



Т.Ю. Гашенко
2022 г.

ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов
«Тест-система иммуноферментная для выявления антител
всех классов к *Treponema pallidum*»

"ИФА-антипаллидум-одностадийный PLUS"

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител всех классов к *Treponema pallidum*» "ИФА-антипаллидум-одностадийный PLUS" предназначен для качественного и полуколичественного выявления суммарных антител к *Treponema pallidum* в сыворотке (плазме) крови, спинномозговой жидкости человека, а также препаратов, приготовленных из крови человека (иммуноглобулины, интерфероны, криопреципитат, альбумин) методом непрямого иммуноферментного анализа (ИФА) на твердофазном носителе при "ручной" постановке и с использованием ИФА-анализаторов.

Функциональное назначение: скрининг и диагностика.

Применение изделия не имеет популяционных и демографических ограничений.

Для однократного применения набора по назначению.

Для клинической лабораторной диагностики *in vitro*.

Показания и противопоказания к применению изделия

Изделие предназначено для обследования лиц всех возрастов с симптомами сифилиса, контактировавших с заболевшими сифилисом, лиц группы «риска», доноров, беременных женщин, при плановых и внеплановых обследованиях.

Противопоказаний нет.

Потенциальные потребители изделия

Лабораторные подразделения лечебно-профилактических учреждений.

Профессиональный уровень потенциальных пользователей

Врач клинической лабораторной диагностики, медицинский лабораторный техник.

Описание целевого анализа, сведения о его научной обоснованности

Сифилис - инфекционное венерическое заболевание с разнообразными клиническими проявлениями, характеризующееся периодичностью течения. Возбудителем инфекции является бледная трепонема - *Treponema pallidum*. Сифилис, как правило, передается во время полового контакта, а также при гемотрансфузии, вертикальным (от матери – плоду) и бытовым путями. Проникновение *T. pallidum* в организм человека происходит вследствие нарушения целостности кожных покровов или слизистых оболочек. На протяжении инфекционного процесса клинические проявления заболевания могут отсутствовать или проявляться в виде высыпаний или язв на коже и иных неспецифических симптомов (увеличении лимфатических узлов, общего недомогания и пр.). Развитие заболевания сопровождается распространением возбудителя в организме с поражением внутренних органов, костей, суставов, сердечно-сосудистой системы и ЦНС.

СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

Набор выпускается в 6 базовых вариантах комплектации:

Название	Описание	Комплект					
		№1/1	№1/2	№2/1	№2/2	№3/1	№3/2
Иммуносорбент	рекомбинантные белки, аналоги TmpA, p15, p17, p47 <i>Treponema pallidum</i> , сорбированные на 96-луночном разборном полистироловом планшете для иммунологических реакций с плоским дном.	2 планшета	2 планшета	1 планшет	1 планшет	5 планшето- тов	5 планше- тов
допускается раздельная упаковка стрипов (по 1-4 стрипа в пакете)							
Контрольный положительный образец (K ⁺)	инактивированный, сыворотка крови человека, содержащая антитела к <i>Treponema pallidum</i> ; прозрачная жидкость красного цвета	1 фл. (1,0 мл)	1 фл. (1,0 мл)	1 фл. (1,0 мл)	1 фл. (1,0 мл)	2 фл. (по 2,5 мл)	2 фл. (по 2,5 мл)
Контрольный отрицательный образец (K ⁻)	инактивированный; сыворотка крови человека, не содержащая антитела к <i>Treponema pallidum</i> ; прозрачная жидкость с желтым оттенком различной интенсивности	1 фл. (1,0 мл)	1 фл. (1,0 мл)	1 фл. (1,0 мл)	1 фл. (1,0 мл)	2 фл. (по 2,5 мл)	2 фл. (по 2,5 мл)
Конъюгат	рекомбинантные белки, аналоги TmpA, p15, p17, p47 <i>Treponema pallidum</i> , меченные пероксидазой хрена; прозрачная жидкость от желтого до оранжевого цвета	2 фл. (по 14 мл)	2 фл. (по 14 мл)	1 фл. (14 мл)	1 фл. (14 мл)	5 фл. (по 14 мл)	5 фл. (по 14 мл)
Раствор для разведения образцов (PP)	прозрачная жидкость от желтого до оранжевого цвета, возможно выпадение осадка, исчезающего при встряхивании	1 фл. (2,0 мл)	1 фл. (2,0 мл)	1 фл. (1,0 мл)	1 фл. (1,0 мл)	1 фл. (5,0 мл)	1 фл. (5,0 мл)
25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином [ФСБ-Т(х25)]	прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная пенящаяся жидкость, возможно выпадение осадка солей белого цвета, растворяющегося при температуре 37 °С в течение 30 мин.	2 фл. (по 40 мл)	2 фл. (по 40 мл)	1 фл. (40 мл)	1 фл. (40 мл)	3 фл. (по 100 мл)	3 фл. (по 100 мл)
Хромоген (ТМБ)	раствор тетраметилбензидина; прозрачная розового цвета жидкость	-	1 фл. (2,0 мл)	-	1 фл. (1,0 мл)	-	1 фл. (5,0 мл)

Дитратный буферный рас- твор с переки- сью водорода (ЦБР)	прозрачная бесцветная жидкость	-	2 фл. (по 14 мл)	-	1 фл. (14 мл)	-	5 фл. (по 14 мл)
Раствор инди- каторный (РИ)	прозрачная бесцветная жидкость	2 фл. (по 14 мл)	-	1 фл. (14 мл)	-	5 фл. (по 14 мл)	-
Стоп-реагент	прозрачная бесцветная жидкость	1 фл. (25 мл)	1 фл. (25 мл)	1 фл. (12,5 мл)	1 фл. (12,5 мл)	3 фл. (по 25 мл)	3 фл. (по 25 мл)
Одноразовые наконечники для автома- тических пипеток		16 шт.	16 шт.	16 шт.	16 шт.	32 шт.	32 шт.

Примечания. 1. Набор включает все реагенты, необходимые для постановки ИФА, кроме очищенной (дистиллированной или деионизированной) воды.

2. [ФСБ-Т(х25)], РИ, стоп-реагент – унифицированы для всех наборов ЗАО "ЭКОлаб", в которых используются указанные реагенты.

3. К+ и К- не содержат антигены ВИЧ, HBsAg, антитела к ВГС и ВИЧ.

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.

Набор укомплектован принадлежностями:

Комплекты № 1/1, № 1/2, №2/1, № 2/2:

вспомогательными пластиковыми емкостями - 4 шт.,

клеякой пленкой для планшетов - 4 шт.

Комплект № 3/1, № 3/2:

вспомогательными пластиковыми емкостями - 8 шт.,

клеякой пленкой для планшетов - 8 шт.

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

ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Предусмотрены шесть базовых варианта комплектации набора:

Базовый вариант комплекта № 1/1, № 1/2 позволяет исследование 192 образцов, включая контрольные (на контрольные образцы используется 3 лунки).

Базовый вариант комплекта № 2/1, № 2/2 позволяет исследование 96 образцов, включая контрольные (на контрольные образцы используется 3 лунки).

Базовый вариант комплекта № 3/1, № 3/2 позволяет исследование 480 образцов, включая контрольные (на контрольные образцы используется 3 лунки).

Все комплекты позволяют проведение отдельных исследований с использованием необходимого количества стрипов:

Число стрипов	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Число иссл. обр.	1-5	6-13	14-21	22-29	30-37	38-45	46-53	54-61	62-69	70-77	78-85	86-93

Набор позволяет проведение анализа по двум протоколам – в термостате (протокол №1, общее время инкубаций – 1 ч 25 мин) и в термошейкере (протокол № 2, общее время инкубаций – 40 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 ДЕЙСТВИЯ

При наличии в исследуемом образце антител к *Treponema pallidum* они связываются с антигенами иммуносорбента и антигенами конъюгата, меченными пероксидазой хрена. Образовавшийся комплекс "антиген иммуносорбента-антитело-антиген конъюгата" выявляется в реакции с индикаторным раствором, содержащим хромоген – тетраметилбензидин, в результате которой меняется цвет (оптическая плотность) реакционной смеси в лунке планшета; изменение регистрируется спектрофотометрически.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Аналитическая чувствительность (минимальная определяемая концентрация антител) при исследовании международного стандарта WHO International Standard 1st IS for human syphilitic plasma IgG («NIBSC», Великобритания) составляет 0,0025 МЕ/мл.

Чувствительность набора реагентов определяется по стандартной панели образцов предприятия, содержащей антитела к *Treponema pallidum* (СОП⁺-095), как процентное содержание положительных образцов, определенных набором как положительные и составляет 100%.

Специфичность набора определяется по стандартной панели образцов предприятия, не содержащей антитела к *Treponema pallidum* (СОП⁻-095), как процентное содержание отрицательных образцов, определенных набором как отрицательные и составляет 100%.

Коэффициент вариации результатов выявления антител к *Treponema pallidum* в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови не превышает 8%.

Диагностическая чувствительность набора реагентов: 99,54% - 100% (с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическая специфичность набора реагентов: 99,85% - 100% (с доверительной вероятностью 95%) с учетом донорского контингента, группы риска, беременных женщин при плановых и внеплановых обследованиях.

Диагностическая чувствительность для каждого вида биологического материала составила:

Сыворотка крови человека:	99,81% - 100%
Плазма крови человека:	99,01% - 100%
Ликвор человека:	97,05% - 100%

Диагностическая специфичность для каждого вида биологического материала составила:

Сыворотка крови человека:	99,50 % - 100%
Плазма крови человека:	99,78% - 100%
Ликвор человека:	97,05% - 100%

Аналитическая специфичность:

Перекрестных иммунологических реакций, обусловленных наличием общих антигенных детерминант у возбудителей *Treponema pallidum* и *Borrelia burgdorferi*, *Chlamydia trachomatis*, возбудителей лептоспирозов (семейство *Leptospira*), а также ревматоидного фактора (РФ) в концентрации более 8 МЕ/мл, в ходе клинических испытаний набора реагентов «ИФА-Антипаллидум-одностадийный PLUS» не выявлено.

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

ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Нативная сыворотка, плазма (с гепарином, ЭДТА, цитратом натрия) крови или спинномозговая жидкость (СМЖ) человека объемом не менее 10 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, снижая качество

исследуемого материала. С целью получения достоверных результатов исследования рекомендуется использовать только однократное замораживание-оттаивание образцов.

Для исследования образцов альбумина, криопреципитата, интерферона, иммуноглобулинов исходные растворы вносить согласно инструкции по применению, лиофильно высушенные препараты крови предварительно восстановить согласно инструкции по их применению.

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

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

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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).

Набор биологически безопасен, однако с исследуемыми образцами необходимо обращаться как с потенциально инфицированным материалом, строго выполняя «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» СанПиН 3.3686-21.

Стоп-реагент при попадании на незащищенную кожу и слизистые может вызывать химические ожоги. В случае попадания на кожу – немедленно промойте пораженный участок водой.

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 А - отходы, не имеющие контакта с биологическими жидкостями пациентов, инфекционными больными и классу Б (эпидемиологически опасные отходы) – инфицированные и потенциально инфицированные отходы, материалы и инструменты, предметы, загрязненные кровью и/или другими биологическими жидкостями.

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".

СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

"РУЧНАЯ" ПОСТАНОВКА

Оборудование и материалы

Дозаторы пипеточные (пипетки полуавтоматические одно- и многоканальные переменного объема) для внесения реагентов в лунки планшета с погрешностью дозирования не более 5 % с наконечниками полипропиленовыми одноразовыми.

Ручные, или автоматические промыватели, или восьми- и двенадцатиканальные пипеточные дозаторы для промывания лунок планшета.

Спектрофотометр вертикального сканирования для измерения оптической плотности в лунках планшета при 450 нм и/или в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620-650 нм.

Центрифуга лабораторная на 2,5-3,0 тыс. об/мин,

Холодильник, фильтровальная бумага.

Термостат на 37 °C ± 1 °C, термостатируемый шейкер орбитального типа позволяющий встряхивание при 400-800 об/мин и температуре (37 °C ± 1 °C).

Анализатор иммуноферментный.

Вода очищенная (дистиллированная или деионизированная).

70 %-ный раствор спирта этилового и 6 %-ный раствор перекиси водорода (дез.растворы) или растворы иных дезинфектантов, разрешенных к применению СП 1.32322-08, кроме хлорсодержащих.

Приготовление рабочих растворов реагентов для ИФА

Перед работой извлечь набор из холодильника, вскрыть упаковку и выдержать все реагенты перед проведением анализа не менее 30 мин при температуре от 18 до 25 °С.

Приготовление рабочего промывочного раствора (ФСБ-Т)

При выпадении осадка солей в ФСБ-Т(х25) прогреть его при температуре 37 °С до полного растворения осадка.

При использовании всего планшета 40 мл ФСБ-Т(х25) довести водой очищенной до 1 л.

При дробной постановке использовать соотношения объемов ФСБ-Т(х25) и воды, указанные в табл. 1 для разного числа используемых стрипов.

Таблица 1

Число стрипов	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
ФСБ-Т(х25), мл	3	7	10	13	17	20	23	27	30	33	37
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

Готовый рабочий промывочный раствор хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 190 сут, при температуре от 18 до 25 °С – не более 30 суток.

Приготовление индикаторного раствора (для комплектов № 1/2, № 2/2, № 3/2)

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

При использовании всего планшета во флакон с ЦБР (14 мл) добавить 0,7 мл раствора ТМБ, тщательно перемешать

При дробной постановке использовать соотношения объемов ТМБ и ЦБР, указанные в табл. 2 для разного числа используемых стрипов. Для приготовления раствора в чистую (желательно одноразовую) емкость отобрать необходимый объем ЦБР и добавить соответствующий объем ТМБ.

Таблица 2

Число стрипов	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
ЦБР, мл	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
ТМБ, мкл	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500	550

Индикаторный раствор стабилен не менее 13 ч при температуре от 18 до 25 °С в защищенном от света месте.

Примечание: Посуду, контактировавшую с раствором хромогена, отмывать без применения синтетических моющих средств.

Приготовление остальных реагентов

РИ (для комплектов № 1/1, № 2/1, № 3/1), иммуносорбент, K⁺, K⁻, РР, конъюгат, стоп-реагент – готовы к использованию.

Проведение ИФА

Качественное исследование

Внимание! Соблюдение указанных ниже температуры и времени инкубации планшетов на каждой стадии постановки крайне важно для получения достоверных результатов.

1. Извлечь из пакета планшет, вскрыв выше замка «zip-lock», и установить на рамку необходимое для проведения ИФА количество стрипов. Неиспользованные стрипы немедленно поместить обратно в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух, плотно закрыть «zip-lock» и поместить в холодильник.

Хранение вскрытого иммуносорбента возможно при температуре 2-8°С до истечения срока годности набора.

2. Во все лунки планшета внести по 90 мкл конъюгата.

В одну лунку планшета (напр., А1) внести 10 мкл K⁺.

В две лунки планшета (напр., В1, С1) внести по 10 мкл K⁻.

В остальные лунки внести по 10 мкл исследуемых образцов, тщательно перемешивая содержимое лунок.

Примечание: внесение исследуемого образца в конъюгат можно контролировать визуально: после добавления образца содержимое лунок меняет свой цвет (см. раздел Спектрофотометрическая верификация дозирования образца и реагентов).

3. Планшет закрыть крышкой или клейкой пленкой. Инкубировать в соответствии с выбранным протоколом:

1 протокол проведения ИФА - 60 мин при температуре 37 °С в термостате;

2 протокол проведения ИФА - 30 мин при температуре 37 °С в термошейкере (700 об/мин).

4. С помощью промывателя удалить образцы из лунок, 5 раз промыть планшет промывочным раствором, внося в лунки 350-370 мкл раствора. При наличии промывателя, позволяющего производить промывку в режиме "Overflow", использовать именно этот режим. По окончании промывки удалить остатки влаги из лунок, постукивая перевернутым планшетом по сложенной в несколько слоев фильтровальной бумаге.

Примечание: сохранность иммуносorbента между стадиями составляет не менее 15 мин.

5. Во все лунки внести по 100 мкл индикаторного раствора. Инкубировать в соответствии с выбранным протоколом:

1 протокол проведения ИФА - 25 мин при температуре от 18 до 25 °С в защищенном от света месте;

2 протокол проведения ИФА - 10 мин при температуре 37 °С в термошейкере (700 об/мин).

Примечание: внесение индикаторного раствора, который окрашен в розовый цвет, можно контролировать визуально. Лунка, в которую внесен индикаторный раствор окрашена (см. раздел Спектрофотометрическая верификация дозирования образца и реагентов).

6. Во все лунки (в той же последовательности, с которой вносился индикаторный раствор) внести по 100 мкл стоп-реагента, осторожно (постукиванием по планшету) перемешать содержимое лунок и не более чем через 40 мин приступить к регистрации результатов.

Регистрация и учет результатов

Результаты ИФА регистрировать спектрофотометрически, измеряя оптическую плотность (ОП) при длине волны 450 нм (допустимо использование фильтра сравнения с длиной волны 620 или 650 нм). Выведение спектрофотометра на нулевой уровень ("бланк") осуществлять по воздуху.

Результаты ИФА учитываются при следующих условиях:

значение ОП для K^+ не ниже 0,8;

среднее значение ОП для K^- не выше 0,2.

В противном случае исследование необходимо повторить.

Рассчитать $ОП_{пор}$ по формуле

$$ОП_{пор} = ОП(K^-)_{ср} + 0,2,$$

где $ОП(K^-)_{ср}$ – среднее значение ОП в лунках с K^- .

Отрицательные значения ОП K^- и исследуемых образцов (со знаком «-») при расчете $ОП_{пор}$ и анализе результатов считать равными «0,000»

Интерпретация результатов

Исследуемый образец учитывать, как положительный, если значение ОП данного образца больше или равно $ОП_{пор}$.

Исследуемый образец учитывать, как отрицательный, если значение ОП в лунке с ним меньше $ОП_{пор}$.

Полуколичественное исследование

Определение титра антител

Тест-система позволяет выполнить определение титра антител в выявленном положительном образце. Для этого на отдельном стрипе необходимо провести ИФА с соответствующим образцом в последовательных двукратных разведениях его раствором РР от 1:10 до 1:1280.

Для приготовления указанных разведений в верхнюю лунку стрипа внести 20 мкл выявленного положительного образца, в остальные лунки стрипа – по 10 мкл раствора РР. Затем из верхней лунки стрипа перенести 10 мкл образца во вторую лунку перемешать пипетированием и перенести 10 мкл полученного разведения (1:20) в третью лунку и так – до последней лунки стрипа. Из последней лунки стрипа отобрать 10 мкл разведения (1:1280) и слить его в дезинфицирующий раствор. В каждую лунку добавить по 90 мкл конъюгата. Стрип закрыть. Инкубировать в соответствии с выбранным протоколом:

1 протокол проведения ИФА - 60 мин при температуре 37 °С в термостате;

2 протокол проведения ИФА – 30 мин при температуре 37 °С в термошейкере (700 об/мин).

И далее провести анализ в соответствии с настоящей инструкцией.

Титром антител считать максимальное разведение образца, при котором ОП в соответствующей лунке выше ОП_{пор}.

При наблюдении больного в динамике достоверным считать изменение титра антител не менее чем в 4 раза. В каждой постановке обязательно определять ОП для К+ и К- с последующим расчетом ОП_{пор} по указанной выше формуле.

Определение титра антител с помощью коэффициента позитивности (КП)

Образец, в котором необходимо определить титр антител, следует проанализировать в двух вариантах: в цельном образце и в разведении 1:10.

Разведение выполняется в лунке планшета, для чего в лунку планшета внести 90 мкл РР и 10 мкл исследуемого образца.

Приготовить аналогичное разведение К+.

В одну лунку внести 10 мкл цельного исследуемого образца, во вторую лунку 10 мкл его разведения 1:10. Параллельно в другие лунки внести по 10 мкл К+ цельного и в разведении 1:10, и 10 мкл К- цельного.

Во все лунки внести по 90 мкл конъюгата. Стрип закрыть. Инкубировать в соответствии с выбранным протоколом:

1 протокол проведения ИФА - 60 мин при температуре 37 °С в термостате;

2 протокол проведения ИФА – 30 мин при температуре 37 °С в термошейкере (700 об/мин).

И далее провести анализ в соответствии с п «Качественное исследование».

Титр антител в цельных образцах, давших ОП ниже 0,6, принимается равным 1:10. Для оценки титра в образцах, давших ОП выше 0,6, использовать коэффициент позитивности, который рассчитывается для К⁺ и каждого исследованного образца по формуле:

$$КП = ОП_{1:10} / ОП_{пор},$$

где ОП_{1:10} – оптическая плотность К⁺ и исследуемых образцов в разведении 1:10;

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

Полученные значения КП использовать для определения титра по табл. 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

Результаты определения титра исследуемых образцов по КП действительны только в случае, если полученный в этом исследовании титр К⁺ не отличается от титра, указанного в паспорте для данной серии набора.

Примечание. Повторное исследование образцов пациентов, у которых были обнаружены антитела к *Treponema pallidum*, с целью мониторинга титра антител и коэффициента позитивности - проводить по тому же протоколу анализа, что использовался ранее.

Спектрофотометрическая верификация дозирования образца и реагентов

Определения правильности внесения образцов и конъюгата

После внесения конъюгата и исследуемых образцов возможно верифицировать одновременное присутствие конъюгата и образцов в лунках планшета с помощью спектрофотометрии: при длине волны в 450 нм: оптическая плотность в лунке, содержащей конъюгат и образец, должна быть больше 0,350 (более низкая ОП указывает на ошибки при внесении конъюгата или образца).

Определение правильности внесения индикаторного раствора

(для комплектов №№ 1/2, 2/2, 3/2)

После внесения индикаторного раствора возможно верифицировать его присутствие в лунках планшета с помощью спектрофотометрии при длине волны в 450 нм: оптическая плотность в лунке, содержащей индикаторный раствор, должна быть больше 0,100 (более низкая ОП указывает на ошибки при внесении индикаторного раствора).

ПОСТАНОВКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИФА-АНАЛИЗАТОРОВ

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

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Набор реагентов «ИФА-антипаллидум-одностадийный PLUS» обеспечивает качественное выявление и полуколичественное определение антител к *Treponema pallidum* без дифференциации по классам иммуноглобулинов

2. Отрицательный результат теста «ИФА-антипаллидум-одностадийный PLUS» не исключает наличие заболевания, т.к. исследование может быть проведено до начала или в самом начале сероконверсии.

3. Положительный результат анализа указывает на наличие антител к *Treponema pallidum* в исследуемой пробе, однако результат исследования не позволяет судить о стадии заболевания или активности инфекционного процесса.

4. Положительный результат анализа может наблюдаться у лиц, прошедших успешное лечение сифилиса, а также у пациентов с инфекциями, вызываемыми возбудителями, имеющими антигенное сходство с *T. pallidum*: боррелиоз, болезнь Лайма.

5. В соответствии со всеми диагностическими методами, окончательный диагноз не должен основываться на результатах одного теста, а должен базироваться на корреляции результатов нескольких тестов с клиническими данными.

6. Не использовать изделие с видимыми дефектами.

СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности набора – 2 года. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ

Хранение

Замораживание не допускается.

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 в плотно закрытых упаковках в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности.

Транспортирование

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 15 сут. Замораживание не допускается.

УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для учреждений здравоохранения.

ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител всех классов к *Treponema pallidum*» "ИФА-антипаллидум-одностадийный PLUS" с изм. № 1, соответствует ТУ 21.20.23-106-70423725-2021, Национальным стандартам РФ и нормативным документам в части требований безопасности и эффективности.

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться по адресу 142530 Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1, 1А. ЗАО "ЭКОлаб"; тел. 8 (49643) 3-23-11, 3-30-93, тел/факс 8(49643) 3-30-85, 8 (800) 333-33-47.

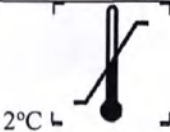
При предъявлении рекламации по поводу несоответствия физических и специфических характеристик набора реагентов заявленным для проведения объективного расследования производителем причин несоответствия потребитель должен предоставить:

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

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ НА УПАКОВКЕ И ЭТИКЕТКАХ

Символ	Значение символа
	Дата изготовления
	Код партии
	Номер по каталогу
	Нестерильно
	Содержимого достаточно для проведения n- тестов
	Использовать до

8°C

	Предел температуры
	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Биологический риск
	Обратитесь к инструкции по применению
	Беречь от влаги
	Осторожно!
	Хрупкое. Осторожно

Директор ЗАО "ЭКОлаб" по научной работе

С.Г. Марданлы

"СОГЛАСОВАНО"

Генеральный директор ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

П.К. Варнавичус

« 12 » 05 2022 г.

КРАТКАЯ СХЕМА ПОСТАНОВКИ ИФА (ИФА-Антипаллидум-одностадийный PLUS)

	Протокол анализа №1 Термостат	Протокол анализа №2 Термошейкер
Внести	по 90 мкл конъюгата во все лунки; в лунку A1 – 10 мкл K ⁺ , в лунки B1, C1 – по 10 мкл K ⁻ , в остальные – по 10 мкл исследуемых образцов	
Инкубация	60 мин, 37°C	30 мин, 37°C, 700 об/мин
Промыть	5 раз промывочным раствором	
Внести	по 100 мкл индикаторного раствора в каждую лунку	
Инкубация	25 мин, 18-25 °C	10 мин, 37°C, 700 об/мин
Внести	по 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку	
Измерить	ОП при 450 нм (референс 620-650 нм), «бланк» - по воздуху	

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 11 ЛИСТОВ

« 12 05 2022 » год

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

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

лист 06
Ген. директор ЗАО "ЭКОлаб"
Гашенко Т.Ю.
2022 г.