«УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный директор
АО «Вектор-Бест»
_____ М.Д. Хусаинов
«16» 05 2020 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для иммуноферментного выявления суммарных антител к *Treponema pallidum*

«РекомбиБест антипаллидум-суммарные антитела»

(комплект 1)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для иммуноферментного выявления суммарных антител к *Treponema pallidum* **«РекомбиБест антипаллидум-суммарные антитела»** *(далее по тексту – набор)* предназначен для иммуноферментного выявления суммарных антител к *Treponema pallidum* в сыворотке *(плазме)* крови и ликворе человека.

1.2. Набор может быть использован для массового скрининга крови на станциях переливания крови и для диагностики сифилиса как составная часть комплекса серологических реакций.

1.3. **Комплект 1** набора рассчитан на проведение 192 (2×96) анализов, включая контроли *(по 3 лунки на каждом планшете).*

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

Метод определения основан на одностадийном «сэндвич» – варианте твердофазного иммуноферментного анализа с применением рекомбинантных антигенов. При наличии в исследуемых образцах антител к *Treponema pallidum* они связываются с рекомбинантными антигенами, иммобилизованными на поверхности лунок планшета и входящими в состав конъюгата. Во время инкубации с раствором тетраметилбензидина происходит окрашивание раствора в лунках, содержащих образовавшиеся комплексы «антиген-антитело». Степень окраски пропорциональна концентрации антител к *Treponema pallidum* в анализируемых образцах.

Реакцию останавливают добавлением стоп-реагента. Результаты ИФА регистрируют с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность (ОП) в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – в диапазоне 620–655 нм. Допустима ре-

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

гистрация результатов только с фильтром 450 нм.

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

- планшет с иммобилизованными рекомбинантными антигенами *Treponema pallidum,* готовый к использованию – 2 шт.;
- положительный контрольный образец ($К^+$) на основе инактивированной сыворотки крови человека, содержащей антитела к *Treponema pallidum,* готовый к использованию – 1 фл., 0,5 мл;
- отрицательный контрольный образец ($К^-$) на основе инактивированной сыворотки крови человека, не содержащей антитела к *Treponema pallidum,* готовый к использованию – 1 фл., 0,5 мл;
- конъюгат *(рекомбинантные антигены Treponema pallidum, меченные пероксидазой хрена)*, концентрат – 2 фл. по 1,5 мл;
- разводящий раствор (РР) – 2 фл. по 13 мл;
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 2 фл. по 28 мл;
- стоп-реагент – 1 фл., 21 мл;
- раствор тетраметилбензидина (раствор ТМБ), готовый к использованию – 2 фл. по 13 мл или
- тетраметилбензидин (ТМБ), концентрат – 1 фл., 1,5 мл;
- субстратный буферный раствор (СБР) – 2 фл. по 13 мл.

Принадлежности:

– плёнки для заклеивания планшета – 2 шт.;

– ванночки для реагентов – 2 шт.;

– наконечники для дозаторов на 2–200 мкл – 16 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ*

3.1. Результат качественного выявления набором суммарных антител к *Treponema pallidum* должен соответствовать требованиям стандартной панели предприятия образцов, содержащих антитела к *Treponema pallidum,* СПП 05-2-77, аттестованной ОБТК АО «Вектор-Бест»: **чувствительность** по образцам стандартной панели предприятия – 100%.

3.2. Результат качественного выявления набором суммарных антител к *Treponema pallidum* должен соответствовать требованиям стандартной панели предприятия образцов, не содержащих антитела к *Treponema pallidum,* СПП 05-2-79, аттестованной ОБТК АО «Вектор-Бест»: **специфичность** по образцам стандартной панели предприятия – 100%.

3.3. Диагностическая чувствительность оценивалась при клинических исследованиях:

– 303 серопозитивных образцов сыворотки (плазмы) крови и составила 100% (интер-

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

вал 99% - 100%, с доверительной вероятностью 90%);

– 20 серопозитивных образцов ликвора и составила 100% (интервал 86% - 100%, с доверительной вероятностью 90%).

3.4. Диагностическая специфичность оценивалась при клинических исследованиях:

– 282 серонегативных образцов сыворотки (плазмы) крови и составила 100% (интервал 99% - 100%, с доверительной вероятностью 90%);

– 40 серонегативных образцов ликвора и составила 100% (интервал 93% - 100%, с доверительной вероятностью 90%).

4. ТРЕБОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2б *(Приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).*

4.2. Все компоненты набора являются нетоксичными. Стоп-реагент обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента на кожу и слизистые необходимо промыть поражённый участок большим количеством проточной воды.

4.3. При работе с набором следует соблюдать требования СП 1.3.2322-08 от 21.02.08 и МУ 287-113 от 30.12.98.

4.4. При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются *(утилизируются)* в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами». Дезинфекцию наборов реагентов следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

– Спектрофотометр, позволяющий проводить измерения ОП растворов в лунках планшета в двухволновом режиме: основной фильтр — 450 нм, референс-фильтр в диапазоне — 620–655 нм; допускается регистрация результатов только с фильтром 450 нм;

– термостат, поддерживающий температуру (37±1) °С;

– холодильник бытовой;

– дозаторы полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объёмом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 5 до

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

1000 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования *(погрешность не более 5%);*

– дозаторы полуавтоматические многоканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкостей от 5 мкл до 400 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования *(погрешность не более 5%);*

– промывочное устройство для планшетов;

– перчатки медицинские диагностические одноразовые;

– бумага фильтровальная лабораторная;

– цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 1000 мл;

– вода дистиллированная;

– дезинфицирующие средства.

Возможно использование автоматических ИФА-анализаторов открытого типа.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Для анализа можно использовать образцы сыворотки, плазмы *(полученной с использованием в качестве антикоагулянтов цитрата натрия, гепарина или ЭДТА)* крови и ликвора человека.

Допускается использование образцов, хранившихся при температуре (2–8) °С не более 5 суток. Если необходимо более длительное хранение, образцы следует заморозить при температуре минус 18 ºС и ниже. После размораживания образцы необходимо тщательно перемешать.

Инактивированные при 56 ºС образцы сыворотки крови также могут быть использованы для анализа.

Образцы, содержащие взвешенные частицы, могут дать неправильный результат. Такие образцы перед использованием следует центрифугировать при 3000 об/мин 10–15 минут.

Нельзя использовать образцы с признаками микробной контаминации и содержащие эритроциты. Образцы с ярко выраженным гемолизом, гиперлипидемией или подвергавшиеся многократному замораживанию и оттаиванию могут давать неправильные результаты.

7. ПОДГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

7.1. **ВНИМАНИЕ! Тщательное соблюдение описанных ниже требований позволит избежать искажения результатов ИФА.**

– Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать при температуре (18–25) °С не менее 30 минут.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Для приготовления растворов и проведения ИФА следует использовать чистую мерную посуду и автоматические дозаторы с погрешностью измерения объёмов не более 5%.
- Растворы конъюгата и ТМБ в рабочих разведениях готовить непосредственно перед использованием. Необходимо исключить воздействие прямого света на раствор ТМБ.
- При промывке лунки планшета заполнять полностью. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 секунд.
- При использовании автоматического или ручного промывателя необходимо следить за состоянием ёмкости для промывочного раствора и соединительных шлангов: в них не должно быть «заростов». Не оставлять промывочное устройство для планшетов на ночь заполненным водой или промывочным раствором. В конце рабочего дня промыть дистиллированной водой. Обязательно, как минимум, раз в неделю промыть всю систему промывочного устройства с «замачиванием» 70% спиртом или другим раствором, рекомендованным инструкцией к прибору.
- Не допускать высыхания лунок планшета между отдельными операциями.
- При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов *(ФСБ-Т×25, СБР, концентрат ТМБ, раствор ТМБ, стоп-реагент)*, которые взаимозаменяемы в наборах АО «Вектор-Бест».
- Наконечники для дозаторов следует использовать **однократно**.
- Для дезинфекции посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, рекомендуем использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС (*четвертичных аммониевых соединений*), спиртов, третичных аминов.
- Посуду *(ванночки)*, используемые для работы с остальными реагентами, не обрабатывать дезинфицирующими растворами и моющими средствами, т.к. они не содержат инфекционного агента. В случае повторного использования посуду *(ванночки)* промыть проточной водой, тщательно и многократно ополаскивая дистиллированной водой.
- Посуду *(ванночки)*, используемые для работы с ТМБ, в случае повторного использования, сразу после работы промыть 50% раствором этилового спирта, а затем дистиллированной водой.
- Дозаторы и рабочие поверхности обрабатывать только 70% раствором этилового спирта.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Не использовать перекись водорода, хлорамин и т.д.

7.2. Приготовление реагентов

7.2.1. Промывочный раствор

Тщательно перемешать содержимое флакона с ФСБ-Т×25. При выпадении осадка солей в концентрате прогреть его перед разведением при температуре (30–40) °С до полного растворения осадка.

Содержимое 1 флакона с ФСБ-Т×25 развести дистиллированной водой до **700 мл**. Тщательно перемешать.

Хранение: промывочный раствор хранить при температуре (2–8) °С не более 1 месяца или при температуре (18–25) °С не более 7 суток.

7.2.2. Контрольные образцы

$К^+$ и $К^-$ готовы к использованию и не требуют дополнительного разведения.

Хранение: после вскрытия флаконов контрольные образцы хранить в плотно закрытых флаконах при температуре (2–8) °С в течение 12 месяцев в пределах срока годности набора.

7.2.3. Приготовление раствора конъюгата в рабочем разведении

Внимание! *Для работы с конъюгатом рекомендуем использовать одноразовые наконечники для дозаторов и ванночку для реагентов. Раствор конъюгата в рабочем разведении готовить непосредственно перед использованием!*

Перемешать, не допуская вспенивания, содержимое флакона с РР, добавить к нему **1300 мкл концентрата конъюгата** и перемешать, также не допуская вспенивания. Налитый в ванночку раствор должен иметь равномерное окрашивание.

Хранение: раствор конъюгата в рабочем разведении стабилен при температуре (18–25) °С до 10 часов.

7.2.4. При комплектации набора концентратом ТМБ и СБР:

Приготовление раствора ТМБ в рабочем разведении.

Внимание! *Раствор ТМБ в рабочем разведении готовить непосредственно перед использованием. Рекомендуем выделить наконечники для дозаторов и ванночку для реагентов, которые использовать только для работы с ТМБ.*

Во флакон с СБР внести **650 мкл концентрата ТМБ** и тщательно перемешать, не допуская вспенивания. Раствор ТМБ в рабочем разведении перелить в пластиковую ванночку.

Внимание! *Допустимо голубое окрашивание раствора ТМБ в рабочем разведении,*

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

которое не оказывает влияния на результаты анализа.

Хранение: раствор ТМБ в рабочем разведении стабилен в защищённом от света месте при температуре (18–25) °С до 10 часов.

При комплектации набора раствором ТМБ:

Раствор ТМБ готов к использованию.

Хранение: после вскрытия флакона раствор ТМБ хранить в защищённом от света месте при температуре (2–8) °С в течение 12 месяцев в пределах срока годности набора.

7.2.5. Стоп-реагент готов к использованию.

Хранение: после вскрытия флакона стоп-реагент хранить при температуре (2–8) °С в течение 12 месяцев в пределах срока годности набора.

8. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Внимание! *Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать при температуре (18–25) °С не менее 30 минут.*

8.1. Приготовить промывочный раствор *(п. 7.2.1)* и раствор конъюгата в рабочем разведении *(п. 7.2.3)*.

8.2. Во все лунки планшета внести по **120 мкл раствора конъюгата в рабочем разведении**.

Внимание! *Для внесения раствора конъюгата использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.*

Затем в одну лунку планшета внести **10 мкл К$^{+}$**, в две другие лунки – по **10 мкл К$^{-}$**, в остальные лунки – по **10 мкл цельных тестируемых образцов сывороток** *(плазмы)* или ликвора. Внесение контрольных и исследуемых образцов должно сопровождаться тщательным перемешиванием путём пипетирования до достижения равномерного окрашивания раствора в лунке, не допуская вспенивания, или с использованием орбитального шейкера *(700 об/мин в течение 1 минуты).*

Примечание: Возможен спектрофотометрический контроль внесения исследуемых образцов сыворотки и плазмы в лунки с конъюгатом: при длине волны 620 нм ОП в каждой из лунок с внесенным образцом должна быть больше 0,3.

8.3. Планшет заклеить плёнкой и инкубировать при температуре (37±1) °С **60 минут**.

8.4. По окончании инкубации снять пленку и поместить её в сосуд с дезинфицирующим раствором. С помощью промывочного устройства промыть лунки планшета 5 раз промывочным раствором *(см. п. 7.2.1),* чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок планшета. В каждую лунку вносить 400 мкл жидкости в процессе каждого цикла промывки. Время между заполнением

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

и опорожнением лунок должно быть не менее 30 секунд. Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого их заполнения. По окончании промывки остатки влаги из лунок тщательно удалить, постукивая перевёрнутым планшетом по фильтровальной бумаге или использовать крестообразную аспирацию жидкости из лунок *(режим «crosswise» или «cross aspiration» в автоматических промывающих устройствах)*.

8.5. В случае комплектации набора концентратом ТМБ и СБР приготовить раствор ТМБ в рабочем разведении *(п. 7.2.4)*.

Во все лунки планшета внести по **100 мкл раствора ТМБ**.

Внимание! *Для внесения раствора ТМБ использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, входящие в состав набора*.

8.6. Планшет инкубировать в защищённом от света месте при температуре (18–25) °С **25 минут.**

8.7. Остановить реакцию добавлением в каждую лунку по **100 мкл стоп-реагента** и через 2-3 минуты измерить ОП.

Следует избегать попадания стоп-реагента на одежду и открытые участки тела. При попадании – промыть большим количеством воды.

8.8. Результаты ИФА регистрировать с помощью спектрофотометра, измеряя ОП в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – в диапазоне 620–655 нм. Допускается регистрация результатов только с фильтром 450 нм. Выведение спектрофотометра на нулевой уровень *(бланк)* осуществлять по воздуху.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

Результаты исследований учитывать только при соблюдении следующих условий:

– значения ОП в лунках с $К^-$ не более 0,2;

– значение ОП в лунке с $К^+$ не менее 0,8.

Исследуемый образец расценивать как положительный, если соответствующее ему значение ОП превышает или равно величине $ОП_{крит}$, которую вычисляют по формуле:

$$\mathbf{ОП_{крит} = ОП_{ср}\, К^- + 0{,}2}$$

где $ОП_{ср}\, К^-$ — среднее значение ОП для $К^-$.

Если ОП $К^-$ и $ОП_{иссл.обр.}$ имеют отрицательные значения, при расчёте $ОП_{крит}$ и анализе результатов считать их равными нулю.

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

$$\mathbf{КП = ОП_{обр.} / ОП_{крит}}$$

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

10.1. Транспортировать изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, при температуре (2–8) °С. Допускается транспортирование при температуре до 25 °С не более 10 суток.

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре (2–8) °С в течение всего срока годности в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

10.3. Срок годности набора реагентов – 24 месяца со дня выпуска. Не допускается применение наборов по истечении срока их годности.

10.4. Дробное использование набора может быть реализовано в течение 12 месяцев в пределах срока годности. В случае дробного использования набора:

– $К^+$ и $К^–$, концентрат конъюгата, ФСБ-Т×25, СБР, концентрат ТМБ, раствор ТМБ, РР и стоп-реагент после вскрытия флаконов хранить в плотно закрытых флаконах при температуре (2–8) °С в течение 12 месяцев в пределах срока годности набора;

– промывочный раствор можно хранить при температуре (2–8) °С не более 1 месяца или при температуре (18–25) °С не более 7 суток;

– раствор ТМБ в рабочем разведении стабилен в защищённом от света месте при температуре (18–25) °С до 10 часов;

– раствор конъюгата в рабочем разведении стабилен при температуре (18–25) °С до 10 часов.

10.5. При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов *(ФСБ-Т×25, стоп-реагент, концентрат ТМБ, СБР, раствор ТМБ)*, которые взаимозаменяемы в наборах АО «Вектор-Бест».

Нельзя использовать реагенты из наборов других фирм-производителей.

10.6. Для получения надёжных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

11. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

11.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

11.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, воз-

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

никших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

11.3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики *(потребительские свойства)* которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

По вопросам, касающимся качества набора **«РекомбиБест антипаллидум-суммарные антитела»**, обращаться в **АО «Вектор-Бест»** по адресу:

630559, Новосибирская обл., р.п. Кольцово, Научно-производственная зона, корп.36, комн.211,

тел. (383) 227-67-64, тел./факс (383) 363-13-46.

E-mail: vbobtk@vector-best.ru

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный директор
АО «Вектор-Бест»
_____ М.Д. Хусаинов
«26» 05 2020 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для иммуноферментного выявления суммарных антител к *Treponema pallidum*

«РекомбиБест антипаллидум-суммарные антитела»

(комплект 2)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для иммуноферментного выявления суммарных антител к *Treponema pallidum* **«РекомбиБест антипаллидум-суммарные антитела»** *(далее по тексту – набор)* предназначен для иммуноферментного выявления суммарных антител к *Treponema pallidum* в сыворотке *(плазме)* крови и ликворе человека.

1.2. Набор может быть использован для массового скрининга крови на станциях переливания крови и для диагностики сифилиса как составная часть комплекса серологических реакций.

1.3. **Комплект 2** набора рассчитан на проведение 96 (12×8) анализов, включая контроли *(по 3 лунки в каждой постановке)*. Предусмотрено дробное использование набора: возможно 12 независимых постановок.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

Метод определения основан на одностадийном «сэндвич» – варианте твердофазного иммуноферментного анализа с применением рекомбинантных антигенов. При наличии в исследуемых образцах антител к *Treponema pallidum* они связываются с рекомбинантными антигенами, иммобилизованными на поверхности лунок планшета и входящими в состав конъюгата. Во время инкубации с раствором тетраметилбензидина происходит окрашивание раствора в лунках, содержащих образовавшиеся комплексы «антиген-антитело». Степень окраски пропорциональна концентрации антител к *Treponema pallidum* в анализируемых образцах.

Реакцию останавливают добавлением стоп-реагента. Результаты ИФА регистрируют с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность (ОП) в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – в диапазоне 620–655 нм. Допустима регистра-

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ция результатов только с фильтром 450 нм.

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

- планшет разборный с иммобилизованными рекомбинантными антигенами *Treponema pallidum,* готовый к использованию – 1 шт.;
- положительный контрольный образец ($К^+$) на основе инактивированной сыворотки крови человека, содержащей антитела к *Treponema pallidum,* готовый к использованию – 1 фл., 0,5 мл;
- отрицательный контрольный образец ($К^-$) на основе инактивированной сыворотки крови человека, не содержащей антитела к *Treponema pallidum,* готовый к использованию – 1 фл., 0,5 мл;
- конъюгат *(рекомбинантные антигены Treponema pallidum, меченные пероксидазой хрена),* концентрат – 1 фл., 1,5 мл;
- разводящий раствор (РР) – 1 фл., 13 мл;
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 1 фл., 28 мл;
- стоп-реагент – 1 фл., 12 мл;
- раствор тетраметилбензидина (раствор ТМБ), готовый к использованию – 1 фл., 13 мл;

или

- тетраметилбензидин (ТМБ), концентрат – 1 фл., 1,5 мл;
- субстратный буферный раствор (СБР) – 1 фл., 13 мл.

Принадлежности:

- плёнки для заклеивания планшета – 2 шт.;
- ванночки для реагентов – 2 шт.;
- наконечники для дозаторов на 2–200 мкл – 16 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Результат качественного выявления набором суммарных антител к *Treponema pallidum* должен соответствовать требованиям стандартной панели предприятия образцов, содержащих антитела к *Treponema pallidum,* СПП 05-2-77, аттестованной ОБТК АО «Вектор-Бест»: **чувствительность** по образцам стандартной панели предприятия – 100%.

3.2. Результат качественного выявления набором суммарных антител к *Treponema pallidum* должен соответствовать требованиям стандартной панели предприятия образцов, не содержащих антитела к *Treponema pallidum,* СПП 05-2-79, аттестованной ОБТК АО «Вектор-Бест»: **специфичность** по образцам стандартной панели предприятия – 100%.

3.3. Диагностическая чувствительность оценивалась при клинических исследованиях:

– 303 серопозитивных образцов сыворотки (плазмы) крови и составила 100% (интер-

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

вал 99% - 100%, с доверительной вероятностью 90%);

– 20 серопозитивных образцов ликвора и составила 100% (интервал 86% - 100%, с доверительной вероятностью 90%).

3.4. Диагностическая специфичность оценивалась при клинических исследованиях:

– 282 серонегативных образцов сыворотки (плазмы) крови и составила 100% (интервал 99% - 100%, с доверительной вероятностью 90%);

– 40 серонегативных образцов ликвора и составила 100% (интервал 93% - 100%, с доверительной вероятностью 90%).

4. ТРЕБОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2б *(Приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).*

4.2. Все компоненты набора являются нетоксичными. Стоп-реагент обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента на кожу и слизистые необходимо промыть поражённый участок большим количеством проточной воды.

4.3. При работе с набором следует соблюдать требования СП 1.3.2322-08 от 21.02.08 и МУ-287-113 от 30.12.98.

4.4. При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются *(утилизируются)* в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами». Дезинфекцию наборов реагентов следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

– Спектрофотометр, позволяющий проводить измерения ОП растворов в лунках планшета в двухволновом режиме: основной фильтр — 450 нм, референс-фильтр в диапазоне — 620–655 нм; допускается регистрация результатов только с фильтром 450 нм;

– термостат, поддерживающий температуру (37±1) °С;

– холодильник бытовой;

– дозаторы полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объёмом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 5 до 1000 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования *(погрешность не более 5%)*;

– дозаторы полуавтоматические многоканальные со сменными наконечниками, поз-

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

воляющие отбирать объёмы жидкостей от 5 мкл до 400 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования *(погрешность не более 5%);*

– промывочное устройство для планшетов;

– перчатки медицинские диагностические одноразовые;

– бумага фильтровальная лабораторная;

– цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 100 мл и 1000 мл;

– вода дистиллированная;

– дезинфицирующие средства.

Возможно использование автоматических ИФА-анализаторов открытого типа.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Для анализа можно использовать образцы сыворотки, плазмы *(полученной с использованием в качестве антикоагулянтов цитрата натрия, гепарина или ЭДТА)* крови и ликвора человека.

Допускается использование образцов, хранившихся при температуре (2–8) °С не более 5 суток. Если необходимо более длительное хранение, образцы следует заморозить при температуре минус 18 ºС и ниже. После размораживания образцы необходимо тщательно перемешать.

Инактивированные при 56 ºС образцы сыворотки крови также могут быть использованы для анализа.

Образцы, содержащие взвешенные частицы, могут дать неправильный результат. Такие образцы перед использованием следует центрифугировать при 3000 об/мин 10–15 минут.

Нельзя использовать образцы с признаками микробной контаминации и содержащие эритроциты. Образцы с ярко выраженным гемолизом, гиперлипидемией или подвергавшиеся многократному замораживанию и оттаиванию могут давать неправильные результаты.

7. ПОДГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

7.1. **ВНИМАНИЕ! Тщательное соблюдение описанных ниже требований позволит избежать искажения результатов ИФА.**

- Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать при температуре (18–25) °С не менее 30 минут.
- Для приготовления растворов и проведения ИФА следует использовать чистую мерную посуду и автоматические дозаторы с погрешностью измерения объёмов не более 5%.
- После отбора необходимого количества стрипов оставшиеся сразу упаковать в пакет с осушителем. Упакованные стрипы, плотно закрытые флаконы с исходными компонентами хранить при температуре (18–25) °С в течение 12 месяцев в пределах срока годности набора.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Растворы конъюгата и ТМБ в рабочих разведениях готовить непосредственно перед использованием. Необходимо исключить воздействие прямого света на раствор ТМБ.
- При промывке лунки стрипа *(планшета*) заполнять полностью. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 секунд.
- При использовании автоматического или ручного промывателя необходимо следить за состоянием ёмкости для промывочного раствора и соединительных шлангов: в них не должно быть «заростов». Не оставлять промывочное устройство для планшетов на ночь заполненным водой или промывочным раствором. В конце рабочего дня промыть дистиллированной водой. Обязательно, как минимум, раз в неделю промыть всю систему промывочного устройства с «замачиванием» 70% спиртом или другим раствором, рекомендованным инструкцией к прибору.
- Не допускать высыхания лунок планшета между отдельными операциями.
- При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов *(ФСБ-Т×25, СБР, концентрат ТМБ, раствор ТМБ, стоп-реагент)*, которые взаимозаменяемы в наборах АО «Вектор-Бест».
- Наконечники для дозаторов следует использовать **однократно**.
- Для дезинфекции посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, рекомендуем использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС (*четвертичных аммониевых соединений*), спиртов, третичных аминов.
- Посуду *(ванночки)*, используемые для работы с остальными реагентами, не обрабатывать дезинфицирующими растворами и моющими средствами, т.к. они не содержат инфекционного агента. В случае повторного использования посуду *(ванночки)* промыть проточной водой, тщательно и многократно ополаскивая дистиллированной водой.
- Посуду *(ванночки)*, используемые для работы с ТМБ, в случае повторного использования, сразу после работы промыть 50% раствором этилового спирта, а затем дистиллированной водой.
- Дозаторы и рабочие поверхности обрабатывать только 70% раствором этилового спирта. Не использовать перекись водорода, хлорамин и т.д.

7.2. Приготовление реагентов

7.2.1. Промывочный раствор

Тщательно перемешать содержимое флакона с ФСБ-Т×25. При выпадении осадка со-

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

лей в концентрате прогреть его перед разведением при температуре (30–40) °С до полного растворения осадка.

В соответствии с числом используемых стрипов отобрать необходимое количество ФСБ-Т×25 *(см. таблицу)* и развести дистиллированной водой до указанного в таблице объёма или содержимое 1 флакона – до **700 мл**. Тщательно перемешать.

Хранение: промывочный раствор хранить при температуре (2–8) °С не более 1 месяца или при температуре (18–25) °С не более 7 суток.

Таблица расхода реагентов

	Количество используемых стрипов											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Промывочный раствор												
ФСБ-Т×25, мл	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24
Дистиллированная вода, мл	до 50	до 100	до 150	до 200	до 250	до 300	до 350	до 400	до 450	до 500	до 550	до 600
Раствор конъюгата в рабочем разведении												
Конъюгат, концентрат, мкл	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000	1100	1200
РР, мл	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0
Раствор ТМБ в рабочем разведении												
ТМБ, концентрат, мкл	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500	550	600
СБР, мл	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0

7.2.2. Контрольные образцы

$К^+$ и $К^-$ готовы к использованию и не требуют дополнительного разведения.

Хранение: после вскрытия флаконов контрольные образцы хранить в плотно закрытых флаконах при температуре (2–8) °С в течение 12 месяцев в пределах срока годности набора.

7.2.3. Приготовление раствора конъюгата в рабочем разведении

Внимание! *Для работы с конъюгатом рекомендуем использовать одноразовые наконечники для дозаторов и ванночку для реагентов. Раствор конъюгата в рабочем разведении готовить непосредственно перед использованием!*

Перемешать, не допуская вспенивания, содержимое флакона с РР. Затем в пластиковую ванночку отобрать необходимое количество *(см. таблицу)* концентрата конъюгата, добавить соответствующее количество РР, перемешать, также не допуская вспенивания, до получения равномерного окрашивания.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Хранение: раствор конъюгата в рабочем разведении стабилен при (18–25) °С до 10 часов.

7.2.4. При комплектации набора концентратом ТМБ и СБР:

Приготовление раствора ТМБ в рабочем разведении

Внимание! *Раствор ТМБ в рабочем разведении готовить непосредственно перед использованием. Рекомендуем выделить наконечники для дозаторов и ванночку для реагентов, которые использовать только для работы с ТМБ.*

В пластиковую ванночку отобрать необходимое количество ТМБ *(см. таблицу)*, добавить соответствующее количество СБР, тщательно перемешать, не допуская вспенивания.

Внимание! *Допустимо голубое окрашивание раствора ТМБ в рабочем разведении, которое не оказывает влияния на результаты анализа.*

Хранение: раствор ТМБ в рабочем разведении стабилен в защищённом от света месте при температуре (18–25) °С до 10 часов.

При комплектации набора раствором ТМБ:

Раствор ТМБ готов к использованию.

Хранение: после вскрытия флакона раствор ТМБ хранить в защищённом от света месте при температуре (2–8) °С в течение 12 месяцев в пределах срока годности набора.

7.2.5. Стоп-реагент готов к использованию.

Хранение: после вскрытия флакона стоп-реагент хранить при температуре (2–8) °С в течение 12 месяцев в пределах срока годности набора.

8. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Внимание! *Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать при температуре (18–25) °С не менее 30 минут.*

8.1. Приготовить промывочный раствор *(п. 7.2.1)* и раствор конъюгата в рабочем разведении *(п. 7.2.3).*

8.2. Подготовить необходимое количество стрипов к работе. Оставшиеся – сразу упаковать во избежание губительного воздействия влаги. Для этого стрипы поместить в цефленовый пакет с влагопоглотителем, тщательно закрыть пакет пластиковой застёжкой. Упакованные таким образом стрипы хранить при температуре (2–8) °С в течение 12 месяцев в пределах срока годности набора.

8.3. Во все лунки стрипов внести по **120 мкл раствора конъюгата в рабочем разведении**.

Внимание! *Для внесения раствора конъюгата использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.*

Затем в одну лунку внести **10 мкл К$^{+}$**, в две другие лунки – по **10 мкл К$^{-}$**, в остальные

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

лунки – по **10 мкл цельных тестируемых образцов сывороток** *(плазмы)* или ликвора. Внесение контрольных и исследуемых образцов должно сопровождаться тщательным перемешиванием путем пипетирования до достижения равномерного окрашивания раствора в лунке,, не допуская вспенивания, или с использованием орбитального шейкера *(700 об/мин в течение 1 минуты).*

Примечание: Возможен спектрофотометрический контроль внесения исследуемых образцов сыворотки и плазмы в лунки с конъюгатом: при длине волны 620 нм ОП в каждой из лунок с внесенным образцом должна быть больше 0,3.

8.4. Стрипы заклеить плёнкой и инкубировать при температуре (37±1) °С **60 минут**.

8.5. По окончании инкубации снять плёнку и поместить её в сосуд с дезинфицирующим раствором. С помощью промывочного устройства промыть лунки стрипов 5 раз промывочным раствором *(см. п. 7.2.1)*, чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок стрипов. В каждую лунку вносить 400 мкл жидкости в процессе каждого цикла промывки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 секунд. Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого их заполнения. По окончании промывки остатки влаги из лунок тщательно удалить, постукивая перевёрнутым планшетом по фильтровальной бумаге или использовать крестообразную аспирацию жидкости из лунок *(режим «crosswise» или «cross aspiration» в автоматических промывающих устройствах)*.

8.6. В случае комплектации набора концентратом ТМБ и СБР –

приготовить раствор ТМБ в рабочем разведении *(см. п. 7.2.4).*

Во все лунки внести по **100 мкл раствора ТМБ**.

Внимание! *Для внесения раствора ТМБ использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, входящие в состав набора*.

8.7. Стрипы инкубировать при температуре (18–25) °С в защищённом от света месте **25 минут.**

8.8. Остановить реакцию добавлением в лунки по **100 мкл стоп-реагента** и через 2-3 минуты измерить ОП.

Следует избегать попадания стоп-реагента на одежду и открытые участки тела. При попадании – промыть большим количеством воды.

8.9. Результаты ИФА регистрировать с помощью спектрофотометра, измеряя ОП в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – в диапазоне 620–655 нм. Допускается регистрация результатов только с фильтром 450 нм.

Выведение спектрофотометра на нулевой уровень *(бланк)* осуществлять по воздуху.

9. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

Результаты исследований учитывать только при соблюдении следующих условий:

– значения ОП в лунках с $К^-$ не более 0,2;

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

– значение ОП в лунке с $К^+$ не менее 0,8.

Исследуемый образец расценивать как положительный, если соответствующее ему значение ОП превышает или равно величине $ОП_{крит}$, которую вычисляют по формуле:

$$\mathbf{ОП_{крит} = ОП_{ср}\ К^- + 0{,}2}$$

где $ОП_{ср}\ К^-$ — среднее значение ОП для $К^-$.

Если ОП $К^-$ и $ОП_{иссл.обр.}$ имеют отрицательные значения, при расчёте $ОП_{крит}$ и анализе результатов считать их равными нулю.

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

$$\mathbf{КП = ОП_{обр.} / ОП_{крит}}$$

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

10.1. Транспортировать изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, при температуре (2–8) °С. Допускается транспортирование при температуре до 25 °С не более 10 суток.

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре (2–8) °С в течение всего срока годности в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

10.3. Срок годности набора реагентов – 24 месяца со дня выпуска. Не допускается применение наборов по истечении срока их годности.

10.4. Дробное использование набора может быть реализовано в течение 12 месяцев в пределах срока годности.

В случае дробного использования набора:

– неиспользованные стрипы хранить в плотно закрытом пакете при температуре (2–8) °С в течение 12 месяцев в пределах срока годности набора;

– $К^+$ и $К^-$, концентрат конъюгата, ФСБ-Т×25, СБР, концентрат ТМБ, раствор ТМБ, РР и стоп-реагент после вскрытия флаконов хранить в плотно закрытых флаконах при температуре (2–8) °С в течение 12 месяцев в пределах срока годности набора;

– промывочный раствор хранить при температуре (2–8) °С не более 1 месяца или при температуре (18–25) °С не более 7 суток;

– раствор ТМБ в рабочем разведении стабилен в защищённом от прямого солнечного света месте при температуре (18–25) °С до 10 часов;

– раствор конъюгата в рабочем разведении стабилен при температуре (18–25) °С до 10 часов.

10.5. При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов *(ФСБ-Т×25, стоп-реагент, концентрат ТМБ, СБР, раствор ТМБ)*, которые взаимозаменяемы в наборах АО «Вектор-Бест».

Нельзя использовать реагенты из наборов других фирм-производителей.

10.6. Для получения надёжных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

11. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

11.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

11.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

11.3. Производитель обязуется за свой счёт заменить изделие, технические и функциональные характеристики *(потребительские свойства)* которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

По вопросам, касающимся качества набора **«РекомбиБест антипаллидум-суммарные антитела»**, обращаться в **АО «Вектор-Бест»** по адресу:

630559, Новосибирская обл., р.п. Кольцово, Научно-производственная зона, корп.36, комн.211,

тел. (383) 227-67-64, тел./факс (383) 363-13-46.

E-mail: vbobtk@vector-best.ru

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный директор
АО «Вектор-Бест»
_____М.Д. Хусаинов
«16» ____05_____ 2020 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для иммуноферментного выявления суммарных антител к *Treponema pallidum*
«РекомбиБест антипаллидум-суммарные антитела»
(комплект 3)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для иммуноферментного выявления суммарных антител к *Treponema pallidum* **«РекомбиБест антипаллидум-суммарные антитела»** (далее по тексту – набор) предназначен для иммуноферментного выявления суммарных антител к *Treponema pallidum* в сыворотке *(плазме)* крови и ликворе человека.

1.2. Набор может быть использован для массового скрининга крови на станциях переливания крови и для диагностики сифилиса как составная часть комплекса серологических реакций.

1.3. **Комплект 3** набора рассчитан на проведение 192 (24×8) анализов, включая контроли *(по 3 лунки в каждой постановке).* Предусмотрено дробное использование набора: возможно 24 независимых постановки.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

Метод определения основан на одностадийном «сэндвич» – варианте твёрдофазного иммуноферментного анализа с применением рекомбинантных антигенов. При наличии в исследуемых образцах антител к *Treponema pallidum* они связываются с рекомбинантными антигенами, иммобилизованными на поверхности лунок планшета и входящими в состав конъюгата. Во время инкубации с раствором тетраметилбензидина происходит окрашивание раствора в лунках, содержащих образовавшиеся комплексы «антиген-антитело». Степень окраски пропорциональна концентрации антител к *Treponema pallidum* в анализируемых образцах.

Реакцию останавливают добавлением стоп-реагента. Результаты ИФА регистрируют с

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность (ОП) в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – в диапазоне 620–655 нм. Допустима регистрация результатов только с фильтром 450 нм.

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

- планшет разборный с иммобилизованными рекомбинантными антигенами *Treponema pallidum,* готовый к использованию – 2 шт.;
- положительный контрольный образец ($К^+$) на основе инактивированной сыворотки крови человека, содержащей антитела к *Treponema pallidum*, готовый к использованию – 1 фл., 0,5 мл;
- отрицательный контрольный образец ($К^–$) на основе инактивированной сыворотки крови человека, не содержащей антитела к *Treponema pallidum,* готовый к использованию – 1 фл., 0,5 мл;
- конъюгат (рекомбинантные антигены *Treponema pallidum*, меченные пероксидазой хрена), концентрат – 2 фл. по 1,5 мл;
- разводящий раствор (РР) – 2 фл. по 13 мл;
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 2 фл. по 28 мл;
- стоп-реагент – 1 фл., 21 мл;
- раствор тетраметилбензидина (раствор ТМБ), готовый к использованию – 2 фл. по 13 мл;

или

- тетраметилбензидин (ТМБ), концентрат – 1 фл., 1,5 мл;
- субстратный буферный раствор (СБР) – 2 фл. по 13 мл.

Принадлежности:

– плёнки для заклеивания планшета – 2 шт.;

– ванночки для реагентов – 2 шт.;

– наконечники для дозаторов на 2–200 мкл – 16 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ*

3.1. Результат качественного выявления набором суммарных антител к *Treponema pallidum* должен соответствовать требованиям стандартной панели предприятия образцов, содержащих антитела к *Treponema pallidum*, СПП 05-2-77, аттестованной ОБТК АО «Вектор-Бест»: **чувствительность** по образцам стандартной панели предприятия – 100%.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

3.2. Результат качественного выявления набором суммарных антител к *Treponema pallidum* должен соответствовать требованиям стандартной панели предприятия образцов, не содержащих антитела к *Treponema pallidum*, СПП 05-2-79, аттестованной ОБТК АО «Вектор-Бест»: **специфичность** по образцам стандартной панели предприятия – 100%.

3.3. Диагностическая чувствительность оценивалась при клинических исследованиях:

– 303 серопозитивных образцов сыворотки (плазмы) крови и составила 100% (интервал 99% - 100%, с доверительной вероятностью 90%);

– 20 серопозитивных образцов ликвора и составила 100% (интервал 86% - 100%, с доверительной вероятностью 90%).

3.4. Диагностическая специфичность оценивалась при клинических исследованиях:

– 282 серонегативных образцов сыворотки (плазмы) крови и составила 100% (интервал 99% - 100%, с доверительной вероятностью 90%);

– 40 серонегативных образцов ликвора и составила 100% (интервал 93% - 100%, с доверительной вероятностью 90%).

4. ТРЕБОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2б *(Приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).*

4.2. Все компоненты набора являются нетоксичными. Стоп-реагент обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента на кожу и слизистые необходимо промыть поражённый участок большим количеством проточной воды.

4.3. При работе с набором следует соблюдать требования СП 1.3.2322-08 от 21.02.08 и МУ-287-113 от 30.12.98.

4.4. При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются *(утилизируются)* в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами». Дезинфекцию наборов реагентов следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

– Спектрофотометр, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

в лунках планшета в двухволновом режиме: основной фильтр — 450 нм, референс-фильтр в диапазоне — 620–655 нм; допускается регистрация результатов только с фильтром 450 нм);

– термостат, поддерживающий температуру (37±1) °С;

– холодильник бытовой;

– дозаторы полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объёмом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 5 до 1000 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования *(погрешность не более 5%);*

– дозаторы полуавтоматические многоканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкостей от 5 мкл до 400 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования *(погрешность не более 5%);*

– промывочное устройство для планшетов;

– перчатки медицинские диагностические одноразовые;

– бумага фильтровальная лабораторная;

– цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 100 мл и 1000 мл;

– вода дистиллированная;

– дезинфицирующие средства.

Возможно использование автоматических ИФА-анализаторов открытого типа.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Для анализа можно использовать образцы сыворотки, плазмы *(полученной с использованием в качестве антикоагулянтов цитрата натрия, гепарина или ЭДТА)* крови и ликвора человека.

Допускается использование образцов, хранившихся при температуре (2–8) ºС не более 5 суток. Если необходимо более длительное хранение, образцы следует заморозить при температуре минус 18 °С и ниже. После размораживания образцы необходимо тщательно перемешать.

Инактивированные при 56 ºС образцы сыворотки крови также могут быть использованы для анализа.

Образцы, содержащие взвешенные частицы, могут дать неправильный результат. Такие образцы перед использованием следует центрифугировать при 3000 об/мин 10–15 минут.

Нельзя использовать образцы с признаками микробной контаминации и содержащие эритроциты. Образцы с ярко выраженным гемолизом, гиперлипидемией или подвергавшиеся многократному замораживанию и оттаиванию могут давать неправильные результаты.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

7. ПОДГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

7.1**. ВНИМАНИЕ! Тщательное соблюдение описанных ниже требований позволит избежать искажения результатов ИФА.**

- Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать при температуре (18–25) °С не менее 30 минут.
- Для приготовления растворов и проведения ИФА следует использовать чистую мерную посуду и автоматические дозаторы с погрешностью измерения объёмов не более 5%.
- После отбора необходимого количества стрипов оставшиеся сразу упаковать в пакет с осушителем. Упакованные стрипы, плотно закрытые флаконы с исходными компонентами хранить при температуре (2–8) °С в течение 12 месяцев в пределах срока годности набора.
- Растворы конъюгата и ТМБ в рабочих разведениях готовить непосредственно перед использованием. Необходимо исключить воздействие прямого света на раствор ТМБ.
- При промывке лунки стрипа *(планшета*) заполнять полностью. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 секунд.
- При использовании автоматического или ручного промывателя необходимо следить за состоянием ёмкости для промывочного раствора и соединительных шлангов: в них не должно быть «заростов». Не оставлять промывочное устройство для планшетов на ночь заполненным водой или промывочным раствором. В конце рабочего дня промыть дистиллированной водой. Обязательно, как минимум, раз в неделю промыть всю систему промывочного устройства с «замачиванием» 70% спиртом или другим раствором, рекомендованным инструкцией к прибору.
- Не допускать высыхания лунок планшета между отдельными операциями.
- При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических *компонентов (ФСБ-Т×25, СБР, концентрат ТМБ, раствор ТМБ, стоп-реагент)*, которые взаимозаменяемы в наборах АО «Вектор-Бест».
- Наконечники для дозаторов следует использовать **однократно**.
- Для дезинфекции посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, рекомендуем использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС (*четвертичных аммониевых соединений*), спиртов, третичных аминов.
- Посуду *(ванночки),* используемые для работы с остальными реагентами, не обрабатывать

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

дезинфицирующими растворами и моющими средствами, т.к. они не содержат инфекционного агента. В случае повторного использования посуду *(ванночки)* промыть проточной водой, тщательно и многократно ополаскивая дистиллированной водой.

- Посуду *(ванночки),* используемые для работы с ТМБ, в случае повторного использования, сразу после работы промыть 50% раствором этилового спирта, а затем дистиллированной водой.
- Дозаторы и рабочие поверхности обрабатывать только 70% раствором этилового спирта. Не использовать перекись водорода, хлорамин и т.д.

7.2. Приготовление реагентов

7.2.1. Промывочный раствор

Тщательно перемешать содержимое флакона с ФСБ-Т×25. При выпадении осадка солей в концентрате прогреть его перед разведением при температуре (30–40) °С до полного растворения осадка.

Содержимое 1 флакона с ФСБ-Т×25 развести дистиллированной водой до **700** мл. Тщательно перемешать.

При дробном использовании планшета промывочный раствор готовить в соответствии с таблицей расхода реагентов *(см. таблицу)* в зависимости от числа используемых стрипов.

Хранение: промывочный раствор хранить при температуре (2–8) °С не более 1 месяца или при температуре (18–25) °С не более 7 суток.

Таблица расхода реагентов

	Количество используемых стрипов											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Промывочный раствор												
ФСБ-Т×25, мл	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24
Дистиллированная вода, мл	до 50	до 100	до 150	до 200	до 250	до 300	до 350	до 400	до 450	до 500	до 550	до 600
Раствор конъюгата в рабочем разведении												
Конъюгат, концентрат мкл	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000	1100	1200
РР, мл	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0
Раствор ТМБ в рабочем разведении												
ТМБ, концентрат мкл	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500	550	600
СБР, мл	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

7.2.2. Контрольные образцы

$К^+$ и $К^-$ готовы к использованию и не требуют дополнительного разведения.

Хранение: после вскрытия флаконов контрольные образцы хранить в плотно закрытых флаконах при температуре (2–8) °С в течение 12 месяцев в пределах срока годности набора.

7.2.3. Приготовление раствора конъюгата в рабочем разведении

Внимание! *Для работы с конъюгатом рекомендуем использовать одноразовые наконечники для дозаторов и ванночку для реагентов. Раствор конъюгата в рабочем разведении готовить непосредственно перед использованием!*

Перемешать, не допуская вспенивания, содержимое флакона с РР, добавить к нему **1300 мкл раствора конъюгата** и перемешать, также не допуская вспенивания. Налитый в ванночку раствор должен иметь равномерное окрашивание.

При дробном использовании планшета раствор конъюгата в рабочем разведении готовить в пластиковой ванночке для реагентов, в соответствии с таблицей расхода реагентов *(см. таблицу)* в зависимости от числа используемых стрипов.

Хранение: раствор конъюгата в рабочем разведении стабилен при температуре (18–25) °С до 10 часов.

7.2.4. При комплектации набора концентратом ТМБ и СБР:

Приготовление раствора ТМБ в рабочем разведении

Внимание! *Раствор ТМБ в рабочем разведении готовить непосредственно перед использованием. Рекомендуем выделить наконечники для дозаторов и ванночку для реагентов, которые использовать* ***только*** *для работы с ТМБ.*

Во флакон с СБР внести **650 мкл ТМБ** и тщательно перемешать, не допуская вспенивания.

При дробном использовании планшета раствор ТМБ в рабочем разведении готовить в пластиковой ванночке для реагентов, в соответствии с таблицей расхода реагентов *(см. таблицу)* в зависимости от числа используемых стрипов.

Внимание! *Допустимо голубое окрашивание раствора ТМБ в рабочем разведении, которое не оказывает влияния на результаты анализа.*

Хранение: раствор ТМБ в рабочем разведении стабилен в защищённом от света месте при температуре (18–25) °С до 10 часов.

При комплектации набора раствором ТМБ:

Раствор ТМБ готов к использованию.

Хранение: после вскрытия флакона раствор ТМБ хранить в защищённом от света

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

месте при температуре (2–8) °С в течение 12 месяцев в пределах срока годности набора.

7.2.5. Стоп-реагент готов к использованию.

Хранение: после вскрытия флакона стоп-реагент хранить при температуре (2–8) °С в течение 12 месяцев в пределах срока годности набора.

8. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Внимание! *Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать при температуре (18–25) °С не менее 30 минут.*

8.1. Приготовить промывочный раствор *(п. 7.2.1)* и раствор конъюгата в рабочем разведении *(п. 7.2.3).*

8.2. Подготовить необходимое количество стрипов к работе. Оставшиеся – сразу упаковать во избежание губительного воздействия влаги. Для этого стрипы поместить в цефленовый пакет с влагопоглотителем, тщательно закрыть пакет пластиковой застёжкой. Упакованные таким образом стрипы хранить при температуре (2–8) °С в течение 12 месяцев в пределах срока годности набора.

8.3. Во все лунки стрипов внести по **120 мкл раствора конъюгата в рабочем разведении**.

Внимание! *Для внесения раствора конъюгата использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.*

Затем в одну лунку внести **10 мкл К$^{+}$**, в две другие лунки – по **10 мкл К$^{-}$**, в остальные лунки – по **10 мкл цельных тестируемых образцов сывороток** *(плазмы)* или ликвора. Внесение контрольных и исследуемых образцов должно сопровождаться тщательным перемешиванием путём пипетирования до достижения равномерного окрашивания раствора в лунке, не допуская вспенивания, или с использованием орбитального шейкера *(700 об/мин в течение 1 минуты).*

Примечание: Возможен спектрофотометрический контроль внесения исследуемых образцов сыворотки и плазмы в лунки с конъюгатом: при длине волны 620 нм ОП в каждой из лунок с внесенным образцом должна быть больше 0,3.

8.4. Планшет заклеить плёнкой и инкубировать при температуре (37±1) °С **60 минут**.

8.5. По окончании инкубации снять плёнку и поместить её в сосуд с дезинфицирующим раствором. С помощью промывочного устройства промыть лунки планшета 5 раз промывочным раствором *(см. п. 7.2.1),* чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок каждого стрипа. В каждую лунку вносить 400 мкл жидкости в процессе каждого цикла промывки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 секунд. Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого их заполнения. По окончании

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

промывки остатки влаги из лунок тщательно удалить, постукивая перевёрнутым планшетом по фильтровальной бумаге или использовать крестообразную аспирацию жидкости из лунок *(режим «crosswise» или «cross aspiration» в автоматических промывающих устройствах).*

8.6. В случае комплектации набора концентратом ТМБ и СБР –

приготовить раствор ТМБ в рабочем разведении *(см. п. 7.2.4)*.

Во все лунки планшета внести по **100 мкл раствора ТМБ**.

Внимание! *Для внесения раствора ТМБ использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники.*

8.7. Планшет инкубировать при температуре (18–25) °С в защищённом от света месте **25 минут**.

8.8. Остановить реакцию добавлением во все лунки по **100 мкл стоп-реагента** и через 2–3 минуты измерить ОП.

Следует избегать попадания стоп-реагента на одежду и открытые участки тела. При попадании – промыть большим количеством воды.

8.9. Результаты ИФА регистрировать с помощью спектрофотометра, измеряя ОП в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – в диапазоне 620–655 нм. Допускается регистрация результатов только с фильтром 450 нм.

Выведение спектрофотометра на нулевой уровень *(бланк)* осуществлять по воздуху.

9. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

Результаты исследований учитывать только при соблюдении следующих условий:

– значения ОП в лунках с $К^-$ не более 0,2;

– значение ОП в лунке с $К^+$ не менее 0,8.

Исследуемый образец расценивать как положительный, если соответствующее ему значение ОП превышает или равно величине $ОП_{крит}$, которую вычисляют по формуле:

$$\mathbf{ОП_{крит} = ОП_{ср}\ К^- + 0{,}2,}$$

где $ОП_{ср}\ К^-$ — среднее значение ОП для $К^-$.

Если ОП $К^-$ и $ОП_{иссл.обр.}$ имеют отрицательные значения, при расчёте $ОП_{крит}$ и анализе результатов считать их равными нулю.

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

$$\mathbf{КП = ОП_{обр.} / ОП_{крит}}$$

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

10.1. Транспортировать изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

вида, при температуре (2–8) °С. Допускается транспортирование при температуре до 25 °С не более 10 суток.

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре (2–8) °С в течение всего срока годности в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

10.3. Срок годности набора реагентов – 24 месяца со дня выпуска. Не допускается применение наборов по истечении срока их годности.

10.4. Дробное использование набора может быть реализовано в течение 12 месяцев в пределах срока годности. В случае дробного использования набора:

– неиспользованные стрипы хранить в плотно закрытом пакете при температуре (2–8) °С в течение 12 месяцев в пределах срока годности набора;

– $К^+$ и $К^-$, концентрат конъюгата, ФСБ-Т×25, СБР, концентрат ТМБ, раствор ТМБ, РР и стоп-реагент после вскрытия флаконов хранить в плотно закрытых флаконах при температуре (2–8) °С в течение 12 месяцев в пределах срока годности набора;

– промывочный раствор можно хранить при температуре (2–8) °С не более 1 месяца или при температуре (18–25) °С не более 7 суток;

– раствор ТМБ в рабочем разведении стабилен в защищённом от света месте при температуре (18–25) °С до 10 часов;

– раствор конъюгата в рабочем разведении стабилен при температуре (18–25) °С до 10 часов.

10.5. При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов *(ФСБ-Т×25, стоп-реагент, концентрат ТМБ, СБР, раствор ТМБ)*, которые взаимозаменяемы в наборах АО «Вектор-Бест».

Нельзя использовать реагенты из наборов других фирм-производителей.

10.6. Для получения надёжных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

11. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

11.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

11.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения,

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

11.3. Производитель обязуется за свой счёт заменить изделие, технические и функциональные характеристики *(потребительские свойства)* которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

По вопросам, касающимся качества набора «**РекомбиБест антипаллидум-суммарные антитела**», обращаться в **АО «Вектор-Бест»** по адресу:

630559, Новосибирская обл., р.п. Кольцово, Научно-производственная зона, корп.36, комн.211,

тел. (383) 227-67-64, тел./факс (383) 363-13-46.

E-mail: *vbobtk@vector-best.ru*

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный директор
АО «Вектор-Бест»
_____М.Д. Хусаинов
«26» ____05____ 2020 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для иммуноферментного выявления суммарных антител к *Treponema pallidum*
«РекомбиБест антипаллидум-суммарные антитела»
(комплект 4)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для иммуноферментного выявления суммарных антител к *Treponema pallidum* **«РекомбиБест антипаллидум-суммарные антитела»** *(далее по тексту – набор)* предназначен для иммуноферментного выявления суммарных антител к *Treponema pallidum* в сыворотке *(плазме)* крови и ликворе человека.

1.2. Набор может быть использован для массового скрининга крови на станциях переливания крови и для диагностики сифилиса как составная часть комплекса серологических реакций.

1.3. **Комплект 4** набора рассчитан на проведение 480 анализов, включая контроли *(по 3 лунки в каждой постановке)*. Предусмотрено дробное использование набора: возможно 10 независимых постановок.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

Метод определения основан на одностадийном «сэндвич» – варианте твёрдофазного иммуноферментного анализа с применением рекомбинантных антигенов. При наличии в исследуемых образцах антител к *Treponema pallidum* они связываются с рекомбинантными антигенами, иммобилизованными на поверхности лунок планшета и входящими в состав конъюгата. Во время инкубации с раствором тетраметилбензидина происходит окрашивание раствора в лунках, содержащих образовавшиеся комплексы «антиген-антитело». Степень окраски пропорциональна концентрации антител к *Treponema pallidum* в анализируемых образцах.

Реакцию останавливают добавлением стоп-реагента. Результаты ИФА регистрируют с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность (ОП) в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – в диапазоне 620–655 нм. Допустима регистра-

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ция результатов только с фильтром 450 нм.

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

- планшет разборный с иммобилизованными рекомбинантными антигенами *Treponema pallidum,* готовый к использованию – 5 шт.;
- положительный контрольный образец ($К^+$) на основе инактивированной сыворотки крови человека, содержащей антитела к *Treponema pallidum*, готовый к использованию – 1 фл., 1 мл;
- отрицательный контрольный образец ($К^-$) на основе инактивированной сыворотки крови человека, не содержащей антитела к *Treponema pallidum*, готовый к использованию – 1 фл., 1 мл;
- конъюгат *(рекомбинантные антигены Treponema pallidum, меченные пероксидазой хрена),* концентрат – 3 фл. по 2,5 мл или 1 фл., 8 мл;
- разводящий раствор (РР) – 3 фл. по 24 мл или 1 фл., 80 мл;
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 1 фл., 100 мл;
- стоп-реагент – 3 фл. по 21 мл или 1 фл., 70 мл;
- раствор тетраметилбензидина (раствор ТМБ), готовый к использованию – 3 фл. по 20 мл или 1 фл., 70 мл;

или

- тетраметилбензидин (ТМБ), концентрат – 3 фл. по 1,5 мл или 1 фл., 3,5 мл;
- субстратный буферный раствор (СБР) – 3 фл. по 20 мл или 1 фл., 70 мл.

Принадлежности:

– плёнки для заклеивания планшета – 6 шт.;

– ванночки для реагентов – 2 шт.;

– наконечники для дозаторов на 2–200 мкл – 16 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ*

3.1. Результат качественного выявления набором суммарных антител к *Treponema pallidum* должен соответствовать требованиям стандартной панели предприятия образцов, содержащих антитела к *Treponema pallidum*, СПП 05-2-77, аттестованной ОБТК АО «Вектор-Бест»: **чувствительность** по образцам стандартной панели предприятия – 100%.

3.2. Результат качественного выявления набором суммарных антител к *Treponema pallidum* должен соответствовать требованиям стандартной панели предприятия образцов, не

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

содержащих антитела к *Treponema pallidum,* СПП 05-2-79, аттестованной ОБТК АО «Вектор-Бест»: **специфичность** по образцам стандартной панели предприятия – 100%.

3.3. Диагностическая чувствительность оценивалась при клинических исследованиях:

– 303 серопозитивных образцов сыворотки (плазмы) крови и составила 100% (интервал 99% - 100%, с доверительной вероятностью 90%);

– 20 серопозитивных образцов ликвора и составила 100% (интервал 86% - 100%, с доверительной вероятностью 90%).

3.4. Диагностическая специфичность оценивалась при клинических исследованиях:

– 282 серонегативных образцов сыворотки (плазмы) крови и составила 100% (интервал 99% - 100%, с доверительной вероятностью 90%);

– 40 серонегативных образцов ликвора и составила 100% (интервал 93% - 100%, с доверительной вероятностью 90%).

4. ТРЕБОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2б *(Приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).*

4.2. Все компоненты набора являются нетоксичными. Стоп-реагент обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента на кожу и слизистые необходимо промыть поражённый участок большим количеством проточной воды.

4.3. При работе с набором следует соблюдать требования СП 1.3.2322-08 от 21.02.08 и МУ-287-113 от 30.12.98.

4.4. При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются *(утилизируются)* в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами». Дезинфекцию наборов реагентов следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

– Спектрофотометр, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках планшета в двухволновом режиме: основной фильтр — 450 нм, референс-фильтр в диапазоне — 620–655 нм; допускается регистрация результатов только с фильтром 450 нм*;*

– термостат, поддерживающий температуру (37±1) °С;

– холодильник бытовой;

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

– дозаторы полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объёмом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 5 до 1000 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования *(погрешность не более 5%);*

– дозаторы полуавтоматические многоканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкостей от 5 мкл до 400 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования *(погрешность не более 5%);*

– промывочное устройство для планшетов;

– перчатки медицинские диагностические одноразовые;

– бумага фильтровальная лабораторная;

– цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 1000 мл;

– вода дистиллированная;

– дезинфицирующие средства.

Возможно использование автоматических ИФА-анализаторов открытого типа.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Для анализа можно использовать образцы сыворотки, плазмы *(полученной с использованием в качестве антикоагулянтов цитрата натрия, гепарина или ЭДТА)* крови и ликвора человека.

Допускается использование образцов, хранившихся при температуре (2–8) °С не более 5 суток. Если необходимо более длительное хранение, образцы следует заморозить при температуре минус 18 °С и ниже. После размораживания образцы необходимо тщательно перемешать.

Инактивированные при 56 ºС образцы сыворотки крови также могут быть использованы для анализа.

Образцы, содержащие взвешенные частицы, могут дать неправильный результат. Такие образцы перед использованием следует центрифугировать при 3000 об/мин 10–15 минут.

Нельзя использовать образцы с признаками микробной контаминации и содержащие эритроциты. Образцы с ярко выраженным гемолизом, гиперлипидемией или подвергавшиеся многократному замораживанию и оттаиванию могут давать неправильные результаты.

7. ПОДГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

7.1**. ВНИМАНИЕ! Тщательное соблюдение описанных ниже требований позволит избежать искажения результатов ИФА.**

– Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать при температуре (18–25) °С не менее 30 минут.

– Для приготовления растворов и проведения ИФА следует использовать чистую мерную

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

посуду и автоматические дозаторы с погрешностью измерения объёмов не более 5%.

- После отбора необходимого количества стрипов оставшиеся сразу упаковать в пакет с осушителем. Упакованные стрипы, плотно закрытые флаконы с исходными компонентами хранить при температуре (2–8) °С в течение 12 месяцев в пределах срока годности набора.
- Растворы конъюгата и ТМБ в рабочих разведениях готовить непосредственно перед использованием. Необходимо исключить воздействие прямого света на раствор ТМБ.
- При промывке лунки стрипа *(планшета*) заполнять полностью. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 секунд.
- При использовании автоматического или ручного промывателя необходимо следить за состоянием ёмкости для промывочного раствора и соединительных шлангов: в них не должно быть «заростов». Не оставлять промывочное устройство для планшетов на ночь заполненным водой или промывочным раствором. В конце рабочего дня промыть дистиллированной водой. Обязательно, как минимум, раз в неделю промыть всю систему промывочного устройства с «замачиванием» 70% спиртом или другим раствором, рекомендованным инструкцией к прибору.
- Не допускать высыхания лунок планшета между отдельными операциями.
- При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов *(ФСБ-Т×25, СБР, концентрат ТМБ, раствор ТМБ, стоп-реагент),* которые взаимозаменяемы в наборах АО «Вектор-Бест».
- Наконечники для дозаторов следует использовать **однократно**.
- Для дезинфекции посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, рекомендуем использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС (*четвертичных аммониевых соединений*), спиртов, третичных аминов.
- Посуду *(ванночки)*, используемые для работы с остальными реагентами, не обрабатывать дезинфицирующими растворами и моющими средствами, т.к. они не содержат инфекционного агента. В случае повторного использования посуду *(ванночки)* промыть проточной водой, тщательно и многократно ополаскивая дистиллированной водой.
- Посуду *(ванночки)*, используемые для работы с ТМБ, в случае повторного использования, сразу после работы промыть 50% раствором этилового спирта, а затем дистиллированной водой.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

– Дозаторы и рабочие поверхности обрабатывать только 70% раствором этилового спирта. Не использовать перекись водорода, хлорамин и т.д.

7.2. Приготовление реагентов

7.2.1. Промывочный раствор

Тщательно перемешать содержимое флакона с ФСБ-Т×25. При выпадении осадка солей в концентрате прогреть его перед разведением при температуре (30–40) °С до полного растворения осадка.

ФСБ-Т×25 развести дистиллированной водой в 25 раз (из расчёта на 1 планшет: 20 мл ФСБ-Т×25 довести до 500 мл дистиллированной водой или содержимое одного флакона (100 мл) – до 2,5 л).

Хранение: промывочный раствор хранить при температуре (2–8) °С не более 1 месяца или при температуре (18–25) °С не более 7 суток.

7.2.2. Контрольные образцы

$К^+$ и $К^-$ готовы к использованию и не требуют дополнительного разведения.

Хранение: после вскрытия флаконов контрольные образцы хранить в плотно закрытых флаконах при температуре (2–8) °С в течение 12 месяцев в пределах срока годности набора.

7.2.3. Приготовление раствора конъюгата в рабочем разведении

Внимание! *Для работы с конъюгатом рекомендуем использовать одноразовые наконечники для дозаторов и ванночку для реагентов. Раствор конъюгата в рабочем разведении готовить непосредственно перед использованием!*

Развести концентрат конъюгата 1:10 в РР *(например: 1,2 мл концентрата конъюгата в 12 мл РР, этого количества раствора конъюгата достаточно на 12 стрипов)*. Тщательно перемешать до получения равномерного окрашивания, не допуская вспенивания.

Хранение: раствор конъюгата в рабочем разведении стабилен при температуре (18–25) °С до 10 часов.

7.2.4. При комплектации набора концентратом ТМБ и СБР:

Приготовление раствора ТМБ в рабочем разведении

Внимание! *Раствор ТМБ в рабочем разведении готовить непосредственно перед использованием. Рекомендуем выделить наконечники для дозаторов и ванночку для реагентов, которые использовать* ***только*** *для работы с ТМБ.*

Развести концентрат ТМБ 1:20 в СБР *(например: 600 мкл концентрата ТМБ в 12 мл СБР, этого количества раствора ТМБ достаточно на 12 стрипов)*. Тщательно перемешать.

Внимание! *Допустимо голубое окрашивание раствора ТМБ в рабочем разведении, ко-*

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

торое не оказывает влияния на результаты анализа.

Хранение: раствор ТМБ в рабочем разведении стабилен в защищённом от света месте при температуре (18–25) °С до 10 часов.

При комплектации набора раствором ТМБ:

Раствор ТМБ готов к использованию.

Хранение: после вскрытия флакона раствор ТМБ хранить в защищенном от света месте при температуре (2–8) °С в течение 12 месяцев в пределах срока годности набора.

7.2.5. Стоп-реагент готов к использованию.

Хранение: после вскрытия флакона стоп-реагент при температуре (2–8) °С в течение 12 месяцев в пределах срока годности набора.

8. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Внимание! *Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать при температуре (18–25) °С не менее 30 минут.*

8.1. Приготовить промывочный раствор *(п. 7.2.1)* и раствор конъюгата в рабочем разведении *(п. 7.2.3)*.

8.2. Подготовить необходимое количество стрипов к работе. Оставшиеся – сразу упаковать во избежание губительного воздействия влаги. Для этого стрипы поместить в цефленовый пакет с влагопоглотителем, тщательно закрыть пакет пластиковой застёжкой. Упакованные таким образом стрипы хранить при температуре (2–8) °С в течение 12 месяцев в пределах срока годности набора.

8.3. Во все лунки стрипов внести по **120 мкл раствора конъюгата в рабочем разведении**.

Внимание! *Для внесения раствора конъюгата использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.*

Затем в одну лунку внести **10 мкл К$^{+}$**, в две другие лунки – по **10 мкл К$^{-}$**, в остальные лунки – по **10 мкл цельных тестируемых образцов сывороток** *(плазмы)* или ликвора. Внесение контрольных и исследуемых образцов должно сопровождаться тщательным перемешиванием путем пипетирования до достижения равномерного окрашивания раствора в лунке, не допуская вспенивания, или с использованием орбитального шейкера *(700 об/мин в течение 1 минуты).*

Примечание: Возможен спектрофотометрический контроль внесения исследуемых образцов сыворотки и плазмы в лунки с конъюгатом: при длине волны 620 нм ОП в каждой из лунок с внесённым образцом должна быть больше 0,3.

8.4. Стрипы заклеить плёнкой и инкубировать при температуре (37±1) °С **60 минут**.

8.5. По окончании инкубации снять плёнку и поместить её в сосуд с дезинфицирующим раствором. С помощью промывочного устройства промыть лунки планшета 5 раз промывоч-

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ным раствором *(см. п. 7.2.1)*, чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок каждого стрипа. В каждую лунку вносить 400 мкл жидкости в процессе каждого цикла промывки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 секунд. Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого их заполнения. По окончании промывки остатки влаги из лунок тщательно удалить, постукивая перевёрнутым планшетом по фильтровальной бумаге или использовать крестообразную аспирацию жидкости из лунок *(режим «crosswise» или «cross aspiration» в автоматических промывающих устройствах)*.

8.6. В случае комплектации набора концентратом ТМБ и СБР –

приготовить раствор ТМБ в рабочем разведении *(п. 7.2.4).*

Во все лунки внести по **100 мкл раствора ТМБ.**

Внимание! *Для внесения раствора ТМБ использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники*.

8.7. Стрипы инкубировать при температуре (18–25) °С в защищённом от света месте **25 минут**.

8.8. Остановить реакцию добавлением во все лунки по **100 мкл стоп-реагента** и через 2–3 минуты измерить ОП.

Следует избегать попадания стоп-реагента на одежду и открытые участки тела. При попадании – промыть большим количеством воды.

8.9. Результаты ИФА регистрировать с помощью спектрофотометра, измеряя ОП в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – в диапазоне 620–655 нм. Допускается регистрация результатов только с фильтром 450 нм. Выведение спектрофотометра на нулевой уровень *(бланк)* осуществлять по воздуху.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

Результаты исследований учитывать только при соблюдении следующих условий:

– значения ОП в лунках с $К^-$ не более 0,2;

– значение ОП в лунке с $К^+$ не менее 0,8.

Исследуемый образец расценивать как положительный, если соответствующее ему значение ОП превышает или равно величине $ОП_{крит}$, которую вычисляют по формуле:

$$\mathbf{ОП_{крит} = ОП_{ср}\, К^- + 0{,}2,}$$

где $ОП_{ср}\, К^-$ — среднее значение ОП для $К^-$.

Если ОП $К^-$ и $ОП_{иссл.обр.}$ имеют отрицательные значения, при расчёте $ОП_{крит}$ и анализе результатов считать их равными нулю.

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

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

$$КП = ОП_{обр.} / ОП_{крит}$$

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

10.1. Транспортировать изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, при температуре 2–8) °С. Допускается транспортирование при температуре до 25 °С не более 10 суток.

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре (2–8) °С в течение всего срока годности в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

10.3. Срок годности набора реагентов – 24 месяца со дня выпуска. Не допускается применение наборов по истечении срока их годности.

10.4. Дробное использование набора может быть реализовано в течение 12 месяцев в пределах срока годности. В случае дробного использования набора:

– неиспользованные стрипы хранить в плотно закрытом пакете при температуре (2–8) °С в течение 12 месяцев в пределах срока годности набора;

– $К^+$ и $К^-$, концентрат конъюгата, ФСБ-Т×25, СБР, концентрат ТМБ, раствор ТМБ, РР и стоп-реагент после вскрытия флаконов хранить в плотно закрытых флаконах при температуре (2–8) °С в течение 12 месяцев в пределах срока годности набора;

– промывочный раствор можно хранить при температуре (2–8) °С не более 1 месяца или при температуре (18–25) °С не более 7 суток;

– раствор ТМБ в рабочем разведении стабилен в защищенном от света месте при температуре (18–25) °С до 10 часов;

– раствор конъюгата в рабочем разведении стабилен при температуре (18–25) °С до 10 часов.

10.5. При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов *(ФСБ-Т×25, стоп-реагент, концентрат ТМБ, СБР, раствор ТМБ)*, которые взаимозаменяемы в наборах АО «Вектор-Бест».

Нельзя использовать реагенты из наборов других фирм-производителей.

10.6. Для получения надёжных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

11. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

11.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

11.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

11.3. Производитель обязуется за свой счёт заменить изделие, технические и функциональные характеристики *(потребительские свойства)* которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

По вопросам, касающимся качества набора **«РекомбиБест антипаллидум-суммарные антитела»**, обращаться в **АО «Вектор-Бест»** по адресу:

630559, Новосибирская обл., р.п. Кольцово, Научно-производственная зона, корп.36, комн.211,

тел. (383) 227-67-64, тел./факс (383) 363-13-46.

E-mail: *vbobtk@vector-best.ru*

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru