1 НАЗНАЧЕНИЕ НАБОРА

1.1 Набор реагентов для определения быстрых плазменных реагинов в сыворотке или плазме крови человека для диагностики сифилиса (RPR–тест) (далее по тексту – RPR-тест) предназначен для качественного и полуколичественного определения реагиновых антител к кардиолипиновому антигену в сыворотке или плазме крови человека.

2 ХАРАКТЕРИСТИКА И ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

2.1 Состав набора:

- суспензия (взвесь) кардиолипинового антигена – стабилизированная суспензия кардиолипина, лецитина и холестерина, содержащая частицы активированного угля; однородная суспензия тёмно-серого цвета, при хранении разделяется на бесцветную жидкость и осадок чёрного цвета.
- сыворотка контрольная положительная ($К^+$) – инактивированная сыворотка, содержащая антитела к кардиолипиновому антигену в титре не ниже 1:4; бесцветная или светло-жёлтая жидкость.
- сыворотка контрольная отрицательная ($К^-$) – инактивированная сыворотка; бесцветная или светло-жёлтая жидкость.
- тест-карточки однократного применения для иммунологических реакций.

Набор выпускается в двух вариантах комплектации:

- RPR-тест на 100 определений (включая контроли);
- RPR-тест на 500 определений (включая контроли).

Состав наборов при различной комплектации приведен в таблице 1.

Таблица 1 – Состав наборов

Наименование	Количество	
	RPR–тест на 100 определений	RPR–тест на 500 определений
Суспензия кардиолипинового антигена	1 флакон (2,5 мл)	5 флаконов (по 2,5 мл)
Сыворотка контрольная положительная, инактивированная, титр не ниже 1:4 ($К^+$) (титр указывается в паспорте к набору)	1 флакон (1мл)	2 флакона (по 1мл)
Сыворотка контрольная отрицательная, инактивированная ($К^-$)	1 флакон (1мл)	2 флакона (по 1мл)
Тест-карточки для реакции	10 шт.	50 шт.

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

2.2 Принцип работы:

RPR-тест основан на реакции флоккуляции (образовании агрегатов) при взаимодействии реагиновых антител (антифосфолипидные антитела классов IgM и IgG), присутствующих в сыворотке или плазме, с кардиолипиновым антигеном. Наличие таких антител служит основанием для постановки предварительного диагноза сифилиса. В случае положительного образца, присутствующие в нем реагиновые антитела образуют видимые агрегаты с антиген-угольными частицами. В случае отрицательного образца суспензия остается гомогенной.

3 АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1 Чувствительность

Выявляемые тестом реагиновые антитела обнаруживают у 77-86 % пациентов с первичным сифилисом, у 98-100 % пациентов со вторичным сифилисом.

3.2 Специфичность

Специфичность определения реагиновых антител с использованием RPR-теста составляет 96 %.

4 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1 При работе с набором следует надевать спецодежду (халаты) и одноразовые резиновые перчатки, т.к. образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные сохранять и передавать гемоконтактные инфекции.

4.2 Работы проводить с соблюдением мер предосторожности в соответствии с требованиями [1], [2], [3], [4]. В случае пролива сыворотки крови на рабочие поверхности, необходимо проводить дезинфекцию в соответствии с требованиями [5].

4.3 Не рекомендуется располагать набор вблизи нагревательных приборов.

4.4 При работе с набором рабочие места должны быть обеспечены приточно-вытяжной вентиляцией.

5 ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

5.1 Для проведения анализа необходимо использовать следующее оборудование и дополнительные материалы:

- пипетки полуавтоматические со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 15-50 мкл;
- орбитальный шейкер, обеспечивающий перемешивание в горизонтальной плоскости с частотой не менее 100 об/мин и амплитудой колебаний не менее 20 мм;
- изотонический (физиологический) раствор натрия хлористого с массовой долей 0,9 %.

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

6 ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

Реагенты перед использованием выдержать не менее 30 минут при температуре от 18 до 25 °С. Суспензию кардиолипинового антигена тщательно осторожно перемешать до однородного состояния.

7 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1 В лунки тест-карточки для реакции внести по 50 мкл $К^+$, $К^-$ и сыворотки (плазмы) пациентов, затем равномерно распределить по всей площади лунки наконечником пипетки. Не использовать один наконечник для внесения разных образцов.

7.2 В каждую лунку добавить по 15 мкл суспензии, не касаясь поверхности.

ВНИМАНИЕ! Перед использованием суспензия должна быть тщательно осторожно перемешана.

7.3 Реагенты перемешать путем помещения тест-карточки на прибор для встряхивания в горизонтальной плоскости (100 об/мин) в течение 8 мин.

7.4 Немедленно произвести оценку результатов.

7.5 Реакция с контрольными образцами ставиться аналогично.

8 УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

8.1 Результаты реакции учитывать невооруженным глазом.

8.2 Результаты считаются достоверными при выполнении условий:

1) Контрольная положительная сыворотка ($К^+$) – положительная реакция с суспензией, определяемый титр не менее 1:4. Допускается отличие титра от паспортного значения не более чем на 1 разведение.

2) Контрольная отрицательная сыворотка ($К^-$) – отрицательная реакция с суспензией.

8.3 Положительная реакция в виде образования чёрных агрегатов различной величины наблюдается при использовании сыворотки или плазмы, содержащей реагины.

8.4 Отрицательная реакция проявляется сохранением однородности суспензии без образования агрегатов.

8.5 В образцах, давших положительную реакцию, возможно определение титра антител (полуколичественное определение).

Образец последовательно разводится физиологическим раствором в соотношении 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32. Начать следует с нанесения 50 мкл физиологического раствора во все лунки, необходимые для определения. В первую лунку, содержащую физиологический раствор, внести 50 мкл исследуемого образца и перемешать. Далее отобрать из первой лунки 50 мкл образца и перенести во вторую лунку. Аналогично провести разведение до 1:32 (пятая лунка). Из пятой лунки удалить 50 мкл. Распределить жидкость по всей ячейке, начиная с большего разведения.

В каждую лунку добавить 15 мкл суспензии и поместить тест-карточку на орбитальный шейкер (100 об/мин) на 8 минут. По окончании времени немедленно произвести оценку результатов.

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

Титром антител в образце считается последнее разведение, в котором получена положительная реакция.

9 ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

9.1 Антифосфолипидные антитела могут присутствовать в сыворотке или плазме крови человека при других трепонемных и нетрепонемных заболеваниях. Ложноположительные результаты могут наблюдаться у больных с аутоиммунной патологией, антифосфолипидным синдромом, бруцеллезом, лептоспирозами, нарушениями обмена липидов, иммунодефицитами, а также у беременных женщин [6].

9.2 Ложноотрицательные результаты могут быть получены у пациентов с ранним первичным сифилисом в серонегативной фазе; у пациентов с вторичным сифилисом – при гиперпродукции реагиновых антител (эффект «прозоны» – высокий титр антител препятствует образованию преципитатов).

9.3 Полученные с помощью набора «RPR-тест» положительные результаты должны быть подтверждены специфическими трепонемными методами исследования (ИФА, РПГА и др.).

10 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

10.1 Набор должен храниться в упаковке изготовителя при температуре (2-8) °С в течение всего срока годности.

После вскрытия упаковки возможно хранение реагентов в плотно закрытых флаконах при температуре (2-8) °С до истечения срока годности. Вскрытую упаковку с тест-карточками хранить при комнатной температуре.

10.2 Определение реагиновых антител с помощью набора «RPR-тест» проводят в нативной или прогретой при температуре 56 °С в течение 30 мин сыворотке или плазме (с гепарином, ЭДТА, цитратом натрия).

10.3 Для проведения анализа не следует использовать гемолизированную, мутную сыворотку, сыворотку с повышенным содержанием липидов.

Образцы сыворотки или плазмы крови хранят при температуре (2-8) °С, если тестирование проводят в течение 24 ч после взятия крови. Образцы сыворотки можно хранить при температуре не менее минус (15-20) °С в течение более длительного времени (допускается только однократное замораживание и размораживание образцов). Размораживание образцов проводят при комнатной температуре.

10.4 Для отбора и добавления компонентов рекомендуется использовать полуавтоматические пипетки со сменными наконечниками, аттестованные на точность по значению средней дозы и воспроизводимости результатов пипетирования.

10.5 Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора и квалифицированное проведение анализа.

10.6 Срок годности набора – 24 месяца с даты изготовления.

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

Пояснения к символам

Графический символ	Его значение и объяснение
SN	**Серийный номер** Настоящий символ сопровождается указанием серийного номера изготовителя
	**Использовать до** Настоящий символ сопровождается датой, указывающей, что изделие рекомендуется использовать до истечения установленного срока; дата состоит из четырех цифр, указывающих год, двух цифр, указывающих месяц, и двух цифр, указывающих день
IVD	**Изделие для диагностики in vitro**
	**Ограничение температуры** Рядом с верхней и нижней горизонтальными линиями указывается верхняя и нижняя границы температурного диапазона
	**Изготовитель** Настоящий символ сопровождается информацией о наименовании и адресе изготовителя
	**Содержимого достаточно для проведения n-тестирований** Настоящий символ сопровождается указанием количества определений

 УП «ХОП ИБОХ НАН Беларуси», ул. Академика В.Ф.Купревича, д. 5, корп. 3, 220141, г. Минск, Республика Беларусь
Тел./факс +375-17-272-52-57 E-mail: hopmang.bel@gmail.com http://www.hopiboh.org

По вопросам, касающимся качества экспресс-теста, обращаться в ОТК, тел. +375-17-396-87-38

Библиография

[1] Сборник правовых документов по проблеме ВИЧ/СПИД. Утвержден приказом Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 16.12.1998 г. № 351.

[2] СП 17-69 РБ-98
«Общие требования по профилактике инфекционных и паразитарных заболеваний», утвержденные постановлением Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь от 29.04.1998 г. № 18 (ред. от 03.04.17).

[3] Санитарные нормы и правила «Требования безопасности при осуществлении работ с условно-патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими агентами, к организации и проведению их

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

учета, хранения, передачи и транспортировки», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 06.02.2017 г. №2.

[4] Санитарные нормы и правила «Требования к организации и проведению санитарно-противоэпидемических мероприятий, направленных на предупреждение возникновения и распространения вирусных гепатитов», утвержденные постановлением Республики Беларусь от 06.02.2013 г. №11.

[5] Приказ Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 25.11.2002 г. №165 «О проведении дезинфекции и стерилизации в учреждениях здравоохранения».

[6] Ratnam S. The laboratory diagnosis of syphilis // Can. J. Infect. Dis. Med. Microbiol. – 2005. – V. 16 (1). – P. 45-51.

Инструкция составлена:

сотрудниками УП «ХОП ИБОХ НАН Беларуси»:

начальник научно-технического отдела, к.б.н. А.И.Щербань

младший научный сотрудник Н.В.Щука

младший научный сотрудник Ю.А.Мытько

сотрудником УЗ «Городской клинический кожно-венерологический диспансер»:

врач лабораторной диагностики
(заведующий) Республиканской референс-
лаборатории по диагностике сифилиса И.С.Сивец

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