

"УТВЕРЖДАЮ"
Генеральный директор
ЗАО "ЭКОлаб"



В.Ю.Борисов
2021 г.

ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов
Тест-система иммуноферментная для выявления антител
класса G к *Treponema pallidum*
"ИФА-антипаллидум- IgG"

Регистрационное удостоверение № ФСР 2008/03536 от 30.05.2018 г.

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса G к *Treponema pallidum*» «ИФА-антипаллидум – IgG» предназначен для качественного и полуколичественного выявления антител класса G к *Treponema pallidum* в сыворотке (плазме) крови и спинномозговой жидкости (СМЖ) человека методом непрямого иммуноферментного анализа (ИФА) на твердофазном носителе при "ручной" постановке и с использованием ИФА-анализаторов.

Для однократного применения.

Для клинической лабораторной диагностики *in vitro*.

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

Показания и противопоказания к применению изделия

Изделия предназначено для обследования больных при подозрении на сифилис – инфекцию.

Противопоказаний не существует.

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, вызываемое бледной трепонемой (*Treponema pallidum*), характеризуется волнообразным прогрессирующим течением и разнообразными клиническими проявлениями с чередованием манифестных и скрытых периодов. Сифилис, как правило, передается во время полового контакта, а также при гемотрансфузии, вертикальным (от матери – плоду) и бытовым путями. 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.

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.

После проникновения инфекционного агента (*T. pallidum*) в организме больного начинают вырабатываться различные антитела: реагены (преципитины), агглютинины, антитела классов M и G (IgM и IgG). IgM выявляются первыми (на 2 неделе); затем (через 6–9 недель) их концентрация снижается вследствие замены на IgG, вплоть до исчезновения. Рецидив за-

болевания или повторное заражение ведет к нарастанию концентрации IgM. IgG в детектируемых количествах появляются в крови через 3–4 недели от момента заражения; концентрация их нарастает и постепенно преобладает над IgM, и достигнув максимума сохраняется длительное время (годы и десятилетия) даже после проведенной терапии.

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.

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.

СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

Набор выпускается в 4 базовых вариантах комплектации:

Иммуносорбент	рекомбинантные белки TmpA, p15, p17, p47 Treponema pallidum, представляющие собой полипептиды с аминокислотными последовательностями β-галактозидазы E. coli и соответствующих белков Treponema pallidum, сорбированные на 96-луночном разборном полистироловом планшете для иммунологических реакций с плоским дном;	компл. № 1/1	компл. №1/2	компл. № 2/1	компл. № 2/2
		2 планш.	2 планш.	1 планш.	1 планш.
	допускается раздельная упаковка стрипов (по 1-4 стрипа в пакете)				
Контрольный положительный образец (K ⁺)	инактивированный, сыворотка крови человека, содержащая антитела класса G к Treponema pallidum; прозрачная бесцветная или красного цвета жидкость	1 фл. (1,0 мл)	1 фл. (1,0 мл)	1 фл. (1,0 мл)	1 фл. (1,0 мл)
Контрольный отрицательный образец (K ⁻)	инактивированный, сыворотка крови человека, не содержащая антитела класса G к Treponema pallidum; прозрачная бесцветная или желтого цвета жидкость	1 фл. (1,0 мл)	1 фл. (1,0 мл)	1 фл. (1,0 мл)	1 фл. (1,0 мл)
Конъюгат	моноклональные антитела диагностические против иммуноглобулинов человека класса G, меченные пероксидазой хрена; прозрачная жидкость красного цвета	1 фл. (2,0 мл)	2 фл. (по 14 мл)	1 фл. (1,0 мл)	1 фл. (14 мл)
Раствор для разведения конъюгата (РРК)	бесцветная опалесцирующая жидкость, возможно выпадение осадка, исчезающего при встряхивании	2 фл. (по 14 мл)	-	1 фл. (14 мл)	-

Раствор для разведения образцов (РРО)	прозрачная жидкость от синего до фиолетового цвета, возможно выпадение осадка	2 фл. (по 14 мл)	2 фл. (по 14 мл)	1 фл. (14 мл)	1 фл. (14 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)
Цитратный буферный раствор с перекисью водорода (ЦБР)	прозрачная бесцветная жидкость.	2 фл. (по 14 мл)	-	1 фл. (14 мл)	-
Хромоген (ТМБ)	раствор тетраметилбензидина; прозрачная бесцветная жидкость.	1 фл. (2,0 мл)	-	1 фл. (1,0 мл)	-
Раствор индикаторный (РИ)	прозрачная бесцветная жидкость	-	2 фл. (по 14 мл)	-	1 фл. (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)
Одноразовые наконечники для автоматических пипеток		16 шт.	16 шт.	16 шт.	16 шт.

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

2. ФСБ-Т(х25), ЦБР, стоп-реагент – унифицированы для всех наборов ЗАО "ЭКОлаб", в которых используются указанные реагенты. Допускается использование разных серий этих реагентов или их смешение.

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 (инструкция по применению).

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

Набор может быть дополнительно укомплектован:

вспомогательными пластиковыми емкостями (4 шт.),

клеякой пленкой для планшетов (4 шт.).

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

По желанию потребителя базовая комплектация набора (число индивидуальных упаковок с реагентами и их объемы) может быть изменена.

ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

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).

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

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 класса G к *Treponema pallidum* антигены иммуносорбента связываются с антителами; этот комплекс, в свою очередь, связывается с конъюгатом – антителами против IgG человека, меченными пероксидазой хрена. Образовавшийся комплекс "антиген-антитело-конъюгат" выявляется по реакции с индикаторным раствором, содержащим хромоген тетраметилбензидин (ТМБ), в результате которой меняется цвет (оптическая плотность) реакционной смеси в лунке планшета; изменение регистрируется с помощью спектрофотометра.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность набора реагентов определяется по стандартной панели образцов предприятия, содержащей антитела класса G к *Treponema pallidum* (СОП⁺-089), как процентное содержание положительных образцов, определенных набором как положительные и составляет 100%.

Специфичность набора определяется по стандартной панели образцов предприятия, не содержащей антитела класса G к *Treponema pallidum* (СОП⁻-089), как процентное содержание отрицательных образцов, определенных набором как отрицательные и составляет 100%.

Диагностическая чувствительность набора реагентов: 99,23% (с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическая специфичность набора реагентов: 99,70% (с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическая чувствительность для каждого вида биологического материала составила:

Сыворотка крови человека: 97,31% - 100%

Плазма крови человека: 98,58% - 100%

СМЖ (ликвор): 95,63% - 100%

Диагностическая специфичность для каждого вида биологического материала составила:

Сыворотка крови человека: 99,46% - 100%

Плазма крови человека: 99,23% - 100%

СМЖ (ликвор): 95,43% - 100%

Воспроизводимость результатов составила 100%.

Аналитическая специфичность:

Перекрестных иммунологических реакций с образцами сывороток крови человека, содержащими антитела к *Leptospira*, антитела к *Borrelia burgdorferi*, антитела *Chlamydia trachomatis*, ревматоидный фактор (более 8 МЕ/мл), при постановке испытуемого набора не выявлено.

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

ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Сыворотка, плазма (с гепарином, ЭДТА, цитратом натрия) крови объемом не менее 10 мкл или спинномозговая жидкость человека объемом не менее 50 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 можно 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 антител, снижая качество исследуемого материала. С целью получения достоверных результатов исследования рекомендуется использовать только однократное замораживание – оттаивание образцов. Размороженные образцы перед исследованием тщательно перемешать.

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 «Инструкция 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 (ИСО15190:2003).

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

РРО содержит азид натрия в безопасной концентрации. 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 СанПиНом 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.

Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии 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».

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

"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.

Термостат на 37 °С.

Анализатор иммуноферментный.

Холодильник бытовой, фильтровальная бумага.

Вода очищенная (дистиллированная или деионизированная).

70 %-ный раствор спирта этилового и 6 %-ный раствор перекиси водорода (дез.рас-творы) 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 содержимое флакона с 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 суток, при температуре от 18 до 25 °С – не более 30 суток.

Приготовление рабочего разведения конъюгата (для комплектов №№ 1/1, 2/1)

Готовить не менее чем за 10 мин до использования.

При использовании всего планшета 560 мкл конъюгата внести во флакон с РРК (14 мл), тщательно перемешать.

При дробной постановке использовать соотношения объемов конъюгата и РРК, указанные в табл. 2 для разного числа используемых стрипов.

Таблица 2

Число стрипов	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
РРК, мл	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0
конъюгат, мкл	40	80	120	160	200	240	280	320	360	400	440

Рабочее разведение конъюгата стабильно не менее 13 ч при температуре от 18 до 25 °С.

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

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

При использовании целого планшета 0,7 мл ТМБ внести во флакон с ЦБР (14 мл), тщательно перемешать

При дробной постановке использовать соотношения объемов ТМБ и ЦБР, указанные в табл. 3 для разного числа используемых стрипов.

Таблица 3

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.

Приготовление остальных реагентов

Иммуносорбент, K^+ , K^- , РРО, конъюгата, РИ, стоп-реагент – готовы к использованию. РРО перед использованием перемешать.

Примечание: Следует исключить воздействие прямого солнечного света на РРО, чтобы избежать изменения цвета индикатора.

После вскрытия упаковок неиспользованные реагенты допускается хранить в плотно закрытых упаковках при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности.

Проведение ИФА

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

1. Качественное исследование

1.1. Исследование сыворотки (плазмы) крови

1.1.1. 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.

1.1.2. Внести во все лунки по 90 мкл РРО.

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

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

В остальные внести по 10 мкл исследуемых образцов.

С помощью автоматической пипетки тщательно перемешать содержимое лунок, при этом цвет жидкости в лунках с образцами меняется.

1.1.3. Планшет закрыть крышкой или клейкой пленкой. Инкубировать 30 мин при температуре 37°С в защищенном от света месте.

1.1.4. 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 остатки раствора удалить из лунок, постукивая перевернутым планшетом по сложенной в несколько слоев фильтровальной бумаге.

1.1.5. Во все лунки внести по 100 мкл конъюгата (при использовании комплектов №№ 1/2, 2/2) или рабочего разведения конъюгата (при использовании комплектов №№ 1/1, 2/1).

1.1.6. Планшет закрыть крышкой или клейкой пленкой. Инкубировать 30 мин при температуре 37 °С в защищенном от света месте.

1.1.7. С помощью промывателя удалить жидкость из лунок, 5 раз промыть планшет как указано в п. 4.

1.1.8. Во все лунки внести по 100 мкл индикаторного раствора, немедленно поместить планшет в защищенное от света место и выдержать 15-20 мин при температуре от 18 до 25 °С.

1.1.9. 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.

1.2. Исследование СМЖ (ликвора)

1.2.1. 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°C до истечения срока годности набора.

1.2.2. В три лунки (напр., A1, B1, C1) внести по 90 мкл РРО, в остальные – по 50 мкл РРО (РРО перед внесением обязательно интенсивно взболтать).

1.2.3. В лунку A1 внести 10 мкл K^+ .

В лунки B1, C1 внести по 10 мкл K^- .

В остальные внести по 50 мкл исследуемых образцов.

1.2.4. Далее провести анализ как при исследовании сыворотки (плазмы) крови.

Регистрация и учет результатов качественного исследования

Результаты ИФА регистрировать спектрофотометрически, измеряя оптическую плотность (ОП) при длине волны 450 нм (допустимо использование фильтра сравнения с длиной волны 620 или 630 нм). Выведение спектрофотометра на нулевой уровень ("бланк") осуществлять по воздуху.

Результаты ИФА учитываются при следующих условиях:

значение ОП для K^+ не менее 0,60;

среднее значение ОП для K^- не более 0,20.

При соблюдении всех этих условий можно приступить к учету результатов анализа исследуемых образцов. В противном случае исследование необходимо повторить.

Вычислить пороговое значение ОП ($ОП_{пор}$) по формуле

$$ОП_{пор} = ОП(K^-)_{cp} + 0,2$$

где $ОП(K^-)_{cp}$ - 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»

Образец учитывать, как положительный, если значение ОП данного образца больше $ОП_{пор}$.

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

Образцы со значениями ОП, равными $ОП_{пор}$, учитывать, как "сомнительные", их исследование необходимо повторить.

Допускается учёт результатов по коэффициенту позитивности (КП).

Рассчитать коэффициент позитивности (КП) для каждого исследуемого образца:

$$КП_{обр} = ОП_{обр} / ОП_{пор},$$

Исследуемые образцы учитывать:

как положительные при $КП_{обр} \geq 1$,

как отрицательные при $КП_{обр} < 1$.

2. Титрование положительного образца

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 РРО от 1:10 до 1:1280.

Для приготовления указанных разведений в верхнюю лунку стрипа внести 180 мкл раствора РРО, в остальные лунки стрипа – по 100 мкл раствора РРО. Затем в верхнюю лунку стрипа внести 20 мкл выявленного положительного образца, тщательно перемешать пипетированием и перенести 100 мкл полученного разведения (1:10) во вторую лунку, тщательно перемешать пипетированием, перенести 100 мкл полученного разведения (1:20) в третью лунку и так – до последней лунки стрипа. Из последней лунки стрипа отобрать 100 мкл разведения (1:1280) и слить его в дезинфицирующий раствор. Стрип закрыть, выдержать 30 мин при температуре 37 °С 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 большого в динамике достоверным считать изменение титра антител не менее чем в 4 раза.

Определение титра антител в сыворотке (плазме) с помощью коэффициента позитивности

В целях снижения стоимости анализа возможно определение титра в образцах сыворотки (плазмы) крови при помощи коэффициента позитивности (КП).

Для этого образцы следует анализировать в разведениях 1:10 и 1:100.

Для проведения теста в две лунки планшета внести по 90 мкл РРО. Затем в первую лунку внести 10 мкл исследуемого образца (разведение 1:10), перемешать пипетированием 3-4 раза, отобрать 10 мкл разведенной сыворотки и перенести во вторую лунку, получив разведение 1:100.

Параллельно в другие лунки внести К⁺ в разведениях 1:10 и 1:100 и К⁻ в разведении 1:10.

Заклеить планшет пленкой и инкубировать 30 мин при 37 °С. Далее провести ИФА, как описано выше.

Титр антител в образцах, давших в разведении 1:10 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:

$$КП = ОП_{1:100} / ОП_{пор},$$

где ОП_{1:100} – оптическая плотность К⁺ и исследуемых образцов в разведении 1:100;

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

Полученные значения КП использовать для определения титра по табл. 4.

Таблица 4

Значение КП	0,65 и ниже	0,66-0,96	0,97-1,9	1,91-2,99	3,0-4,3	4,31-5,49	5,5-6,95	6,96-9,19	9,2 и выше
Титр образца	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560	1:5120 и выше

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

ПОСТАНОВКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИФА-АНАЛИЗАТОРОВ

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

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 неиспользуемые реагенты допускается хранить в плотно закрытых упаковках 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 15 суток.

УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для учреждений здравоохранения.

ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса G к *Treponema pallidum*» "ИФА-антипаллидум-IgG" соответствует ТУ 9398-089-70423725-2020, Национальным стандартам РФ и нормативным документам в части требований безопасности и эффективности.

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

следует обращаться по адресу 142530 Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1, 1А. ЗАО "ЭКОлаб"; тел. (49643) 3-23-11, факс (49643) 3-30-93 – отдел сбыта, (49643) 3-37-30 – ОБТК и в учреждение, уполномоченное Росздравнадзором на проведение государственного контроля качества указанной продукции.

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

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

Директор ЗАО "ЭКОлаб" по научной работе

С.Г.Марданлы

"СОГЛАСОВАНО"

Генеральный директор ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

И.К. Варнавичус

«30» 06 2021 г.



**КРАТКАЯ СХЕМА ПОСТАНОВКИ ИФА
(ИФА-Антипаллидум-IgG)**

Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!	
Внести	<i>исследование сыворотки (плазмы крови)</i> по 90 мкл РРО во все лунки; в лунку А1 – 10 мкл К ⁺ , в лунки В1, С1 – по 10 мкл К ⁻ , в остальные – по 10 мкл исследуемых образцов
	<i>исследование ликвора</i> в лунки А1, В1, С1 – по 90 мкл РРО, в остальные лунки – по 50 мкл РРО; затем в лунку А1 – 10 мкл К ⁺ , в лунки В1, С1 – по 10 мкл К ⁻ , в остальные – по 50 мкл исследуемых образцов
Инкубация	30 мин, 37 °С
Промыть	5 раз промывочным раствором
Внести	по 100 мкл конъюгата или рабочего разведения конъюгата в каждую лунку
Инкубация	30 мин, 37 °С
Промыть	5 раз промывочным раствором
Внести	по 100 мкл индикаторного раствора в каждую лунку
Инкубация	15-20 мин, 18-25 °С
Внести	по 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку
Измерить	ОП при 450 нм (референс 620-650 нм), «бланк» - по воздуху

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ НА УПАКОВКЕ И ЭТИКЕТКАХ

IVD	Только для диагностики <i>in vitro</i>
	Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению
	Биологический риск
	Хранить при температуре

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 11 ЛИСТОВ

«30» 09 2021 год

Ген. директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичус Н.К.

Пронумеровано, пронумеровано
и скреплено печатью

лист 06
Ген. директор ЗАО "ЭКОлаб"
Борисов В.Ю.
2021 г.