать новый наконечник для каждого образца.
- Необходимо использовать только валидированные пипетки и оборудование.
- Нельзя изменять процедуру проведения анализа.
- Нельзя подвергать реагенты воздействию высокой температуры или прямого солнечного света.

VII. ИНСТРУКЦИИ ПО БЕЗОПАСНОСТИ

- Все реагенты набора предназначены для лабораторной диагностики.
- Сыворотки или плазмы крови человека, используемые при приготовлении контрольного положительного образца (К+) и контрольного отрицательного образца (К-), были протестированы и определены неактивными в отношении поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg), антигена p24 ВИЧ-1, антител к вирусу гепатита С и ВИЧ-1 и ВИЧ-2.
- При работе с реагентами набора и исследуемыми образцами нужно обращаться как с потенциально опасными материалами, т.к. ни один известный метод тестирования не может гарантировать отсутствие инфекционных агентов.
- В помещении с иммунодиагностическими материалами нельзя употреблять пищу, пить, курить, применять косметику.
- Нельзя пипетировать ртом.
- При работе с любым оборудованием, которое контактирует с исследуемыми образцами, нужно обращаться как с потенциально опасными материалами.
- При работе с набором реагентов и исследуемыми образцами необходимо использовать спец. одежду и одноразовые перчатки, тщательно промывать руки после работы с ними.

- После проведения реакции агглютинации необходимо нейтрализовать и/или автоклавировать растворы, отходы или любые жидкости, содержащие биологические образцы до сброса в канализацию. Твердые отходы (использованные планшеты, наконечники к дозаторам, флаконы, лабораторная посуда, одноразовые перчатки и т.д.) должны быть обеззаражены автоклавированием в течение часа при температуре от 124 до 128 °С под давлением 1,5 кгс/см² (0,15 МПа). Допустимо обеззараживание твердых отходов способом погружения в 3% раствор хлорамина Б (длительность дезинфекции не менее 1 часа) или другого разрешенного к промышленному выпуску и применению в РФ дезинфицирующего средства. Жидкие отходы (промылочные воды) следует обеззараживать добавлением сухого хлорамина Б из расчета 30 г/л (длительность дезинфекции - не менее 2 ч) или кипячением в течение 30 мин, или автоклавированием в течение 1 ч под давлением 1,5 кгс/см² (0,15 МПа) при температуре от 124 до 128 °С. Инструменты и оборудование до и после работы необходимо протирать 2 раза 70% этиловым спиртом.

- При утилизации и уничтожении все реагенты и материалы, являющиеся отходами, должны быть обработаны в соответствии с действующими нормативами (СанПиН 2.1.7.2790-10, СП 1.3.2322-08).

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

- Автоматические пипетки переменного объема (одно- или многоканальные).
- Одноразовые наконечники к пипеткам.
- Центрифуга.
- Бумага фильтровальная лабораторная.
- Перчатки медицинские.

IX. ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Для исследования использовать нативную или прогретую сыворотку, плазму (гепарин) крови или ликвор человека.

Для исключения ложных результатов исследуемые образцы отбирать и хранить в условиях, предотвращающих бактериальный рост.

Образцы с выраженным гемолизом, гиперлипидемией и бактериальным ростом анализу не подлежат. Образцы, содержащие агрегаты или осадок, необходимо осветлять центрифугированием.

Образцы можно хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 7 сут, допустимо более длительное хранение в замороженном состоянии при температуре минус 20 °С в течение 3 месяцев. Нельзя использовать образцы, замороженные и размороженные более 1 раза.

X. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

Перед использованием все реагенты выдержать при температуре от 18 до 24 °С в течение 30 мин.

1. Реагенты, готовые к применению:

- **СЭ** - сенсibilизированные эритроциты. Перед использованием содержимое флакона тщательно перемешать до получения гомогенной взвеси.
- **КЭ** - контрольные эритроциты. Перед использованием содержимое флакона тщательно перемешать до получения гомогенной взвеси.
- **К+** - контрольный положительный образец.
- **К-** - контрольный отрицательный образец.
- **РРО** - раствор для разведения образцов.

2. Хранение неиспользованных реагентов

После вскрытия флаконов, оставшиеся неиспользованными реагенты набора "ДС-РПГА-АНТИ-ЛЮИС": СЭ, КЭ, К+, К-, РРО хранить во флаконах, закрытых винтовой крышкой, в течение срока годности набора при температуре от 2 до 8 °С; флаконы с СЭ, КЭ - хранить строго в вертикальном положении.

XI. ПРОВЕДЕНИЕ РПГА

1. Качественный анализ.

1.1. Перед постановкой РПГА исследуемые образцы сыворотки или плазмы крови развести в 20 раз, образцы ликвора - в 10 раз. Для этого в лунки планшета для предварительного разведения образцов с помощью автоматической пипетки внести по 190 мкл РРО и 10 мкл исследуемых образцов сыворотки или плазмы крови или по 90 мкл РРО и 10 мкл исследуемых образцов ликвора. Содержимое лунок тщательно перемешать осторожным пипетированием, при этом фиолетовый цвет раствора в лунках с внесенными образцами сывороток и плазмы крови должен измениться на голубой, в лунках с внесенными образцами ликвора должен остаться фиолетовым. К+ и К- развести аналогично в 20 раз в РРО.

1.2. Каждый предварительно разведенный исследуемый образец сыворотки, плазмы, ликвора, К+ и К- внести по 25 мкл в две лунки иммунологического планшета с U-образным профилем - лунку нечетного и лунку четного рядов.

1.3. В лунки нечетных рядов планшета внести по 75 мкл СЭ, в лунки четных рядов - по 75 мкл КЭ. Планшет осторожно покачать, чтобы перемешать содержимое лунок, накрыть крышкой и выдержать не менее 45 мин при температуре от 18 до 24 °С на светлой горизонтальной поверхности (в условиях, исключающих вибрацию). Планшет можно оставить на ночь.

1.4. Учет результатов проводить визуально в условиях достаточного освещения, при этом выявляют разную степень агглютинации эритроцитов (Рис.1).



Результат: 4+ 3+ 2+ 1+ ± отрицательный

Рис. 1 Внешний вид лунок с разной степенью агглютинации эритроцитов

4+ - равномерно распределенный по всему дну лунок осадок эритроцитов в виде перевернутого зонтика с ровными или фестончатыми краями;

3+ - осадок эритроцитов в виде зонтика с ровными краями, занимающий не менее 2/3 лунки;

2+ - осадок эритроцитов в виде кольца, занимающего не менее 1/3 лунки, с видимым просветом в центре;

1+ - осадок эритроцитов в виде небольшого кольца, занимающего менее 1/3 лунки, с четко различимым просветом в центре;

± - компактный осадок эритроцитов со слабо различимым просветом в центре.

- отсутствие агглютинации - компактный осадок эритроцитов на дне лунки в виде точки «пуговки» без просвета в центре.

Реакцию учитывать, если в лунках с К+ и СЭ видна агглютинация эритроцитов на 3+ или 4+, в лунках с К- и СЭ, К+ и КЭ, К- и КЭ агглютинации не наблюдается.

Результат исследования считать положительным (образец содержит антитела к *T. pallidum*), если в лунке с СЭ выявлена агглютинация эритроцитов от 3+ до 4+.

Результат считать слабоположительным (образец содержит антитела к *T. pallidum*), если в лунке с СЭ выявлена агглютинация эритроцитов 2+.

Результат считать сомнительным, если степень агглютинации эритроцитов в лунке с СЭ составляет 1+. Образцы, показавшие сомнительный результат РПГА, должны быть исследованы повторно. В случае получения аналогичного результата рекомендуется повторить исследование через 10-14 дней со свежим образцом биологического материала.

Результат исследования считать отрицательным (образец не содержит антител к *T. pallidum*) в случае ± агглютинации и при ее отсутствии.

В лунках с исследуемым образцом и КЭ агглютинация должна отсутствовать. Наличие агглютинации с КЭ свидетельствует о содержании в исследуемом образце неспецифических агглютининов, которые перед проведением реакции необходимо удалить путем их адсорбции на КЭ. Для этого к 10 мкл исследуемого образца добавить 190 мкл суспензии КЭ, перемешать и выдержать не менее 30 мин при температуре от 18 до 24 °С. Смесь центрифугировать в течение 3 мин при 2000 об/мин. Отобрать 25 мкл супернатанта и провести повторное тестирование с СЭ и КЭ в соответствии с п. 1.3.

В качестве альтернативного варианта исследования в РПГА может быть предложен вариант, основанный на учете разницы титров исследуемого образца с КЭ и СЭ. С этой целью провести титрование исследуемого образца в двух вертикальных рядах планшета для постановки РПГА. Затем в первый ряд внести СЭ, а во второй - КЭ. Если титр образца с СЭ больше титра образца с КЭ, то результат исследования считать положительным (образец содержит антитела к *T. pallidum*). Если титр образца с КЭ больше титра образца с СЭ или они равны, то результат исследования считать отрицательным (образец не содержит антитела к *T. pallidum*).

Положительные в РПГА образцы сыворотки или плазмы могут быть использованы для полуколичественного анализа - определения титра специфических антител к антигенам *T. pallidum*.

2. Полуколичественный анализ (титрование).

2.1. Во все лунки вертикальных рядов иммунологического планшета с U-образным профилем дна лунок, кроме верхней, внести по 25 мкл РРО. Количество вертикальных рядов должно соответствовать числу тестируемых образцов плюс 1 ряд для титрования К+.

2.2. В верхнюю (пустую) и во вторую лунки соответствующего ряда внести по 25 мкл исследуемого положительного в качественном анализе образца или К+, предварительно разведенных в планшете для разведения образцов. Содержимое второй лунки тщательно перемешать осторожным пипетированием и перенести 25 мкл в третью лунку и так до конца вертикального ряда. Из восьмой лунки после перемешивания удалить 25 мкл содержимого в емкость для сбора инфицированного материала. Одновременно с титрованием исследуемых образцов провести аналогично титрование К+.

2.3. В каждую лунку внести по 75 мкл СЭ (разведения тестируемого образца сыворотки или плазмы от 1:80 до 1:10240, тестируемого образца ликвора от 1:20 до 1:2560). Планшет осторожно покачать, чтобы перемешать содержимое лунок, накрыть крышкой и выдержать не менее 45 мин при температуре от 18 до 24 °С на светлой горизонтальной поверхности (в условиях, исключающих вибрацию).

2.4. Учет результатов провести аналогично п. 1.4 (как при постановке качественного варианта РПГА). Титром антител к *T. pallidum* следует считать, то наибольшее разведение образца, при котором наблюдается реакция агглютинации 1+. Титр антител к *T. pallidum* в исследуемом образце учитывают при условии, что титр антител в К+, полученный в реакции, отличается от указанного в паспорте не более, чем в 2 раза.

2.5. Титры, полученные с применением набора реагентов "ДС-РПГА-АНТИ-ЛЮИС", в большинстве случаев совпадают с титрами, полученными в наборах других производителей.

Как показали результаты исследования 90 образцов сыворотки крови, содержащих антитела к *T. pallidum*, титры, полученные с набором "ДС-РПГА-АНТИ-ЛЮИС", совпадали в 87,8% случаев с титрами, полученными с "РПГА-БЕСТ антипаллидум" производства ЗАО "Вектор-Бест"; и в 83,3% случаев с титрами, полученными с "Сифилис-РПГА-тест" производства ЗАО "ЭКОлаб" (полученные значения могли отличаться на ± 1 шаг титрования).

Титры, полученные в тест-системах производства ООО «НПО «Диагностические системы» и ООО «НИАРМЕДИК ПЛЮС» не совпадают. В случае необходимости можно провести пересчет титра антител, полученного в тест-системе "ДС-РПГА-АНТИ-ЛЮИС", в титр антител, полученный в тест-системе "Люис РПГА тест" производства ООО «НИАРМЕДИК ПЛЮС». Для перевода значения титра, полученного в тест-системе "ДС-РПГА-АНТИ-ЛЮИС", в значение титра, соответствующее тест-системе "Люис РПГА тест", необходимо полученное значение титра (знаменатель дроби) разделить на коэффициент пересчета, равный 4. Например: в тест-системе "ДС-РПГА-АНТИ-ЛЮИС" получено значение титра 1/320. Для перевода этого значения в значение титра, полученного в тест-системе "Люис РПГА тест", необходимо $320/4=80$. Значение титра в тест-системе "Люис РПГА тест" будет 1/80.

ХИ. СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Срок годности указан на упаковке набора. По истечении срока годности набор использованию не подлежит.

Хранить только вертикально в сухом, защищенном от света месте при температуре от 2 до 8°C. Транспортирование может производиться любым закрытым транспортом при температуре от 9 до 25 °C не более 10 сут. Замораживание не допускается.

Рекламации на специфические и физические свойства препарата направлять в адрес предприятия-изготовителя: ООО "Научно-производственное объединение "Диагностические системы", 603093, Россия, Нижний Новгород, ул. Яблоневая, 22, тел.: (831) 434-97-12, тел./факс: (831) 434-86-83. E-mail: info@npods.ru, www.npods.ru.

ХИИ. ОБЪЯСНЕНИЕ СИМВОЛОВ

	ЕС Маркировка (Европейская директива 98/79/CE по in vitro диагностическим МУ)
	Только для лабораторного использования (in vitro diagnostic)
	Производитель
	Каталожный номер
	Количество определений
	Номер партии (серии)
	Температурные пределы хранения
	Срок годности число/месяц/год
	Использовать инструкцию по применению

ХИИ. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

См. Приложение 1 к данной инструкции.

Дополнительная информация в соответствии с ГОСТ Р 51088-2013

- «Набор предназначен для профессионального использования в клинической лабораторной диагностике специально обученным персоналом. При работе с набором реагентов следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования к безопасности»».
- «Реагенты набора не содержат вредных веществ в опасных концентрациях, за исключением реагентов, обозначенных символом «Вниманис». При попадании на кожу или слизистые немедленно промыть большим количеством воды».
- Расшифровка символов по ГОСТ Р 15223-1-2014 «Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации. Часть 1. Общие требования».

-  – Дата изготовления (YYYY-MM), символ 5.1.3;
-  – Срок годности (дата истечения срока годности в формате YYYY-MM-DD), символ 5.1.4;
-  – Не допускать воздействия солнечного света, символ 5.3.2;
-  – Беречь от влаги, символ 5.3.4;
-  – Внимание, символ 5.4.4.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Чепурченко Н.В., Гладышева М.В., Обрядина А.П. Новые возможности использования рекомбинантных антигенов в серодиагностике сифилиса. // Клин. дерматол. и венерол. 2006 - № 2 - стр. 28-31.
2. Чепурченко Н.В., Уланова Т., Пузырев В., Логинова Л., Бурков А., Обрядина А. Новый гемагглютинационный тест для серологической диагностики сифилиса. // Материалы 15-ого Европейского конгресса по клинической микробиологии и инфекционным заболеваниям. 2-5 апреля 2005 – стр. 247.
3. Garner M.F., Backhouse J.L., Daskalopoulos G., Walsh J.L. The Treponema pallidum haemagglutination (TPHA) test in biological false positive and leprosy sera. // J. Clin. Pathol., 1973 – Vol. 26, № 4 – p. 258-260.
4. Gerber A., Krell S., Morenz J. Recombinant Treponema pallidum antigens in syphilis serology. // Immunobiol. 1996/97 - Vol.196 - P.535-549.
5. Ijsselmuiden O.E., Schouls L.M., Stolz E., Aelbers G.N.M., Agterberg C.M., Top J., van Embden J.D.A. Sensitivity and specificity of an enzymelinked immunosorbent assay using the recombinant DNA-derived Treponema pallidum protein TmpA for serodiagnosis of syphilis and the potential use of TmpA for assessing the effect of antibiotic therapy. // J. Clin. Microbiol., 1989 – Vol. 27, № 1 – p. 152-157.
6. Schouls L.M., Ijsselmuiden O.E., Weel J., van Embden J.D.A. Overproduction and purification of Treponema pallidum recombinant-DNA-derived proteins TmpA and TmpB and their potential use in serodiagnosis of syphilis. // Infect. Immun., 1989. – Vol.57, № 9 – p. 2612-2623.
7. Young H., Moyes A., de Ste Croix I., McMillan A. A new recombinant antigen latex agglutination test (Syphilis Fast) for the rapid serological diagnosis of syphilis. // Int. J. STD. AIDS., 1998. – Vol. 9, № 4 –p. 196-200.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диагностическая чувствительность

1. Диагностическая чувствительность набора реагентов “ДС-РПГА–АНТИ-ЛЮИС” оценивалась на клинических образцах и составила 99,25% (133/134), что на 100% соответствует результатам теста с наборами “Syphilis TPNA liquid” (Human, Германия).
2. Была исследована Коммерческая панель контрольных материалов (BBI, США). Результаты представлены в таблице

Таблица 1

Результаты тестирования панели BBI
“Syphilis Mixed Titer Performance Panel PSS202”

ИН #	“ДС-РПГА– АНТИ-ЛЮИС”	FUJIREBIO “Serodia TP-PA”	OLYMPUS PK TP System
PSS202-01	Реактивный	Реактивный	Реактивный
PSS202-02	Реактивный	Реактивный	Реактивный
PSS202-03	Реактивный	Реактивный	Реактивный
PSS202-04	Нереактивный	Нереактивный	Нереактивный
PSS202-05	Реактивный	Реактивный	Реактивный
PSS202-06	Реактивный	Реактивный	Реактивный
PSS202-07	Реактивный	Реактивный	Реактивный
PSS202-08	Реактивный	Реактивный	Реактивный
PSS202-09	Реактивный	Реактивный	Реактивный
PSS202-10	Реактивный	Реактивный	Реактивный
PSS202-11	Реактивный	Реактивный	Реактивный
PSS202-12	Реактивный	Реактивный	Реактивный
PSS202-13	Реактивный	Реактивный	Реактивный
PSS202-14	Реактивный	Реактивный	Реактивный
PSS202-15	Реактивный	Реактивный	Реактивный
PSS202-16	Нереактивный	Нереактивный	Нереактивный
PSS202-17	Реактивный	Реактивный	Реактивный
PSS202-18	Реактивный	Реактивный	Реактивный
PSS202-19	Реактивный	Реактивный	Реактивный
PSS202-20	Реактивный	Реактивный	Реактивный

Специфичность

Специфичность набора реагентов "ДС-РПГА-АНТИ-ЛЮИС" оценивалась при исследовании:

- образцов сывороток крови доноров случайной выборки (включая первичных) (n=1113). Специфичность составила 99,01%.
- образцов сывороток крови клинических пациентов без указаний на наличие активного сифилиса или заболевание в прошлом (n=182). Специфичность составила 99,45%.
- образцов сывороток крови беременных женщин (n=245). Специфичность составила 99,18%.

Аналитическая чувствительность

Данный набор показал способность выявлять 0,00029 МЕ/мл специфических антител к *T. pallidum* при тестировании Международного стандарта "WHO International Standard 1st IS for human syphilitic plasma IgG and IgM" (NIBSC, Великобритания). Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2

Оценка аналитической чувствительности теста
"ДС-РПГА-АНТИ-ЛЮИС"

№ образца	Количество повторов	Концентрация антител (МЕ/мл)	Результаты
1	10	0,0375	4+
2	10	0,01875	4+
3	10	0,0094	4+
4	10	0,0047	3+
5	10	0,0023	3+
6	10	0,0012	2+
7	10	0,00058	2+
8	10	0,00029	1+
9 (отрицательный)	10	0,00014	-

Воспроизводимость

Воспроизводимость теста "ДС-РПГА-АНТИ-ЛЮИС" была оценена при повторном тестировании 3 образцов сывороток крови больных сифилисом вторичным. Воспроизводимость была оценена по результатам исследования, проведенного одним оператором внутри одного планшета, между разными планшетами, между тремя сериями набора реагентов и проведенных двумя операторами. Воспроизводимость набора "ДС-РПГА-АНТИ-ЛЮИС" составила 100%.

Ограничения теста

1. При проведении теста используются только образцы сыворотки, плазмы крови (гепарин) и ликвора человека.
2. Отрицательный результат исследования при определении антител не исключает наличия инфекции у пациента. Низкий уровень антител в таких образцах может быть ниже пределов чувствительности РПГА.
3. Сыворотки крови больных, получивших лечение по поводу сифилиса, могут сохранять положительные результаты РПГА.
4. Ложноположительные результаты могут наблюдаться при ВИЧ инфекции, вирусном гепатите, онкозаболеваниях, хламидиозе, беременности.
5. Клинический диагноз не должен основываться на результате исследования в одном тесте, а должен базироваться на корреляции результатов лабораторных исследований с клиническими данными или результатах исследования в нескольких тестах с разным принципом определения антител к антигенам *T. pallidum*.

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

8 (восемь) лист 06
Зам. Ген. директора ЗАО "ЭКОлаб"
Гашенко Т.Ю.
"25" 03 2021 г.



"УТВЕРЖДАЮ"

Генеральный директор
ЗАО "ЭКОлаб"

В.Ю. Борисов

"12" 08 2020 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов «Набор реагентов для определения антител к *Treponema pallidum* в реакции пассивной гемагглютинации» "Сифилис-РПГА-тест"

Регистрационное удостоверение № ФСР 2010/08228 от 23.05.2018

НАЗНАЧЕНИЕ

«Набор реагентов для определения антител к *Treponema pallidum* в реакции пассивной гемагглютинации» "Сифилис-РПГА-тест" предназначен для качественного и полуколичественного определения антител к *Treponema pallidum* в сыворотке (плазме) крови и спинно-мозговой жидкости (СМЖ) человека с помощью реакции пассивной гемагглютинации (РПГА) при "ручной" постановке реакции и визуальном учете результатов при использовании аппаратно-программного комплекса "Эксперт-Лаб".

Для однократного применения набора по назначению.

Для клинической лабораторной диагностики *in vitro*.

Потенциальные потребители изделия

Лабораторные подразделения лечебно-профилактических учреждений.

Профессиональный уровень потенциальных пользователей

Врач клинической лабораторной диагностики, медицинский лабораторный техник.

Показания и противопоказания к применению изделия

Показания: серологическая диагностика всех форм сифилиса.

Противопоказания: нет.

Описание целевого анализа, сведения о его научной обоснованности

Сифилис – системное инфекционное заболевание, вызываемое бледной трепонемой (*Treponema pallidum*), характеризуется волнообразным прогрессирующим течением и разнообразными клиническими проявлениями с чередованием манифестных и скрытых периодов.

Особенно большое значение в распространении сифилиса играют остро заразные ранние формы инфекции (первичный, вторичный), а также больные скрытым ранним сифилисом, у 25% которых заболевание может реверсировать в манифестный вторичный сифилис.

Одно из значимых мест в контроле над распространением сифилиса занимает диагностика, осуществляемая лабораторными методами. Она особенно важна при малосимптомных и скрытых формах заболевания, при необходимости раннего установления диагноза, предупреждения развития врожденного сифилиса, а также поздних форм инфекции.

Диагностика сифилиса, осуществляемая лабораторными методами, является комплексной и включает применение как прямых методов исследования, связанных с необходимостью выявления самого возбудителя или его генетического материала, так и непрямых – как правило, серологических методов исследования, направленных на выявление гуморальных иммунных антител к возбудителю сифилиса или его отдельным антигенным детерминантам. При этом комплексность диагностики обусловлена не только возможностью прямого, либо непрямого выявления возбудителя, но и стадийностью течения инфекции и связанным с этим изменением гуморального иммунного ответа.

Абсолютный приоритет в диагностике сифилиса, как за рубежом, так и в России, в настоящее время занимают непрямые, серологические методы исследования.

В соответствии с Приказом МЗ РФ № 87 от 26.03.2001 «О совершенствовании серологической диагностики сифилиса») серо- и ликвородиагностика сифилиса предусматривает применение следующих реакций: реакции микропреципитации (РМП), Venereal Disease Research Laboratory (VDRL) тест, Rapid Plasma Reagins (RPR) тест и других модификаций на основе кардиолипинового антигена — нетрепонемные, отборочные тесты; реакции пассивной (непрямой) гемагглютинации (РПГА), реакции иммунофлуоресценции (РИФ), иммуноферментного анализа (ИФА), реакции иммобилизации бледных трепонем (РИБТ) – трепонемные тесты.

Реакция пассивной гемагглютинации широко применяется для диагностики сифилиса как в качестве отборочного, так и в качестве подтверждающего теста. Она характеризуется простотой и быстротой выполнения, а также высокими показателями диагностической эффективности, поскольку предназначена для выявления гуморальных антител к *Treponema pallidum*, которые сохраняются в организме человека в течение долгого времени после вылечивания сифилиса.

СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

Набор выпускается в 6 базовых вариантах комплектации:

- комплекты №№ 1/1, 1/2 и 1/3 – для качественного определения (выявление наличия антител);
- комплекты №№ 2/1, 2/2 и 2/3 – для качественного и полуколичественного определения (определение титра антител).

Компонент	Описание	Ком. № 1/1	Ком. № 1/2	Ком. № 1/3	Ком. № 2/1	Ком. № 2/2	Ком. № 2/3
Тест-эритроциты (ТЭ)	0,4% суспензия куриных эритроцитов, сенсибилизированных нативными антигенами <i>Treponema pallidum</i> , штамм Nichols; суспензия красно-коричневого цвета, при хранении разделяется на 2 фракции: верхнюю – прозрачную светло-желтую жидкость, нижнюю – темно-бурый осадок эритроцитов	1 фл. (9,0 мл)	2 фл. (по 9,0 мл)	3 фл. (по 15 мл)	2 фл. (по 9,0 мл)	4 фл. (по 9,0 мл)	6 фл. (по 15 мл)
Контрольные эритроциты (КЭ)	0,4% суспензия куриных эритроцитов, не нагруженных антигенами; суспензия красно-коричневого цвета, при хранении разделяется на 2 фракции: верхнюю – прозрачную светло-желтую жидкость, нижнюю – темно-бурый осадок эритроцитов	1 фл. (9,0 мл)	2 фл. (по 9,0 мл)	3 фл. (по 15 мл)	1 фл. (по 9,0 мл)	2 фл. (по 9,0 мл)	3 фл. (по 15 мл)
Буферный раствор (БР)	Буферный раствор для разведения образцов (сыворотки, плазмы крови, СМЖ), содержащий компоненты, предотвращающие неспецифическую агглю-	1 фл. (21 мл)	2 фл. (по 21 мл)	6 фл. (по 18 мл)	1 фл. (25 мл)	2 фл. (по 25 мл)	7 фл. (по 18 мл)

	тинацию; прозрачная жидкость желтого или желто-оранжевого цвета						
Контрольный положительный образец (K ⁺)	жидкая стандартная сыворотка крови человека (или кролика), содержащая антитела к <i>Treponema pallidum</i> в титре 1:2560, инактивированная; прозрачная бесцветная или желтоватого цвета жидкость	1 фл. (0,5 мл)	1 фл. (1,0 мл)	1 фл. (2,5 мл)	1 фл. (0,5 мл)	1 фл. (1,0 мл)	1 фл. (2,5 мл)
Контрольный отрицательный образец (K ⁻)	жидкая сыворотка крови человека (или кролика), не содержащая антитела к <i>Treponema pallidum</i> ; инактивированная; прозрачная бесцветная или желтоватого цвета жидкость	1 фл. (0,5 мл)	1 фл. (1,0 мл)	1 фл. (2,5 мл)	1 фл. (0,5 мл)	1 фл. (1,0 мл)	1 фл. (2,5 мл)
Планшет для микротитрования	планшет полимерный для иммунологических реакций, 96-луночный с круглодонными лунками	2 шт.	4 шт.	10 шт.	2 шт.	4 шт.	10 шт.
Карточка для интерпретации результатов	карточка из картона с цветным изображением и интерпретацией возможных результатов реакции	1 шт.	1 шт.	1 шт.	1 шт.	1 шт.	1 шт.

Примечания:

1. Набор включает все реагенты, необходимые для постановки анализа.

2. K⁺ стандартизован по содержанию антител с использованием международного стандарта ВОЗ «WHO International Standard 1st IS for human syphilitic plasma IgG and IgM» («NIBSC», Великобритания) и содержит антитела к *T. pallidum* в концентрации не менее 3 МЕ/мл.

3. K⁺ и K⁻ не содержат содержащая HBsAg, антитела к ВИЧ-1,2, вирусу гепатита С.

4. 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).

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

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

ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Базовые варианты комплектации набора позволяют исследование 100 (комплекты №№ 1/1 и 2/1), 200 (комплекты №№ 1/2 и 2/2) и 500 (комплекты № 1/3 и 2/3) образцов, включая контрольные (на контрольные образцы используется 4 лунки – 2 для тест-эритроцитов и 2 для контрольных эритроцитов).

Все компоненты набора готовы к применению.

Общее время анализа – 45 мин.

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 реакции пассивной (непрямой) гемагглютинации. Антигенные компоненты *Treponema pallidum* сорбированы на поверхности формализированных куриных эритроцитов. При наличии в сыворотке (плазме) крови или спинно-мозговой жидкости (СМЖ) специфических антител к *T. pallidum*, наблюдается гемагглютинация сенсibilизированных эритроцитов. Это приводит к образованию на дне лунок планшета "зонтика" из осевших эритроцитов. Диаметр зоны осаждения зависит от содержания антител в образце. При отсутствии антител к *T. pallidum* гемагглютинация сенсibilизированных эритроцитов не происходит; оседая, эритроциты образуют "точку". Суспензия эритроцитов содержит специальные добавки, предотвращающие неспецифическую агглютинацию.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Аналитическая чувствительность (минимальное содержание антител к *T. pallidum*, определяемое набором) при исследовании международного стандарта «WHO International Standard 1st IS for human syphilitic plasma IgG» («NIBSC», Великобритания), – 0,0025 МЕ/мл.

Чувствительность набора по выявлению антител к *T. pallidum* определяется по стандартным панелям положительных сывороток предприятия, содержащих антитела к *T. pallidum* (СОП⁺_{*T. pallidum*}-018, или по коммерческим стандартным образцам, содержащим антитела к *T. pallidum*, допущенным к использованию в РФ), как процентное содержание образцов, определенных набором как положительные, и составляет 100%.

Специфичность набора определяется по стандартной панели отрицательных сывороток предприятия, не содержащих антитела к *T. pallidum* (СОП_{*T. pallidum*}-018 или по коммерческим стандартным образцам, не содержащим антитела к *T. pallidum*, допущенным к использованию в РФ), как процентное содержание образцов, определенных набором как отрицательные, и составляет 100%.

Диагностическая чувствительность набора реагентов: 99,57% (с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическая специфичность набора реагентов: 99,72% (с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическая чувствительность для каждого вида биологического материала составила:

Сыворотка крови человека: 98,76% - 100%

Плазма крови человека: 99,29% - 100%

Ликвор 92,78% - 100%

Диагностическая специфичность для каждого вида биологического материала составила:

Сыворотка крови человека: 99,50% - 100%;

Плазма крови человека: 99,29% - 100%

Ликвор 92,78% - 100%

ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Нативная сыворотка, плазма (с гепарином, ЭДТА, цитратом натрия) крови человека объемом не менее 10 мкл или спинно-мозговая жидкость человека объемом не менее 40 мкл.

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

Образцы до исследования хранить при температуре от 2 до 8 °С. При необходимости хранения образцов более 7 дней рекомендуется разделить их на аликвоты и хранить при температуре

от минус 20 до минус 70 °С. Размороженные образцы перед исследованием нужно тщательно перемешать. При работе с размороженными образцами следует учитывать, что каждый цикл оттаивания-замораживания приводит к разрушению выявляемых антител и антигенов, снижая качество исследуемого материала. С целью получения достоверных результатов исследования рекомендуется использовать только однократное замораживание-оттаивание образцов.

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

При исследовании образцов с содержанием до 200 г/л гемоглобина, 120 мкмоль/л билирубина и 5,6 ммоль/л триглицеридов интерференция в наборе реагентов "Сифилис-РПГА-тест" не наблюдается.

Образцы, содержащие осадок, перед анализом отцентрифугировать в течение 10-15 мин при 2500-3000 об/мин.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

Набор биологически безопасен, однако исследуемые образцы следует считать потенциально инфицированными.

Потенциальный риск применения набора – класс 2б (Приказ МЗ РФ №4н от 6 июня 2012 г.), ГОСТ 31508.

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

Буферный раствор (БР) содержит натрия азид в безопасной концентрации.

Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 "Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами" и МУ-287-113 "Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения".

Набор реагентов, в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» относится к классу Б – эпидемиологически опасные отходы

Перечень рисков, идентифицированных в процессе анализа риска, и описание способов управления этими рисками в целях снижения их до допустимого уровня представлен отдельным документом.

СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

Оборудование, материалы и реагенты

Для "ручной" постановки:

- пипетки автоматические или полуавтоматические с переменным или постоянным объемом, позволяющие дозировать 5-50, 20-200 мкл;
- наконечники одноразовые для автоматических (полуавтоматических) пипеток;
- электронный таймер;
- холодильник бытовой;
- спирт этиловый 70%;
- раствор перекиси водорода 6%;
- резиновые перчатки;
- вата гигроскопическая;
- бумага фильтровальная;
- центрифуга настольная на 2500–3000 об/мин;
- мерный стакан или цилиндр необходимого объема;
- контейнеры для сбора отходов (отдельно для жидких и твердых);
- вода очищенная (дистиллированная или деионизованная).

Для постановки с использованием средств автоматизации:

- аппаратно-программный комплекс "Критерий-2" или "Эксперт-Лаб";
- или ридер типа или Anthos LP400, или MRX, или MR7000, или Dynatech MRXII;
- или автоматический анализатор типа Olympus PK 3000.

Подготовка реагентов для анализа

Все компоненты набора готовы к применению.

Все реагенты до начала анализа выдержать 15-20 мин при температуре от 18 до 25 °C.

Суспензии КЭ и ТЭ осторожно перемешать до однородного состояния.

***Внимание!** Нельзя допускать подсыхания эритроцитов на стенках и крышках флаконов, затрудняющего получение гомогенной взвеси. Недопустимо использовать для проведения анализа суспензии КЭ и ТЭ со слившимися эритроцитами ввиду возможного получения ложных результатов.*

Подготовка образцов для анализа

K^+ и K^- развести 1:20 в БР (10 мкл контрольного образца внести в 190 мкл БР).

Исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови развести 1:20 в БР (10 мкл сыворотки (плазмы) крови внести в 190 мкл БР).

Исследуемые образцы СМЖ развести 1:5 в БР (40 мкл СМЖ внести в 160 мкл БР).

Разведения контрольных и исследуемых образцов могут быть приготовлены непосредственно в планшете или во вспомогательных пробирках (флаконах).

***Внимание!** Предварительно разведенные образцы хранению не подлежат.*

Проведение анализа

Качественное определение

Для каждого исследуемого образца использовать по одной лунке в двух смежных рядах планшета. По две лунки оставить для K^+ и K^- .

Внести по 25 мкл каждого образца, разведенного 1:20 (образцы сывороток, включая K^+ и K^-) или 1:5 (СМЖ), в две смежные лунки. В одну из них внести по 75 мкл ТЭ, в другую – по 75 мкл КЭ.

***Примечание.** После добавления ТЭ и КЭ конечное разведение образцов сыворотки или плазмы крови – 1:80 и образцов СМЖ – 1:20.*

Планшет осторожно покачать, чтобы перемешать содержимое лунок, и выдержать не менее 45 мин при температуре от 18 до 25 °C в условиях, исключающих вибрацию, после чего учесть результаты реакции. Допускается учет результатов реакции через 24 ч после постановки.

Визуальный учет результатов

Результаты РПГА оцениваются по внешнему виду осадка эритроцитов на дне лунки, как показано на рисунке.

Полученные результаты интерпретируются как:

- **Резко положительный** – ровный слой ("зонтик") агглютинированных эритроцитов, распределенных по дну лунки (4+)
- **Положительный** – эритроциты располагаются на большей части дна лунки, при этом по периферии осадка формируется заметное кольцо (3+).
- **Слабоположительный** – эритроциты располагаются на небольшой части дна лунки, в центральной части формируется плотное кольцо из осадка эритроцитов с заметным просветлением в центральной части (2+).
- **Неопределенный** – наличие небольшого рыхлого осадка эритроцитов с нечеткими краями в центральной части лунки с незначительным просветом в центре на свободном от эритроцитов окружающем фоне (1+ или ±)
- **Отрицательный** – компактный осадок ("пуговка") в центральной части дна лунки на чистом окружающем фоне (-).

Результаты реакции с исследуемыми образцами учитывают при условии положительного результата ТЭ с K^+ , отрицательного результата ТЭ с K^- и отрицательного результата КЭ с K^+ и K^- .

K^+ , K^- должны быть обязательно протестированы при каждом новом исследовании.

При получении положительного результата с ТЭ и КЭ исследование образца необходимо повторить. Повторное получение аналогичного результата свидетельствует о наличии в образце антиэритроцитарных антител, которые необходимо предварительно абсорбировать. Для этого исходный образец необходимо развести суспензией КЭ в соотношении 1:20 и выдержать 30 мин при температуре от 18 до 25 °С, после чего центрифугировать 3 мин при 2000 об/мин, отобрать супернатант и исследовать его в РПГА, как описано выше.

Учет результатов при использовании аппаратно-программных комплексов (АПК)

Анализ с использованием аппаратно-программных комплексов проводить в соответствии с инструкциями по их эксплуатации (за консультациями и адаптационными листами можно обращаться в ЗАО "ЭКОлаб").

Определение титра антител

Проводить с образцами, давшими резко положительный, положительный или слабоположительный результат при качественном определении.

Проводить с обязательным параллельным титрованием K^+ .

Для титрования использовать по 8 лунок в каждом ряду планшета (один ряд для каждого образца, включая K^+).

Исследование сыворотки (плазмы) крови

В первые лунки всех рядов внести по 25 мкл соответствующих образцов, разведенных 1:20, во все остальные - по 25 мкл БР.

Приготовить серийные двукратные разведения каждого образца, для чего в лунку 2 каждого ряда внести 25 мкл соответствующего образца, разведенного 1:20; перемешать и 25 мкл полученного разведения (1:40) внести в лунку 3; перемешать и перенести 25 мкл полученного разведения (1:80) в лунку 4 и так – до разведения 1:2560 в лунке 8, из которой после приготовления указанного разведения удалить 25 мкл.

Во все лунки каждого ряда внести по 75 мкл ТЭ.

Планшет осторожно покачать, чтобы перемешать содержимое лунок, и выдержать не менее 45 мин при температуре от 18 до 25 °С, после чего учесть результаты реакции.

Исследование СМЖ

В первые лунки рядов планшета внести по 25 мкл образцов СМЖ в разведении 1:5, во все последующие лунки этих рядов – по 25 мкл БР.

Приготовить серийные двукратные разведения каждого образца СМЖ, для чего в лунку 2 каждого ряда внести 25 мкл соответствующего образца, разведенного 1:5; перемешать и 25 мкл полученного разведения (1:10) внести в лунку 3; перемешать и перенести 25 мкл полученного разведения (1:20) в лунку 4 и так – до разведения 1:640 в лунке 8, из которой после приготовления указанного разведения удалить 25 мкл.

Во все лунки каждого ряда внести по 75 мкл ТЭ.

Планшет осторожно покачать, чтобы перемешать содержимое лунок, и выдержать не менее 45 мин при температуре от 18 до 25 °С, после чего учесть результаты реакции.

Внимание! Внесение ТЭ увеличивает разведение образцов в 4 раза, что необходимо учитывать при учете результатов реакции.

Учет результатов

Результаты титрования учитывают также как при качественном определении.

Титром антител к *Treponema pallidum* в исследуемом образце считается последнее разведение, в котором получен положительный или слабоположительный результат, умноженное на 4 (учет разведения образца при внесении ТЭ).

Титр антител в исследуемом образце учитывают при условии, что титр антител в K^+ , полученный в реакции, отличается от указанного в паспорте (1:2560) не более, чем в 2 раза.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Неопределенный или отрицательный результаты РПГА можно наблюдать при ранних стадиях сифилитической инфекции, поскольку при раннем первичном сифилисе антитела к возбудителю еще могут быть не обнаружены этим тестом. Неопределенный результат РПГА можно наблюдать также при наличии остаточных антител после эффективного лечения.

При получении неопределенного результата необходимо повторно взять образец для исследования через 2-3 недели с обязательным определением титра антител или с использованием других тестов.

При интерпретации результатов РПГА следует учитывать возможность получения ложноположительных результатов за счет присутствия в образце ревматоидного фактора, ВЭБ, а также при исследовании образцов, полученных от пациентов с генитальным герпесом, боррелиозом, лептоспирозом.

Положительный результат РПГА может иметь место как при текущей, так и при перенесенной в прошлом инфекции. Поэтому необходимо обязательное подтверждение положительных результатов теста в дополнительных подтверждающих исследованиях с использованием других специфических тестов (ИФА, иммуноблот, РИФ_{abc})

Если концентрация антител в образце достаточно высока, может наблюдаться эффект прозоны. Для исключения этого, образец перед контролем рекомендуется разводить.

СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности набора – 1,5 года.

Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ

Замораживание не допускается.

Хранение

ХРАНИТЬ ТОЛЬКО ВЕРТИКАЛЬНО!

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.

После вскрытия упаковок неиспользованные реагенты допускается хранить герметично закрытыми 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.

Транспортирование

При температуре от 2 до 8 °С транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. Замораживание не допускается. Допускается транспортирование при температуре от 9 до 25 °С в течение 10 сут.

УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для учреждений здравоохранения.

ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

«Набор реагентов для определения антител к *Treponema pallidum* в реакции пассивной гемагглютинации» "Сифилис-РПГА-тест", соответствует ТУ 9398-018-70423725-2020, Национальным стандартам РФ и нормативным документам в части требований безопасности и эффективности (см. Сведения о нормативной документации).

По вопросам, касающимся качества и обращения набора реагентов "Сифилис-РПГА-тест", следует обращаться по адресу 142530 Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1-1а, Закрытое Акционерное Общество «ЭКОлаб» (ЗАО "ЭКОлаб"); тел. (49643) 3-23-11, факс (49643) 3-30-93 – отдел сбыта, (49643) 3-37-30 – ОБТК, 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. спорные образцы исследуемого материала пациентов (сыворотка, плазма и пр.);
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

"СОГЛАСОВАНО"

Генеральный директор

ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

« 15 » 01 2020 г.



П.К. Варнавичус

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 9 ЛИСТОВ

15 01 2021 год



Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варламов П.К.

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

9 (девять) лист 06

Ген. Директор ЗАО "ЭКОлаб"
Борисов В.Ю.
15 01 2021 г.



"УТВЕРЖДАЮ"

Генеральный директор
ЗАО "ЭКОлаб"

В.Ю. Борисов
2021 г.

"22"



ИНСТРУКЦИЯ

по применению

«Набор реагентов для определения антител к *Treponema pallidum* в
реакции пассивной гемагглютинации»
"Сифилис-РПГА-тест"

НАЗНАЧЕНИЕ

«Набор реагентов для определения антител к *Treponema pallidum* в реакции пассивной гемагглютинации» "Сифилис-РПГА-тест" предназначен для качественного и полуколичественного определения антител к *Treponema pallidum* в сыворотке (плазме) крови и спинно-мозговой жидкости (СМЖ) человека с помощью реакции пассивной гемагглютинации (РПГА) при "ручной" постановке реакции и визуальном учете результатов при использовании аппаратно-программного комплекса "Эксперт-Лаб".

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

Для однократного применения набора по назначению.

Для клинической лабораторной диагностики *in vitro*.

Потенциальные потребители изделия

Лабораторные подразделения лечебно-профилактических учреждений.

Профессиональный уровень потенциальных пользователей

Врач клинической лабораторной диагностики, медицинский лабораторный техник.

Показания и противопоказания к применению изделия

Показания: серологическая диагностика всех форм сифилиса.

Противопоказания: нет.

Описание целевого анализа, сведения о его научной обоснованности

Сифилис – системное инфекционное заболевание, вызываемое бледной трепонемой (*Treponema pallidum*), характеризуется волнообразным прогрессирующим течением и разнообразными клиническими проявлениями с чередованием манифестных и скрытых периодов.

Особенно большое значение в распространении сифилиса играют остро заразные ранние формы инфекции (первичный, вторичный), а также больные скрытым ранним сифилисом, у 25% которых заболевание может реверсировать в манифестный вторичный сифилис.

Одно из значимых мест в контроле над распространением сифилиса занимает диагностика, осуществляемая лабораторными методами. Она особенно важна при малосимптомных и скрытых формах заболевания, при необходимости раннего установления диагноза, предупреждения развития врожденного сифилиса, а также поздних форм инфекции.

Диагностика сифилиса, осуществляемая лабораторными методами, является комплексной и включает применение как прямых методов исследования, связанных с необходимостью выявления самого возбудителя или его генетического материала, так и непрямых – как правило, серологических методов исследования, направленных на выявление гуморальных иммунных антител к возбудителю сифилиса или его отдельным антигенным детерминантам. При этом комплексность диагностики обусловлена не только возможностью прямого, либо непрямого выявления возбудителя, но и стадийностью течения инфекции и связанным с этим изменением гуморального иммунного ответа.



Абсолютный приоритет в диагностике сифилиса, как за рубежом, так и в России, в настоящее время занимают не прямые, серологические методы исследования.

В соответствии с Приказом МЗ РФ № 87 от 26.03.2001 «О совершенствовании серологической диагностики сифилиса») серо- и ликвородиагностика сифилиса предусматривает применение следующих реакций: реакции микропреципитации (РМП), Venereal Disease Research Laboratory (VDRL) тест, Rapid Plasma Reagins (RPR) тест и других модификаций на основе кардиолипинового антигена — нетрепонемные, отборочные тесты; реакции пассивной (непрямой) гемагглютинации (РПГА), реакции иммунофлуоресценции (РИФ), иммуноферментного анализа (ИФА), реакции иммобилизации бледных трепонем (РИБТ) — трепонемные тесты.

Реакция пассивной гемагглютинации широко применяется для диагностики сифилиса как в качестве отборочного, так и в качестве подтверждающего теста. Она характеризуется простотой и быстротой выполнения, а также высокими показателями диагностической эффективности, поскольку предназначена для выявления гуморальных антител к *Treponema pallidum*, которые сохраняются в организме человека в течение долгого времени после вылечивания сифилиса.

СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

Набор выпускается в 6 базовых вариантах комплектации:

- комплекты №№ 1/1, 1/2 и 1/3 — для качественного определения (выявление наличия антител);
- комплекты №№ 2/1, 2/2 и 2/3 — для качественного и полуколичественного определения (определение титра антител).

Компонент	Описание	Ком. № 1/1	Ком. № 1/2	Ком. № 1/3	Ком. № 2/1	Ком. № 2/2	Ком. № 2/3
Тест-эритроциты (ТЭ)	0,4% суспензия куриных эритроцитов, сенсibilизированных нативными антигенами <i>Treponema pallidum</i> , штамм Nichols; суспензия красно-коричневого цвета, при хранении разделяется на 2 фракции: верхнюю — прозрачную светло-желтую жидкость, нижнюю — темно-бурый осадок эритроцитов	1 фл. (9,0 мл)	2 фл. (по 9,0 мл)	3 фл. (по 15 мл)	2 фл. (по 9,0 мл)	4 фл. (по 9,0 мл)	6 фл. (по 15 мл)
Контрольные эритроциты (КЭ)	0,4% суспензия куриных эритроцитов, не нагруженных антигенами; суспензия красно-коричневого цвета, при хранении разделяется на 2 фракции: верхнюю — прозрачную светло-желтую жидкость, нижнюю — темно-бурый осадок эритроцитов	1 фл. (9,0 мл)	2 фл. (по 9,0 мл)	3 фл. (по 15 мл)	1 фл. (по 9,0 мл)	2 фл. (по 9,0 мл)	3 фл. (по 15 мл)
	Буферный раствор для разведения образцов (сыворотки, плазмы крови, СМЖ), содержащий компоненты,	1 фл. (21 мл)	2 фл. (по 21 мл)	6 фл. (по 18 мл)	1 фл. (25 мл)	2 фл.	7 фл.

буферный раствор (БР)	предотвращающие неспецифическую агглютинацию; прозрачная жидкость желтого или желто-оранжевого цвета					(по 25 мл)	(по 18 мл)
Контрольный положительный образец (K ⁺)	жидкая стандартная сыворотка крови человека (или кролика), содержащая антитела к <i>Treponema pallidum</i> в титре 1:2560, инактивированная; прозрачная бесцветная или желтоватого цвета жидкость	1 фл. (0,5 мл)	1 фл. (1,0 мл)	1 фл. (2,5 мл)	1 фл. (0,5 мл)	1 фл. (1,0 мл)	1 фл. (2,5 мл)
Контрольный отрицательный образец (K ⁻)	жидкая сыворотка крови человека (или кролика), не содержащая антитела к <i>Treponema pallidum</i> ; инактивированная; прозрачная бесцветная или желтоватого цвета жидкость	1 фл. (0,5 мл)	1 фл. (1,0 мл)	1 фл. (2,5 мл)	1 фл. (0,5 мл)	1 фл. (1,0 мл)	1 фл. (2,5 мл)
Планшет для микротитрования	планшет полимерный для иммунологических реакций, 96-луночный с круглодонными лунками	2 шт.	4 шт.	10 шт.	2 шт.	4 шт.	10 шт.
Карточка для интерпретации результатов	карточка из картона с цветным изображением и интерпретацией возможных результатов реакции	1 шт.	1 шт.	1 шт.	1 шт.	1 шт.	1 шт.*

Примечания:

1. Набор включает все реагенты, необходимые для постановки анализа.

2. K⁺ стандартизован по содержанию антител с использованием международного стандарта ВОЗ «WHO International Standard 1st IS for human syphilitic plasma IgG and IgM» («NIBSC», Великобритания) и содержит антитела к *T. pallidum* в концентрации не менее 3 МЕ/мл.

3. K⁺ и K⁻ не содержат содержащая HBsAg, антитела к ВИЧ-1,2, вирусу гепатита С.

4. 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).

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

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

ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Базовые варианты комплектации набора позволяют исследование 100 (комплекты №№ 1/1 и 2/1), 200 (комплекты №№ 1/2 и 2/2) и 500 (комплекты № 1/3 и 2/3) образцов, включая контрольные (на контрольные образцы используется 4 лунки – 2 для тест-эритроцитов и 2 для контрольных эритроцитов).

Все компоненты набора готовы к применению.

Общее время анализа – 45 мин.

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 реакции пассивной (непрямой) гемагглютинации. Антигенные компоненты *Treponema pallidum* сорбированы на поверхности формализированных куриных эритроцитов. При наличии в сыворотке (плазме) крови или спинно-мозговой жидкости (СМЖ) специфических антител к *T. pallidum*, наблюдается гемагглютинация сенсibilизированных эритроцитов. Это приводит к образованию на дне лунок планшета "зонтика" из осевших эритроцитов. Диаметр зоны осаждения зависит от содержания антител в образце. При отсутствии антител к *T. pallidum* гемагглютинация сенсibilизированных эритроцитов не происходит; оседая, эритроциты образуют "точку". Суспензия эритроцитов содержит специальные добавки, предотвращающие неспецифическую агглютинацию.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Аналитическая чувствительность (минимальное содержание антител к *T. pallidum*, определяемое набором) при исследовании международного стандарта «WHO International Standard 1st IS for human syphilitic plasma IgG» («NIBSC», Великобритания), – 0,0025 МЕ/мл.

Чувствительность набора по выявлению антител к *T. pallidum* определяется по стандартным панелям положительных сывороток предприятия, содержащих антитела к *T. pallidum* (СОП⁺_{*T. pallidum*}-018, или по коммерческим стандартным образцам, содержащим антитела к *T. pallidum*, допущенным к использованию в РФ), как процентное содержание образцов, определенных набором как положительные, и составляет 100%.

Специфичность набора определяется по стандартной панели отрицательных сывороток предприятия, не содержащих антитела к *T. pallidum* (СОП⁻_{*T. pallidum*}-018 или по коммерческим стандартным образцам, не содержащим антитела к *T. pallidum*, допущенным к использованию в РФ), как процентное содержание образцов, определенных набором как отрицательные, и составляет 100%.

Диагностическая чувствительность набора реагентов: 99,57% (с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическая специфичность набора реагентов: 99,72% (с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическая чувствительность для каждого вида биологического материала составила:

Сыворотка крови человека:	98,76% - 100%
Плазма крови человека:	99,29% - 100%
Ликвор	92,78% - 100%

Диагностическая специфичность для каждого вида биологического материала составила:

Сыворотка крови человека:	99,50% - 100%;
Плазма крови человека:	99,29% - 100%
Ликвор	92,78% - 100%

Аналитическая специфичность:

Перекрестных иммунологических реакций с образцами сывороток крови человека, содержащими маркеры патологических состояний вирусной и бактериальной этиологии, а также ревматоидный фактор (в концентрации более 8 МЕ/мл) при постановке испытуемого набора не выявлено.

исследовании образцов с содержанием до 200 г/л гемоглобина, 120 мкмоль/л билирубина и 11 ммоль/л триглицеридов интерференция не наблюдалась.

ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Нативная сыворотка, плазма (с гепарином, ЭДТА, цитратом натрия) крови человека объемом не менее 10 мкл или спинно-мозговая жидкость человека объемом не менее 40 мкл.

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

Образцы до исследования хранить при температуре от 2 до 8 °С. При необходимости хранения образцов более 7 дней рекомендуется разделить их на аликвоты и хранить при температуре от минус 20 до минус 70 °С. Размороженные образцы перед исследованием нужно тщательно перемешать. При работе с размороженными образцами следует учитывать, что каждый цикл оттаивания-замораживания приводит к разрушению выявляемых антител и антигенов, снижая качество исследуемого материала. С целью получения достоверных результатов исследования рекомендуется использовать только однократное замораживание-оттаивание образцов.

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

При исследовании образцов с содержанием до 200 г/л гемоглобина, 120 мкмоль/л билирубина и 5,6 ммоль/л триглицеридов интерференция в наборе реагентов "Сифилис-РПГА-тест" не наблюдается.

Образцы, содержащие осадок, перед анализом отцентрифугировать в течение 10-15 мин при 2500-3000 об/мин.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

Набор биологически безопасен, однако исследуемые образцы следует считать потенциально инфицированными.

Потенциальный риск применения набора – класс 2б (Приказ МЗ РФ №4н от 6 июня 2012 г.), ГОСТ 31508.

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

Буферный раствор (БР) содержит натрия азид 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

Перечень рисков, идентифицированных в процессе анализа риска, и описание способов управления этими рисками в целях снижения их до допустимого уровня представлен отдельным документом.

СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

Оборудование, материалы и реагенты

Для "ручной" постановки:

- пипетки автоматические или полуавтоматические с переменным или постоянным объемом, позволяющие дозировать 5-50, 20-200 мкл;
- наконечники одноразовые для автоматических (полуавтоматических) пипеток;
- электронный таймер;
- холодильник бытовой;
- спирт этиловый 70%;
- раствор перекиси водорода 6%;
- резиновые перчатки;
- вата гигроскопическая;
- бумага фильтровальная;
- центрифуга настольная на 2500–3000 об/мин;
- мерный стакан или цилиндр необходимого объема;
- контейнеры для сбора отходов (отдельно для жидких и твердых);
- вода очищенная (дистиллированная или деионизованная).

Для постановки с использованием средств автоматизации:

- аппаратно-программный комплекс "Критерий-2" или "Эксперт-Лаб";
- или ридер типа или Anthos LP400, или MRX, или MR7000, или Dynatech MRXII;
- или автоматический анализатор типа Olympus PK 3000.

Подготовка реагентов для анализа

Все компоненты набора готовы к применению.

Все реагенты до начала анализа выдержать 15-20 мин при температуре от 18 до 25 °С.

Суспензии КЭ и ТЭ осторожно перемешать до однородного состояния.

***Внимание!** Нельзя допускать подсыхания эритроцитов на стенках и крышках флаконов, затрудняющего получение гомогенной взвеси. Недопустимо использовать для проведения анализа суспензии КЭ и ТЭ со слившимися эритроцитами ввиду возможного получения ложных результатов.*

Подготовка образцов для анализа

K^+ и K^- развести 1:20 в БР (10 мкл контрольного образца внести в 190 мкл БР).

Исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови развести 1:20 в БР (10 мкл сыворотки (плазмы) крови внести в 190 мкл БР).

Исследуемые образцы СМЖ развести 1:5 в БР (40 мкл СМЖ внести в 160 мкл БР).

Разведения контрольных и исследуемых образцов могут быть приготовлены непосредственно в планшете или во вспомогательных пробирках (флаконах).

***Внимание!** Предварительно разведенные образцы хранению не подлежат.*

Проведение анализа

Качественное определение

Для каждого исследуемого образца использовать по одной лунке в двух смежных рядах планшета. По две лунки оставить для K^+ и K^- .

Внести по 25 мкл каждого образца, разведенного 1:20 (образцы сывороток, включая K^+ и K^-) или 1:5 (СМЖ), в две смежные лунки. В одну из них внести по 75 мкл ТЭ, в другую – по 75 мкл КЭ.

***Примечание.** После добавления ТЭ и КЭ конечное разведение образцов сыворотки или плазмы крови – 1:80 и образцов СМЖ – 1:20.*

Планшет осторожно покачать, чтобы перемешать содержимое лунок, и выдержать не менее 45 мин при температуре от 18 до 25 °С в условиях, исключающих вибрацию, после чего учесть результаты реакции. Допускается учет результатов реакции через 24 ч после постановки.

Визуальный учет результатов

Результаты РПГА оцениваются по внешнему виду осадка эритроцитов на дне лунки, как показано на рисунке.

Полученные результаты интерпретируются как:

- **Резко положительный** – ровный слой ("зонтик") агглютинированных эритроцитов, распределенных по дну лунки (4+)
- **Положительный** – эритроциты располагаются на большей части дна лунки, при этом по периферии осадка формируется заметное кольцо (3+).
- **Слабоположительный** – эритроциты располагаются на небольшой части дна лунки, в центральной части формируется плотное кольцо из осадка эритроцитов с заметным просветлением в центральной части (2+).
- **Неопределенный** – наличие небольшого рыхлого осадка эритроцитов с нечеткими краями в центральной части лунки с незначительным просветом в центре на свободном от эритроцитов окружающем фоне (1+ или ±)
- **Отрицательный** – компактный осадок ("пуговка") в центральной части дна лунки на чистом окружающем фоне (–).

Результаты реакции с исследуемыми образцами учитывают при условии положительного результата ТЭ с K^+ , отрицательного результата ТЭ с K^- и отрицательного результата КЭ с K^+ и K^- .

K^+ , K^- должны быть обязательно протестированы при каждом новом исследовании.

При получении положительного результата с ТЭ и КЭ исследование образца необходимо повторить. Повторное получение аналогичного результата свидетельствует о наличии в образце антиэритроцитарных антител, которые необходимо предварительно абсорбировать. Для этого исходный образец необходимо развести суспензией КЭ в соотношении 1:20 и выдержать 30 мин при температуре от 18 до 25 °С, после чего центрифугировать 3 мин при 2000 об/мин, отобрать супернатант и исследовать его в РПГА, как описано выше.

Учет результатов при использовании аппаратно-программных комплексов (АПК)

Анализ с использованием аппаратно-программных комплексов проводить в соответствии с инструкциями по их эксплуатации (за консультациями и адаптационными листами можно обращаться в ЗАО "ЭКОлаб").

Определение титра антител

Проводить с образцами, давшими резко положительный, положительный или слабоположительный результат при качественном определении.

Проводить с обязательным параллельным титрованием K^+ .

Для титрования использовать по 8 лунок в каждом ряду планшета (один ряд для каждого образца, включая K^+).

Исследование сыворотки (плазмы) крови

В первые лунки всех рядов внести по 25 мкл соответствующих образцов, разведенных 1:20, во все остальные – по 25 мкл БР.

Приготовить серийные двукратные разведения каждого образца, для чего в лунку 2 каждого ряда внести 25 мкл соответствующего образца, разведенного 1:20; перемешать и 25 мкл полученного разведения (1:40) внести в лунку 3; перемешать и перенести 25 мкл полученного разведения (1:80) в лунку 4 и так – до разведения 1:2560 в лунке 8, из которой после приготовления указанного разведения удалить 25 мкл.

Во все лунки каждого ряда внести по 75 мкл ТЭ.

Планшет осторожно покачать, чтобы перемешать содержимое лунок, и выдержать не менее 45 мин при температуре от 18 до 25 °С, после чего учесть результаты реакции.

Исследование СМЖ

В первые лунки рядов планшета внести по 25 мкл образцов СМЖ в разведении 1:5, во все последующие лунки этих рядов – по 25 мкл БР.

приготовить серийные двукратные разведения каждого образца СМЖ, для чего в лунку 2 ряда внести 25 мкл соответствующего образца, разведенного 1:5; перемешать и 25 мкл полученного разведения (1:10) внести в лунку 3; перемешать и перенести 25 мкл полученного разведения (1:20) в лунку 4 и так – до разведения 1:640 в лунке 8, из которой после приготовления разведения удалить 25 мкл.

Во все лунки каждого ряда внести по 75 мкл ТЭ.

Планшет осторожно покачать, чтобы перемешать содержимое лунок, и выдержать не менее 45 мин при температуре от 18 до 25 °С, после чего учесть результаты реакции.

Внимание! Внесение ТЭ увеличивает разведение образцов в 4 раза, что необходимо учитывать при учете результатов реакции.

Учет результатов

Результаты титрования учитывают также как при качественном определении.

Титром антител к *Treponema pallidum* в исследуемом образце считается последнее разведение, в котором получен положительный или слабоположительный результат, умноженное на 4 (учет разведения образца при внесении ТЭ).

Титр антител в исследуемом образце учитывают при условии, что титр антител в К⁺, полученный в реакции, отличается от указанного в паспорте (1:2560) не более, чем в 2 раза.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Неопределенный или отрицательный результаты РПГА можно наблюдать при ранних стадиях сифилитической инфекции, поскольку при раннем первичном сифилисе антитела к возбудителю еще могут быть не обнаружены этим тестом. Неопределенный результат РПГА можно наблюдать также при наличии остаточных антител после эффективного лечения.

При получении неопределенного результата необходимо повторно взять образец для исследования через 2-3 недели с обязательным определением титра антител или с использованием других тестов.

При интерпретации результатов РПГА следует учитывать возможность получения ложноположительных результатов за счет присутствия в образце ревматоидного фактора, ВЭБ, а также при исследовании образцов, полученных от пациентов с генитальным герпесом, боррелиозом, лептоспирозом.

Положительный результат РПГА может иметь место как при текущей, так и при перенесенной в прошлом инфекции. Поэтому необходимо обязательное подтверждение положительных результатов теста в дополнительных подтверждающих исследованиях с использованием других специфических тестов (ИФА, иммуноблот, РИФ_{абс}).

Если концентрация антител в образце достаточно высока, может наблюдаться эффект прозоны. Для исключения этого, образец перед контролем рекомендуется разводить.

СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности набора – 1,5 года.

Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ

Замораживание не допускается.

Хранение

ХРАНИТЬ ТОЛЬКО ВЕРТИКАЛЬНО!

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.

После вскрытия упаковок неиспользованные реагенты допускается хранить герметично закрытыми 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.

Транспортирование

При температуре от 2 до 8 °С транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. Замораживание не допускается. Допускается транспортирование при температуре от 9 до 25 °С в течение 10 сут.

УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для учреждений здравоохранения.

ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

«Набор реагентов для определения антител к *Treponema pallidum* в реакции пассивной гемагглютинации» "Сифилис-РПГА-тест", соответствует ТУ 9398-018-70423725-2020 с изм. № 1, Национальным стандартам РФ и нормативным документам в части требований безопасности и эффективности (см. Сведения о нормативной документации).

По вопросам, касающимся качества набора реагентов "Сифилис-РПГА-тест", следует обращаться по адресу: 142530 Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1-1а, Закрытое Акционерное Общество «ЭКОлаб» (ЗАО "ЭКОлаб"); 8(49643) 3-23-11; 3-30-93; тел./факс (49643)3-30-85; тел. 8-800-333-33-47, 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. спорные образцы исследуемого материала пациентов (сыворотка, плазма и пр.);
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

"СОГЛАСОВАНО"

Генеральный директор

ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

«22» 07 2021 г.



П.К. Варнавичус

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 9 ЛИСТОВ

«22» 07 2021 год

Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичус П.К.



Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

9 лист 06

Зам. Ген. директора ЗАО "ЭКОлаб"
Гашенко Т.Ю.
«22» 07 2021 г.

