УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор ЗАО "ЭКОлаб"

_____ В.Ю.Борисов
"13" 04 2018 г.

ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов "Антипаллидум-Флюороген-IgM/IgG "
Диагностикум для выявления антител классов М и G к *Treponema pallidum* в реакции иммунофлюоресценции

Регистрационное удостоверение № РЗН 2013/247от "23" июля 2018 г.

НАЗНАЧЕНИЕ

Выявление в реакции иммунофлюоресценции (РИФ) антител классов М и G к *Treponema pallidum* в сыворотке (плазме) крови (модификации $РИФ_{абс}$ и $РИФ_{200}$) и спинномозговой жидкости человека (модификация $РИФ_{ц}$). Рекомендуется для подтверждения результатов отборочных тестов и специфической серодиагностики сифилиса.

СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

Набор выпускается в двух базовых вариантах комплектации:

комплект № 1:

"Антипаллидум-Флюороген IgM", Диагностикум для выявления антител класса М к *Treponema pallidum* в реакции иммунофлюоресценции,

комплект № 2:

"Антипаллидум-Флюороген IgG", Диагностикум для выявления антител класса G к *Treponema pallidum* в реакции иммунофлюоресценции.

		компл. № 1	компл. № 2
Антиген *Treponema pallidum* на стекле предметном	инактивированные *Treponema pallidum* (штамм Nicols), фиксированные в лунках предметных стекол	10 шт.	10 шт.
ФИТЦ-конъюгат-IgM	козьи антитела к IgM человека, меченные флюоресцеин-5-изотиоционатом (ФИТЦ); прозрачная жидкость с желтоватым оттенком или пористая аморфная масса белого или желтоватого цвета, после восстановления - прозрачная жидкость с желтоватым оттенком	2,8 мл в 1 фл или по 1,4 мл в 2 фл.	-
ФИТЦ-конъюгат-IgG	козьи антитела к IgG человека, меченные флюоресцеин-5-изотиоционатом (ФИТЦ); прозрачная жидкость с желтоватым оттенком или пористая аморфная масса белого или желтоватого цвета, после восстановления - прозрачная жидкость с желтоватым оттенком	-	2,8 мл в 1 фл или по 1,4 мл в 2 фл.
Контрольный положительный образец ($К^+$)	сыворотка крови человека, содержащая антитела класса М к *Treponema pallidum*, инактивированная; прозрачная бесцветная или слабо желтого цвета жидкость	0,3 мл в 1 фл.	-

КОПИЯ ВЕРНА
Борисов В.Ю.
Ген. директор ЗАО "ЭКОлаб"

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

	сыворотка крови человека, содержащая антитела класса G к *Treponema pallidum*, инактивированная; прозрачная бесцветная или слабо желтого цвета жидкость	-	0,5 мл в 1 фл.
Контрольный слабоположительный образец ($К^{+}_{слаб}$)	сыворотка крови человека, содержащая антитела класса G к *Treponema pallidum* в более низком титре, инактивированная; прозрачная бесцветная или слабо желтого цвета жидкость	-	0,5 мл в 1 фл.
Контрольный отрицательный образец ($К^{-}$)	сыворотка крови человека, не содержащая антитела к *Treponema pallidum*, инактивированная; прозрачная бесцветная или слабо желтого цвета жидкость	0,3 мл в 1 фл.	-
Контрольный неспецифический образец ($К_{неспц}$)	сыворотка крови человека, не содержащая антитела к *Treponema pallidum*, но содержащая антитела к непатогенным трепонемам (штамм Рейтера и др.), инактивированная; прозрачная бесцветная или слабо желтого цвета жидкость	-	0,5 мл в 1 фл.
РФ-сорбент	козьи антитела к IgG человека - прозрачная жидкость с желтоватым оттенком или пористая аморфная масса белого или желтоватого цвета, после восстановления – мутная, бесцветная жидкость	5,5 мл в 1 фл. или по 2,8 мл в 2 фл.	-
Ультрасорбент	лиофилизированный солевой экстракт из культуральных бледных трепонем (штаммы V, VII, VIII, IX и Рейтера), дезинтегрированных ультразвуком; пористая аморфная масса светло-серого цвета, после восстановления – мутная бесцветная жидкость	10 мл в 1 фл.	5,0 мл в 1 фл.
Разводящий буферный раствор (РБР)	прозрачная бесцветная жидкость	12,0 мл в 1 фл	20 мл в 1 фл.
Монтирующая жидкость	прозрачная бесцветная вязкая жидкость	2,0 мл в 1 фл.	2,0 мл в 1 фл.
Концентрат отмывающего раствора [(ОР)к]	прозрачная, слегка опалесцирующая жидкость, возможно выпадение осадка солей белого цвета, растворяющегося при температуре 37 ^{0}С в течение 30 мин	80 мл в 1 фл. или по 40 мл в 2 фл.	80 мл в 1 фл. или по 40 мл в 2 фл.

Комплект №1 может быть дополнительно укомплектован вспомогательным планшетом для предварительного разведения образцов (1 шт).

Компоненты набора упакованы в коробку, в коробку вложена инструкция по применению (отдельная для каждого комплекта).

Запрещается использование предметных стекол с антигеном, контрольных образцов, ФИТЦ- конъюгата, ультрасорбента, РФ-сорбента из разных серий наборов. Остальные реагенты могут быть использованы для всех постановок РИФ.

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

ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Все базовые варианты комплектации рассчитаны на исследование 100 образцов, включая контрольные (на контрольные образцы используется 2 лунки для комплекта № 1

КОПИЯ ВЕРНА
Борисов В.Ю
Ген. директор ЗАО «ЭКОЛАБ»
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

или 4 лунки – для комплекта № 2). Возможно проведение раздельных исследований с использованием необходимого количества предметных стекол:

Комплект № 1

Число предметных стекол	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Число иссл. обр.	1-8	9-18	19-28	29-38	39-48	49-58	59-68	69-78	79-88	89-98

Комплект № 2

Число предметных стекол	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Число иссл. обр.	1-6	7-16	17-26	27-36	37-46	47-56	57-66	67-76	77-86	87-96

ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

Используется метод непрямого иммунофлюоресцентного анализа.

При выявлении антител класса М к *Treponema pallidum* в модификации $РИФ_{абс}$ исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови предварительно обрабатываются ультрасорбентом (для удаления из образца групповых антител к непатогенным трепонемам и исключения ложноположительного результата за счет неспецифической перекрестной реакции).

Далее исследуемые образцы обрабатываются РФ-сорбентом для предотвращения возможного влияния ревматоидного фактора класса М и исключения вытеснения специфических антител класса М антителами класса G , что может привести к получению ложноположительного и соответственно ложноотрицательного результатов.

При выявлении антител класса G к *Treponema pallidum* в модификации $РИФ_{абс}$ исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови предварительно обрабатываются ультрасорбентом (для удаления из образца групповых антител к непатогенным трепонемам и исключения ложноположительного результата за счет неспецифической перекрестной реакции).

При наличии в предварительно исследуемых образцах антител к *Treponema pallidum* они связываются с антигеном на предметном стекле. После введения в реакционную смесь ФИТЦ-конъюгата образуются комплексы "антиген-антитело к *Treponema pallidum*-антитело конъюгата", наличие которых определяется по флюоресценции (желто-зеленое свечение *Treponema pallidum*) при просмотре стекол в люминесцентном микроскопе.

ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Исследуется сыворотка (плазма) крови человека и спинно-мозговая жидкость) человека.

Не допускается исследование образцов с признаками липемии, гемолиза и желтухи, образцов с микробной контаминацией, образцов, подвергшихся многократному замораживанию и оттаиванию, поскольку могут возникнуть неспецифичные результаты.

Допускается исследование гепаринизированных образцов и образцов с ЭДТА.

Допускается исследование сыворотки (плазмы) крови, инактивированной прогреванием при 56°С в течение 30 минут. Образцы СМЖ не инактивируют.

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

Перед исследованием образцы могут храниться до 7 сут при температуре от 2 до 8 °С и до 3 мес при температуре минус 20 °С.

При исследовании на антитела класса М разведенные образцы могут храниться при температуре от 2 до 8 °С не более 8 ч. При исследовании на антитела класса G разведенные образцы могут храниться при температуре от 2 до 8 °С не более 1 сут.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диагностическая специфичность при определении на образцах сывороток доноров крови, не содержащих иммуноглобулины классов М и G к Treponema pallidum -100%.

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

КОПИЯ ВЕРНА
Борисов В. Ю.
ЗАО «ЭКОЛАБ»

Диагностическая чувствительность при определении на клинических образцах сывороток больных сифилисом, содержащих иммуноглобулины класса M и G к Treponema pallidum 95 % и 100% соответственно.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И ОСНОВНЫЕ ПРАВИЛА РАБОТЫ С НАБОРОМ

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

СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

Оборудование и материалы

Цилиндр мерный.

Емкость Коплина или аналогичная для отмывки предметных стекол.

Микропробирки для разведения проб.

Покровные стекла (24х60 мм).

Микропипетки (10-1000мкм) с наконечниками.

Таймер.

Влажная камера (емкость с крышкой и с фильтровальной бумагой или марлей, смоченной водой, на дне).

Емкость полиэтиленовая для промывания с канюлей.

Термостат на 37°С

Микроскоп люминесцентный с ртутно-кварцевой лампой и иммерсионной системой, фильтрами СЗС-7 или СЗС-14, ФС-1, БС-8 и ЖС-18.

Вода очищенная (дистиллированная или деионизированная).

Спирт этиловый ректификованный (96 %).

Подготовка реагентов и материалов

Перед работой извлечь набор из холодильника, вскрыть упаковку и выдержать все реагенты перед проведением анализа не менее 30 мин при температуре от 20 до 25 °С.

Приготовление отмывающего раствора (ОР)

$(ОР)_к$ интенсивно перемешать (в случае выпадения осадка – прогреть при температуре 37 °С в течение 30 мин до полного растворения солей).

80 мл (ОР)к растворить в 1,92 л воды очищенной.

При дробном использовании набора развести концентрат водой очищенной в 25 раз, используя объемы концентрата и воды, указанные в табл. 1 для заданного числа предметных стекол.

Таблица 1

Число предм. стекол	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
(ОР)к, мл	8	16	24	32	40	48	56	64	72	80
Вода очищ. мл	до 200	до 400	до 600	до 800	до 1000	до 1200	до 1400	до 1600	до 1800	до 2000

Допускается хранение раствора в течение 14 сут при температуре от 2 до 8 °С и до 7 сут при температуре от 18 до 25 °С.

Растворение сухого РФ-сорбента (для комплекта № 1)

Содержимое флакона с лиофильно-высушенным РФ-сорбентом растворить в 2,8 мл воды очищенной.

Допускается хранение раствора в течение 1 мес при температуре от 2 до 8 °С.

Приготовление раствора ультрасорбента

*Для комплекта № 1:*Содержимое флакона растворить в 10,0 мл РБР.

Для комплекта № 2: Содержимое флакона растворить в 5,0 мл РБР

Допускается хранение раствора в течение 1 мес при температуре от 2 до 8 °С.

КОПИЯ ВЕРНА
Борисов В.Ю.
Ген. директор ЗАО «ЭКОлаб»
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Растворение сухих конъюгатов

Сухие ФИТЦ-конъюгаты-IgG/M растворить, добавив во флаконы по 1,4 мл воды очищенной.

Допускается хранение раствора в течение 1 мес при температуре от 2 до 8 °С.

Подготовка контрольных и исследуемых образцов

Комплект № 1

Развести исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови раствором ультрасорбента в соотношении 1:5 (10 мкл образца внести в 40 мкл раствора ультрасорбента). При комплектации набора планшетом для предварительного разведения рекомендуется разводить образцы в нем. Инкубировать 10-15 мин при комнатной температуре.

К полученному объему разведенного образца добавить 50 мкл РФ-сорбента и тщательно перемешать. Инкубировать в течение 15 мин при комнатной температуре. Для анализа использовать надосадочную жидкость (супернатант).

Комплект № 2

Развести:

исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови раствором ультрасорбента в 5 раз (15 мкл образца внести в 60 мкл раствора ультрасорбента);

контрольный положительный образец ($К^{+}$) в 5 раз РБР (15 мкл контрольного образца внести в 60 мкл РБР);

контрольный слабоположительный образец ($К^{+}_{слаб}$) раствором ультрасорбента в 5 раз (15 мкл контрольного образца внести в 60 мкл раствора ультрасорбента);

контрольный неспецифический образец ($К_{несп}$) в 5 раз РБР (15 мкл контрольного образца внести в 60 мкл РБР);

контрольный неспецифический образец ($К_{несп}$) раствором ультрасорбента в 5 раз (15 мкл контрольного образца внести в 60 мкл раствора ультрасорбента);

Внимание! *Образцы СМЖ (ликворы) не требуют разведения.*

Подготовка других реагентов

Комплект № 1

Контрольные образцы, РБР, монтирующая жидкость, жидкие коньюгат и РФ-сорбент готовы к применению.

Комплект № 2

РБР, жидкий коньюгат и монтирующая жидкость готовы к применению.

Проведение анализа

Внимание!

Во время работы со стеклами допускается держать их только за маркированный участок или края. Не допускайте прикосновения к лункам!

Непосредственно перед постановкой проверить целостность вакуумной упаковки (использование стекол с нарушенной вакуумной упаковкой не допускается!), извлечь необходимое число стекол и промаркировать их.

1. Выявление антител класса М (Комплект № 1)

Рекомендуемая схема постановки.

1 лунка – $К^{+}$ 2 лунка – $К^{-}$ 3-10 лунки – исследуемые образцы сыворотки (плазмы), обработанные ультрасорбентом и РФ-сорбентом.

1.1. Осторожно внести по 25 мкл контрольных и подготовленных исследуемых образцов в соответствующие лунки (полностью покрывая поверхность лунки и не касаясь кончиком пипетки поверхности стекла). Поместить предметные стекла во влажную камеру.

Инкубировать 45 мин при температуре 37оС.

Внимание! Не допускать пересыхания лунок во время инкубаций!

КОПИЯ ВЕРНА
ПОДПИСЬ
Борисов В.Ю.
Ген. директор ЗАО «ЭКОлаб»
ЭКОлаб

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

1.2. Осторожно, пользуясь емкостью для промывания с канюлей, один раз промыть предметное стекло ОР. Для предупреждения перекрестной контаминации избегайте промывания одной лунки через другую, промывайте, направляя струю ОР от средней линии предметного стекла последовательно вдоль обоих рядов и не фокусируя ее непосредственно на лунках.

После этого 3 раза промыть предметное стекло ОР в емкости Коплина или аналогичной, предназначенной для отмывки предметных стекол, выдерживая их в ОР при каждой промывке 5 мин и меняя ОР после каждой промывки. Предметное стекло при промывке должно быть полностью погружено в раствор.

Стряхнуть избыток ОР с предметного стекла, нижнюю сторону его осторожно протереть фильтровальной бумагой для удаления влаги.

1.3. На препараты нанести по 25 мкл ФИТЦ-конъюгата-IgM и вновь поместить стекла во влажную камеру.

Инкубировать 30 мин при температуре 37оС в темноте.

1.4. Промыть стекло, как указано в п. 1.2. Нанести на предметное стекло по средней линии (между лунками) монтирующую жидкость, затем сверху осторожно положить покровное стекло, избегая возникновения под ним пузырьков воздуха и убрать излишки монтирующей жидкости фильтровальной бумагой. Провести микроскопию препарата под люминесцентным микроскопом при общем увеличении 400х-1000х.

2. Выявление антител класса G (Комплект № 2)

Рекомендуемая схема постановки

1 лунка – $К^{+}$, разведенный в РБР (1:5)
2 лунка – $К^{+}_{слаб}$, разведенный в ультрасорбенте (1:5)
3 лунка – $К_{несп}$, разведенный в РБР (1:5)
4 лунка – $К_{несп}$, разведенный в ультрасорбенте (1:5)
5-10 лунки – исследуемые образцы сыворотки(плазмы), разведенные в ультрасорбенте (1:5)

2.1. Осторожно внести по 25 мкл подготовленных контрольных и исследуемых образцов в соответствующие лунки (полностью покрывая поверхность лунки и не касаясь кончиком пипетки поверхности стекла). Поместить предметное стекло во влажную камеру.

Инкубировать 30 мин при температуре 37°С.

Внимание! *Не допускать пересыхания лунок во время инкубаций!*

2.2. Осторожно, пользуясь емкостью для промывания с канюлей, один раз промыть предметное стекло ОР. Для предупреждения перекрестной контаминации избегайте промывания одной лунки через другую, промывайте, направляя струю ОР от средней линии предметного стекла последовательно вдоль обоих рядов и не фокусируя ее непосредственно на лунках.

После этого 3 раза промыть предметное стекло ОР в емкости Коплина или аналогичной, предназначенной для отмывки предметных стекол, выдерживая их в ОР при каждой промывке 5 мин и меняя ОР после каждой промывки. Предметное стекло при промывке должно быть полностью погружено в раствор.

Стряхнуть избыток ОР с предметного стекла, нижнюю сторону его осторожно протереть фильтровальной бумагой для удаления влаги.

2.3. На препараты нанести по 25 мкл ФИТЦ-конъюгата-IgG, и вновь поместить стекло во влажную камеру.

Инкубировать 30 мин при температуре 18 – 25 °С в темноте.

2.4. Промыть стекло, как указано в п. 2.2. Нанести на предметное стекло по средней линии (между лунками) монтирующую жидкость, затем сверху осторожно положить покровное стекло, избегая возникновения под ним пузырьков воздуха и убрать излишки монтиру-

КОПИЯ ВЕРНА
подпись Борисов В.Ю.
ЗАО «ЭКОлаб»

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

ющей жидкости фильтровальной бумагой. Провести микроскопию препарата под люминесцентным микроскопом при общем увеличении 400х-1000х

Учет результатов

Результаты учитывать по наличию и интенсивности желто-зеленого свечения клеток *Treponema pallidum* в поле зрения микроскопа, используя шкалу интенсивности, приведенную в табл. 2.

Таблица 2

Шкала интенсивности свечения

Характер свечения	Запись результата
Блестящее зелено-желтое свечение	(4+)
Яркое свечение	(3+)
Слабое свечение	(2+)
Трепонемы в препарате окрашены интенсивнее фона	(1+)
Полное отсутствие свечения	(–)

Примечание: Различные оптические системы могут давать различия в интенсивности свечения до 1+ и более, поэтому интенсивность свечения следует рассматривать только как ориентировочный показатель титра.

Наличие и интенсивность свечения в лунках с исследуемыми образцами можно оценивать только при соблюдении следующих условий:

При использовании комплекта № 1:

Свечение в лунке с $К^{+}$ интенсивностью от 2+ до 4+ и полное отсутствие свечения в лунке с $К^{-}$.

При использовании комплекта № 2:

Свечение в лунке с $К^{+}$ интенсивностью от 3+ до 4+ (положительная реакция), в лунке с $К^{+}_{слаб}$ интенсивностью 2+ (специфическая положительная реакция);

свечение в лунке с $К_{несп}$, разведенным в РБР, интенсивностью от 1+ до 3+ (неспецифическая положительная реакция);

полное отсутствие свечения в лунке с абсорбированным $К_{несп}$ (отрицательная реакция)

В противном случае исследование необходимо повторить.

Интерпретация результатов:

Комплект № 1	Комплект № 2	Результат
Интенсивность свечения равна или выше 1+	Интенсивность свечения равна или выше 2+	Положительный (образец содержит соответствующие антитела к *Treponema pallidum*)
Полное отсутствие свечения	Интенсивность свечения равна 1+ или полностью отсутствует	Отрицательный (образец не содержит соответствующие антитела к *Treponema pallidum*)

При использовании комплекта № 1 при более слабом свечении трепонем, которое не может быть идентифицировано по шкале интенсивности как 1+, результат следует считать сомнительным, и соответствующие образцы должны быть исследованы повторно.

При использовании комплекта № 2 при свечении трепонем, которое не может быть идентифицировано по шкале интенсивности как 2+, но более интенсивном, чем 1+, результат следует считать сомнительным, и соответствующие образцы должны быть исследованы повторно.

При повторном получении сомнительных результатов рекомендуется мониторинг антителообразования у пациента, чтобы исключить возможные неспецифические или перекрестные реакции.

КОПИЯ ВЕРНА
подпись
Борисов В.Ю.
Ген. директор ЗАО «ЭКОлаб»
ЭКОлаб

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

Проведение РИФ$_{200}$

При выявлении антител класса G в сыворотке (плазме) крови при необходимости параллельно с РИФ$_{абс}$ можно провести РИФ$_{200}$. В этом случае набор позволяет исследовать 40 образцов, включая контрольные.

Для постановки РИФ$_{200}$ исследуемые и контрольные образцы (К+ и К $_{несп.}$) необходимо развести в 200 раз в ОР. Это удобнее делать в два этапа: сначала развести образец в 10 раз (например: к 90 мкл ОР добавить 10 мкл образца и тщательно перемешать пипетированием), а затем еще в 20 раз (например: к 190 мкл ОР добавить 10 мкл предыдущего разведения образца).

Далее провести анализ, как описано выше для комплекта № 2.

В том случае, когда клиницистов интересует титр антител в сыворотке крови больного, РИФ-абс и РИФ-200 следует ставить с последовательными разведениями испытуемых сывороток крови и титром антител считать то наибольшее разведение, которое еще дает положительный результат реакции. Обозначать титр принято числом, характеризующим степень разведения испытуемой сыворотки крови, например, 5, 10, 20, 40 и т.д. (РИФ-абс) или 200, 400, 800 и т.д. (РИФ-200).

СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности 1 год. Набор с истекшим сроком годности использованию не подлежит.

ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ

Хранение

В упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8 °С. Замораживание не допускается.

После вскрытия упаковки неиспользованные реагенты хранить в плотно укупоренной таре при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности набора.

Транспортирование

При температуре от 2 до 8 °С. Замораживание не допускается. Допускается транспортирование при температуре от 9 до 20 °С в течение 10 сут.

УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для учреждений здравоохранения.

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться по адресу 142530 Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1, 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

Директор ЗАО "ЭКОлаб" по научной работе С.Г.Марданлы

КОПИЯ ВЕРНА

подпись

Борисов В.Ю.
Ген. директор ЗАО «ЭКОлаб»

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

КРАТКАЯ СХЕМА ПОСТАНОВКИ РИФ

Комплект № 1
(Антипаллидум-Флюороген-IgM)

Подготовка образцов	Восстановление сухого ультрасорбента в 10 мл РБР Восстановление сухого РФ-сорбента в 2,8 мл воды очищенной Разведение образцов ультрасорбентом в 5 раз. Экспозиция 10-15 мин при комнатной температуре Разведение образцов РФ-сорбентом в 2 раза. Экспозиция 15 мин при комнатной температуре
Нанести	На лунки по 25 мкл супернатанта образцов и контрольных образцов.
Инкубация	45 мин, 37 0С, во влажной камере
Промыть	1 раз ОР с помощью емкости для промывания с канюлей, далее 3 раза по 5 мин в ОР в емкости Коплина;
Нанести	На каждую лунку по 25 мкл ФИТЦ-конъюгата
Инкубация	30 мин, 37 0С, во влажной камере, в темноте
Промыть	1 раз ОР с помощью емкости для промывания с канюлей, далее 3 раза по 5 мин в ОР в емкости Коплина;
Нанести	Монтирующую жидкость, покровное стекло
Провести люминесцентную микроскопию (400х-1000х).	

Комплект № 2
(Антипаллидум-Флюороген-IgG)

Подготовка образцов	Развести ультрасорбент в 5 мл. РБР. Исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови и контрольные образцы К+слаб и Кнесп развести в 5 раз ультрасорбентом. Кнесп и К+ развести в 5 раз РБР. Образцы СМЖ использовать без разведения.
Нанести	На лунки предметного стекла с фиксированным антигеном по 25 мкл подготовленных исследуемых и контрольных образцов или цельного ликвора.
Инкубация	30 мин, 37 0С, во влажной камере
Промыть	1 раз ОР с помощью емкости для промывания с канюлей, далее 3 раза по 5 мин в ОР в емкости Коплина;
Нанести	На каждую лунку по 25 мкл ФИТЦ-конъюгата
Инкубация	30 мин, 18-25 0С, во влажной камере, в темноте
Промыть	1 раз ОР с помощью емкости для промывания с канюлей, далее 3 раза по 5 мин в ОР в емкости Коплина;
Нанести	Монтирующую жидкость, покровное стекло
Провести люминесцентную микроскопию (400х-1000х).	

КОПИЯ ВЕРНА
подпись
Борисов В.Ю.
Ген. директор ЗАО «ЭКОЛАБ»
ЭКОлаб

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