НАУЧНО–ПРОИЗВОДСТВЕННОЕ ОБЪЕДИНЕНИЕ
ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ

REF **L-431** Σ **100**

REF **L-432** Σ **200**

REF **L-433** Σ **500**

ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов “ДС-РПГА-АНТИ-ЛЮИС”
Иммунодиагностикум эритроцитарный для выявления специфических антител к *Treponema pallidum*

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

Содержание

I. НАЗНАЧЕНИЕ 3
II. ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ 3
III. ПРИНЦИП ТЕСТА....3
IV. СОСТАВ НАБОРА “ДС-РПГА-АНТИ-ЛЮИС”....4
V. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ....5
VI. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ 5
VII. ИНСТРУКЦИИ ПО БЕЗОПАСНОСТИ....5
VIII. НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ, НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ С НАБОРОМ РЕАГЕНТОВ 6
IX. ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ 6
X. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ 7
XI. ПРОВЕДЕНИЕ РПГА 7
XII. СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ 10
XIII. ОБЪЯСНЕНИЕ СИМВОЛОВ 11
XIV. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ....11
Приложение 1 12
Приложение 2 13

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

Набор реагентов выпускается в трех вариантах комплектации:
комплект 1 рассчитан на проведение 100 определений, включая постановку контрольных образцов;
комплект 2 рассчитан на проведение 200 определений, включая постановку контрольных образцов;
комплект 3 рассчитан на проведение 500 определений, включая постановку контрольных образцов.

I. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов "ДС-РПГА-АНТИ-ЛЮИС" предназначен для качественного и полуколичественного определения специфических антител к *Treponema pallidum* в сыворотке, плазме крови и ликворе человека в реакции пассивной гемагглютинации (РПГА).

II. ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Возбудителем сифилиса является бактерия *T. pallidum*. Основным путем инфицирования и заражения сифилисом является половой путь, однако возможно заражение плода от больной сифилисом матери или передача возбудителя гемотрасмиссионным путем. Выявление антител к *T. pallidum* играет важную роль при диагностике сифилиса.

Широко применяемая для диагностики сифилиса реакция пассивной гемагглютинации обладает одновременно качествами отборочного и подтверждающего теста, для нее характерны высокие показатели диагностической эффективности, простота постановки, возможность автоматизации и быстрого получения результатов. В отличие от нетрепонемных тестов (реакция микропреципитации с кардиолипиновым антигеном в различных модификациях постановки), реактивность трепонемных тестов, в частности РПГА, после лечения сохраняется в большинстве случаев длительное время.

III. ПРИНЦИП ТЕСТА

Набор "ДС-РПГА–АНТИ-ЛЮИС" предназначен для качественного и полуколичественного определения специфических антител к *T. pallidum* в сыворотке, плазме крови и ликворе человека в реакции пассивной гемагглютинации (РПГА). Формалинизированные куриные эритроциты сенсибилизированы рекомбинантными антигенами – аналогами иммунодоминантных белков возбудителя сифилиса *T. pallidum*. Присутствие в биологических образцах антител к *T. pallidum* приводит к формированию пространственной структуры иммунных комплексов антиген-антитело, которые осаждаются на вогнутой сферической поверхности на дне лунок (формирование «перевернутых зонтиков») – положительный результат. Величина зоны осаждения зависит от содержания антител в образце. Результат считается отрицательным при наличии компактного осадка эритроцитов на дне лунки в виде точки («пуговки») без просвета в центре или со слабо различимым просветом в центре.

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

IV. СОСТАВ НАБОРА “ДС-РПГА-АНТИ-ЛЮИС”

Таблица 1

	Форма выпуска		
	комплект 1	комплект 2	комплект 3
СЭ (сенсибилизированные эритроциты) – формалинизированные куриные эритроциты, сенсибилизированные рекомбинантными антигенами – аналогами иммунодоминантных белков возбудителя сифилиса *T. pallidum*; Гомогенная взвесь красновато-коричневого цвета, разделяющаяся при хранении на гомогенный осадок красновато-коричневого цвета и прозрачную или слегка опалесцирующую, бесцветную или желтоватого цвета надосадочную жидкость.	2 флакона по 4,5 мл	4 флакона по 4,5 мл	10 флаконов по 4,5 мл
КЭ (контрольные эритроциты) – формалинизированные куриные эритроциты, не сенсибилизированные рекомбинантными антигенами. Гомогенная взвесь красновато-коричневого цвета, разделяющаяся при хранении на гомогенный осадок красновато-коричневого цвета и прозрачную или слегка опалесцирующую, бесцветную или желтоватого цвета надосадочную жидкость.	2 флакона по 4,5 мл	4 флакона по 4,5 мл	10 флаконов по 4,5 мл
К+ (контрольный положительный образец), инактивированный, жидкий – сыворотка или плазма крови человека, содержащая антитела к *T. pallidum*, не содержащая HBsAg, антиген p24 ВИЧ-1, антитела к ВИЧ-1,2 и вирусу гепатита С. Прозрачная или слегка опалесцирующая розового цвета жидкость.	1 флакон 0,2 мл	1 флакон 0,2 мл	1 флакон 0,5 мл
К- (контрольный отрицательный образец), инактивированный, жидкий - сыворотка или плазма крови человека, не содержащая антитела к *T. pallidum,* ВИЧ-1,2 и вирусу гепатита С, а также HBsAg и антиген p24 ВИЧ-1. Прозрачная или слегка опалесцирующая желтого цвета жидкость.	1 флакон 0,2 мл	1 флакон 0,2 мл	1 флакон 0,5 мл
РРО - раствор для разведения образцов. Прозрачная или слегка опалесцирующая фиолетового цвета жидкость.	1 флакон 21,0 мл	2 флакона по 21,0 мл	5 флаконов по 21,0 мл
Планшет иммунологический с U-образным профилем дна лунок для постановки РПГА.	2 шт.	4 шт.	10 шт.
Планшет для предварительного разведения образцов.	1 шт.	2 шт.	5 шт.

Реагенты помещают в коробку картонную, куда вкладывают инструкцию по применению.

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

V. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

(см. Приложение 2 к данной инструкции).

VI. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

6.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2б (приказ Министерства здравоохранения РФ № 4Н от 06 июня 2012 г.).

6.2. Достоверность результатов зависит от правильного выполнения следующих правил лабораторной практики:

- Нельзя использовать реагенты с истекшим сроком годности.
- Нельзя использовать реагенты из наборов разных серий и смешивать их в процессе приготовления растворов.
- Перед использованием все реагенты выдержать при температуре от 18 до 24 °С в течение 30 мин.
- Необходимо использовать новый наконечник для каждого образца.
- Необходимо использовать только валидированные пипетки и оборудование.
- Нельзя изменять процедуру проведения анализа.
- Нельзя подвергать реагенты воздействию высокой температуры или прямого солнечного света.

VII. ИНСТРУКЦИИ ПО БЕЗОПАСНОСТИ

- Все реагенты набора предназначены для лабораторной диагностики.
- Сыворотки или плазмы крови человека, используемые при приготовлении контрольного положительного образца (К+) и контрольного отрицательного образца (К-), были протестированы и определены нереактивными в отношении поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg), антигена р24 ВИЧ-1, антител к вирусу гепатита С и ВИЧ-1 и ВИЧ-2.
- При работе с реагентами набора и исследуемыми образцами нужно обращаться как с потенциально опасными материалами, т.к. ни один известный метод тестирования не может гарантировать отсутствие инфекционных агентов.
- В помещении с иммунодиагностическими материалами нельзя употреблять пищу, пить, курить, применять косметику.
- Нельзя пипетировать ртом.
- При работе с любым оборудованием, которое контактирует с исследуемыми образцами, нужно обращаться как с потенциально опасными материалами.
- При работе с набором реагентов и исследуемыми образцами необходимо использовать спец. одежду и одноразовые перчатки, тщательно промывать руки после работы с ними.

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

- После проведения реакции агглютинации необходимо нейтрализовать и/или автоклавировать растворы, отходы или любые жидкости, содержащие биологические образцы до сброса в канализацию. Твердые отходы (использованные планшеты, наконечники к дозаторам, флаконы, лабораторная посуда, одноразовые перчатки и т.д.) должны быть обеззаражены автоклавированием в течение часа при температуре от 124 до 128 °С под давлением 1,5 кГс/см^2 (0,15 МПа). Допустимо обеззараживание твердых отходов способом погружения в 3% раствор хлорамина Б (длительность дезинфекции не менее 1 часа) или другого разрешенного к промышленному выпуску и применению в РФ дезинфицирующего средства. Жидкие отходы (промывочные воды) следует обеззараживать добавлением сухого хлорамина Б из расчета 30 г/л (длительность дезинфекции - не менее 2 ч) или кипячением в течение 30 мин, или автоклавированием в течение 1 ч под давлением 1,5 кГс/см^2 (0,15 МПа) при температуре от 124 до 128 °С. Инструменты и оборудование до и после работы необходимо протирать 2 раза 70% этиловым спиртом.
- При утилизации и уничтожении все реагенты и материалы, являющиеся отходами, должны быть обработаны в соответствии с действующими нормативами (СанПиН 2.1.7.2790-10, СП 1.3.2322-08).

VIII. НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ, НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ С НАБОРОМ РЕАГЕНТОВ

- Автоматические пипетки переменного объема (одно- или многоканальные).
- Одноразовые наконечники к пипеткам.
- Центрифуга.
- Бумага фильтровальная лабораторная.
- Перчатки медицинские.

IX. ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Для исследования использовать нативную или прогретую сыворотку, плазму (гепарин) крови или ликвор человека.

Для исключения ложных результатов исследуемые образцы отбирать и хранить в условиях, предотвращающих бактериальный рост.

Образцы с выраженным гемолизом, гиперлипидемией и бактериальным ростом анализу не подлежат. Образцы, содержащие агрегаты или осадок, необходимо осветлять центрифугированием.

Образцы можно хранить при температуре от 2 до 8 ºС не более 7 сут, допустимо более длительное хранение в замороженном состоянии при температуре минус 20 ºС в течение 3 месяцев. Нельзя использовать образцы, замороженные и размороженные более 1 раза.

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

X. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

Перед использованием все реагенты выдержать при температуре от 18 до 24 ºС в течение 30 мин.

1. Реагенты, готовые к применению:

- **СЭ** - сенсибилизированные эритроциты. Перед использованием содержимое флакона тщательно перемешать до получения гомогенной взвеси.
- **КЭ** - контрольные эритроциты. Перед использованием содержимое флакона тщательно перемешать до получения гомогенной взвеси.
- **К+** - контрольный положительный образец.
- **К-** - контрольный отрицательный образец.
- **РРО** - раствор для разведения образцов.

2. Хранение неиспользованных реагентов

После вскрытия флаконов, оставшиеся неиспользованными реагенты набора “ДС-РПГА-АНТИ-ЛЮИС”: СЭ, КЭ, К+, К-, РРО хранить во флаконах, закрытых винтовой крышкой, в течение срока годности набора при температуре от 2 до 8 ºС; флаконы с СЭ, КЭ - хранить строго в вертикальном положении.

XI. ПРОВЕДЕНИЕ РПГА

1. Качественный анализ.

1.1. Перед постановкой РПГА исследуемые образцы сыворотки или плазмы крови развести в 20 раз, образцы ликвора - в 10 раз. Для этого в лунки планшета для предварительного разведения образцов с помощью автоматической пипетки внести по 190 мкл РРО и 10 мкл исследуемых образцов сыворотки или плазмы крови или по 90 мкл РРО и 10 мкл исследуемых образцов ликвора. Содержимое лунок тщательно перемешать осторожным пипетированием, при этом фиолетовый цвет раствора в лунках с внесенными образцами сывороток и плазмы крови должен измениться на голубой, в лунках с внесенными образцами ликвора должен остаться фиолетовым. К+ и К- развести аналогично в 20 раз в РРО.

1.2. Каждый предварительно разведенный исследуемый образец сыворотки, плазмы, ликвора, К+ и К- внести по 25 мкл в две лунки иммунологического планшета с U-образным профилем - лунку нечетного и лунку четного рядов.

1.3. В лунки нечетных рядов планшета внести по 75 мкл СЭ, в лунки четных рядов - по 75 мкл КЭ. Планшет осторожно покачать, чтобы перемешать содержимое лунок, накрыть крышкой и выдержать не менее 45 мин при температуре от 18 до 24 ºС на светлой горизонтальной поверхности (в условиях, исключающих вибрацию). Планшет можно оставить на ночь.

1.4. Учёт результатов проводить визуально в условиях достаточного освещения, при этом выявляют разную степень агглютинации эритроцитов (Рис.1).

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



Результат: 4+ 3+ 2+ 1+ ± отрицательный

Рис. 1 Внешний вид лунок с разной степенью агглютинации эритроцитов

4+ - равномерно распределенный по всему дну лунок осадок эритроцитов в виде перевернутого зонтика с ровными или фестончатыми краями;

3+ - осадок эритроцитов в виде зонтика с ровными краями, занимающий не менее 2/3 лунки;

2+ - осадок эритроцитов в виде кольца, занимающего не менее 1/3 лунки, с видимым просветом в центре;

1+ - осадок эритроцитов в виде небольшого кольца, занимающего менее 1/3 лунки, с четко различимым просветом в центре;

± - компактный осадок эритроцитов со слабо различимым просветом в центре.

- - отсутствие агглютинации - компактный осадок эритроцитов на дне лунки в виде точки «пуговки» без просвета в центре.

Реакцию учитывать, если в лунках с К+ и СЭ видна агглютинация эритроцитов на 3+ или 4+, в лунках с К- и СЭ, К+ и КЭ, К- и КЭ агглютинации не наблюдается.

Результат исследования считать положительным (образец содержит антитела к *T. pallidum*), если в лунке с СЭ выявлена агглютинация эритроцитов от 3+ до 4+.

Результат считать слабоположительным (образец содержит антитела к *T. pallidum*), если в лунке с СЭ выявлена агглютинация эритроцитов 2+.

Результат считать сомнительным, если степень агглютинации эритроцитов в лунке с СЭ составляет 1+. Образцы, показавшие сомнительный результат РПГА, должны быть исследованы повторно. В случае получения аналогичного результата рекомендуется повторить исследование через 10-14 дней со свежим образцом биологического материала.

Результат исследования считать отрицательным (образец не содержит антител к *T. pallidum*) в случае ± агглютинации и при ее отсутствии.

В лунках с исследуемым образцом и КЭ агглютинация должна отсутствовать. Наличие агглютинации с КЭ свидетельствует о содержании в исследуемом образце неспецифических агглютининов, которые перед проведением реакции необходимо удалить путем их адсорбции на КЭ. Для этого к 10 мкл исследуемого образца добавить 190 мкл суспензии КЭ, перемешать и выдержать не менее 30 мин при температуре от 18 до 24 ºС. Смесь центрифугировать в течение 3 мин при 2000 об/мин. Отобрать 25 мкл супернатанта и провести повторное тестирование с СЭ и КЭ в соответствии с п. 1.3.

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

В качестве альтернативного варианта исследования в РПГА может быть предложен вариант, основанный на учете разницы титров исследуемого образца с КЭ и СЭ. С этой целью провести титрование исследуемого образца в двух вертикальных рядах планшета для постановки РПГА. Затем в первый ряд внести СЭ, а во второй - КЭ. Если титр образца с СЭ больше титра образца с КЭ, то результат исследования считать положительным (образец содержит антитела к *T. pallidum*). Если титр образца с КЭ больше титра образца с СЭ или они равны, то результат исследования считать отрицательным (образец не содержит антитела к *T. pallidum*).

Положительные в РПГА образцы сыворотки или плазмы могут быть использованы для полуколичественного анализа - определения титра специфических антител к антигенам *T. pallidum*.

2. Полуколичественный анализ (титрование).

2.1. Во все лунки вертикальных рядов иммунологического планшета с U-образным профилем дна лунок, кроме верхней, внести по 25 мкл РРО. Количество вертикальных рядов должно соответствовать числу тестируемых образцов плюс 1 ряд для титрования К+.

2.2. В верхнюю (пустую) и во вторую лунки соответствующего ряда внести по 25 мкл исследуемого положительного в качественном анализе образца или К+, предварительно разведенных в планшете для разведения образцов. Содержимое второй лунки тщательно перемешать осторожным пипетированием и перенести 25 мкл в третью лунку и так до конца вертикального ряда. Из восьмой лунки после перемешивания удалить 25 мкл содержимого в емкость для сбора инфицированного материала. Одновременно с титрованием исследуемых образцов провести аналогично титрование К+.

2.3. В каждую лунку внести по 75 мкл СЭ (разведения тестируемого образца сыворотки или плазмы от 1:80 до 1:10240, тестируемого образца ликвора от 1:20 до 1:2560). Планшет осторожно покачать, чтобы перемешать содержимое лунок, накрыть крышкой и выдержать не менее 45 мин при температуре от 18 до 24 ºС на светлой горизонтальной поверхности (в условиях, исключающих вибрацию).

2.4. Учет результатов провести аналогично п. 1.4 (как при постановке качественного варианта РПГА). Титром антител к *T. pallidum* следует считать то наибольшее разведение образца, при котором наблюдается реакция агглютинации 1+. Титр антител к *T. pallidum* в исследуемом образце учитывают при условии, что титр антител в К+, полученный в реакции, отличается от указанного в паспорте не более, чем в 2 раза.

2.5. Титры, полученные с применением набора реагентов "ДС-РПГА-АНТИ-ЛЮИС", в большинстве случаев совпадают с титрами, полученными в наборах других производителей.

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

Как показали результаты исследования 90 образцов сыворотки крови, содержащих антитела к *T. pallidum*, титры, полученные с набором “ДС-РПГА-АНТИ-ЛЮИС”, совпадали в 87,8% случаев с титрами, полученными с “РПГА-БЕСТ антипаллидум” производства ЗАО “Вектор-Бест”, и в 83,3% случаев с титрами, полученными с “Сифилис-РПГА-тест” производства ЗАО “ЭКОлаб” (полученные значения могли отличаться на ± 1 шаг титрования).

Титры, полученные в тест-системах производства ООО «НПО «Диагностические системы» и ООО «НИАРМЕДИК ПЛЮС» не совпадают. В случае необходимости можно провести пересчет титра антител, полученного в тест-системе “ДС-РПГА-АНТИ-ЛЮИС”, в титр антител, полученный в тест-системе “Люис РПГА тест” производства ООО “НИАРМЕДИК ПЛЮС”. Для перевода значения титра, полученного в тест-системе “ДС-РПГА-АНТИ-ЛЮИС”, в значение титра, соответствующее тест-системе “Люис РПГА тест”, необходимо полученное значение титра (знаменатель дроби) разделить на коэффициент пересчета, равный **4**. Например: в тест-системе “ДС-РПГА-АНТИ-ЛЮИС” получено значение титра 1/320. Для перевода этого значения в значение титра, полученного в тест-системе “Люис РПГА тест”, необходимо **320/4=80**. Значение титра в тест-системе “Люис РПГА тест” будет 1/80.

XII. СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Срок годности указан на упаковке набора. По истечении срока годности набор использованию не подлежит.

Хранить только вертикально в сухом, защищенном от света месте при температуре от 2 до 8°С. Транспортирование может производиться любым закрытым транспортом при температуре от 9 до 25 °С не более 10 сут. Замораживание не допускается.

Рекламации на специфические и физические свойства препарата направлять в адрес предприятия-изготовителя: ООО “Научно-производственное объединение “Диагностические системы”, 603093, Россия, Нижний Новгород, ул. Яблоневая, 22, тел.: (831) 434-97-12, тел./факс: (831) 434-86-83. E-mail: info@npods.ru, www.npods.ru.

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

XIII. ОБЪЯСНЕНИЕ СИМВОЛОВ

CE	ЕС Маркировка (Европейская директива 98/79/CE по in vitro диагностическим МУ)
IVD	Только для лабораторного использования (in vitro diagnostic)
	Производитель
REF	Каталожный номер
Σ	Количество определений
LOT	Номер партии (серии)
+2°C +8°C	Температурные пределы хранения
EXP.	Срок годности число/месяц/год
	Использовать инструкцию по применению

XIV. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

См. Приложение 1 к данной инструкции.

Дополнительная информация в соответствии с ГОСТ Р 51088-2013

- «Набор предназначен для профессионального использования в клинической лабораторной диагностике специально обученным персоналом. При работе с набором реагентов следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования к безопасности»».
- «Реагенты набора не содержат вредных веществ в опасных концентрациях, за исключением реагентов, обозначенных символом «Внимание». При попадании на кожу или слизистые немедленно промыть большим количеством воды».
- Расшифровка символов по ГОСТ Р 15223-1-2014 «Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации. Часть 1. Общие требования».

– Дата изготовления (YYYY-MM), символ 5.1.3;

– Срок годности (дата истечения срока годности в формате YYYY-MM-DD), символ 5.1.4;

– Не допускать воздействия солнечного света, символ 5.3.2;

– Беречь от влаги, символ 5.3.4;

– Внимание, символ 5.4.4.

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

Приложение 1

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Чепурченко Н.В., Гладышева М.В., Обрядина А.П. Новые возможности использования рекомбинантных антигенов в серодиагностике сифилиса. // Клин. дерматол. и венерол. 2006 - № 2 - стр. 28-31.
2. Чепурченко Н.В., Уланова Т., Пузырев В., Логинова Л., Бурков А., Обрядина А. Новый гемагглютинационный тест для серологической диагностики сифилиса. // Материалы 15-ого Европейского конгресса по клинической микробиологии и инфекционным заболеваниям. 2-5 апреля 2005 – стр. 247.
3. Garner M.F., Backhouse J.L., Daskalopoulos G., Walsh J.L. The Treponema pallidum haemagglutination (TPHA) test in biological false positive and leprosy sera. // J. Clin. Pathol., 1973 – Vol. 26, № 4 – p. 258-260.
4. Gerber A., Krell S., Morenz J. Recombinant Treponema pallidum antigens in syphilis serology. // Immunobiol. 1996/97 - Vol.196 - P.535–549.
5. Ijsselmuiden O.E., Schouls L.M., Stolz E., Aelbers G.N.M., Agterberg C.M., Top J., van Embden J.D.A. Sensitivity and specificity of an enzymelinked immunosorbent assay using the recombinant DNA-derived Treponema pallidum protein TmpA for serodiagnosis of syphilis and thepotential use of TmpA for assessing the effect of antibiotic therapy. // J. Clin. Microbiol., 1989 – Vol. 27, № 1 – p. 152-157.
6. Schouls L.M., Ijsselmuiden O.E., Weel J., van Embden J.D.A. Overproduction and purification of Treponema pallidum recombinant-DNA-derived proteins TmpA and TmpB and their potential use in serodiagnosis of syphilis.// Infect. Immun., 1989. – Vol.57, № 9 – p. 2612-2623.
7. Young H., Moyes A., de Ste Croix I., McMillan A. A new recombinant antigen latex agglutination test (Syphilis Fast) for the rapid serological diagnosis of syphilis. // Int. J. STD. AIDS., 1998. – Vol. 9, № 4 –p. 196-200.

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

Приложение 2

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диагностическая чувствительность

1. Диагностическая чувствительность набора реагентов “ДС-РПГА–АНТИ-ЛЮИС” оценивалась на клинических образцах и составила 99,25% (133/134), что на 100% соответствует результатам теста с наборами “Syphilis TPHA liquid” (Human, Германия).

2. Была исследована Коммерческая панель контрольных материалов (BBI, США). Результаты представлены в таблице

Таблица 1

Результаты тестирования панели BBI “Syphilis Mixed Titer Performance Panel PSS202”

ИН #	“ДС-РПГА–АНТИ-ЛЮИС”	FUJIREBIO “Serodia TP-PA”	OLYMPUS PK TP System
PSS202-01	Реактивный	Реактивный	Реактивный
PSS202-02	Реактивный	Реактивный	Реактивный
PSS202-03	Реактивный	Реактивный	Реактивный
PSS202-04	Нереактивный	Нереактивный	Нереактивный
PSS202-05	Реактивный	Реактивный	Реактивный
PSS202-06	Реактивный	Реактивный	Реактивный
PSS202-07	Реактивный	Реактивный	Реактивный
PSS202-08	Реактивный	Реактивный	Реактивный
PSS202-09	Реактивный	Реактивный	Реактивный
PSS202-10	Реактивный	Реактивный	Реактивный
PSS202-11	Реактивный	Реактивный	Реактивный
PSS202-12	Реактивный	Реактивный	Реактивный
PSS202-13	Реактивный	Реактивный	Реактивный
PSS202-14	Реактивный	Реактивный	Реактивный
PSS202-15	Реактивный	Реактивный	Реактивный
PSS202-16	Нереактивный	Нереактивный	Нереактивный
PSS202-17	Реактивный	Реактивный	Реактивный
PSS202-18	Реактивный	Реактивный	Реактивный
PSS202-19	Реактивный	Реактивный	Реактивный
PSS202-20	Реактивный	Реактивный	Реактивный

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

Специфичность

Специфичность набора реагентов “ДС-РПГА-АНТИ-ЛЮИС” оценивалась при исследовании:

- образцов сывороток крови доноров случайной выборки (включая первичных) (n=1113). Специфичность составила 99,01%.
- образцов сывороток крови клинических пациентов без указаний на наличие активного сифилиса или заболевание в прошлом (n=182). Специфичность составила 99,45%.
- образцов сывороток крови беременных женщин (n=245). Специфичность составила 99,18%.

Аналитическая чувствительность

Данный набор показал способность выявлять 0,00029 МЕ/мл специфических антител к *T.pallidum* при тестировании Международного стандарта “WHO International Standard 1st IS for human syphilitic plasma IgG and IgM” (NIBSC, Великобритания). Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2

Оценка аналитической чувствительности теста “ДС-РПГА–АНТИ-ЛЮИС”

№ образца	Количество повторов	Концентрация антител (МЕ/мл)	Результаты
1	10	0,0375	4+
2	10	0,01875	4+
3	10	0,0094	4+
4	10	0,0047	3+
5	10	0,0023	3+
6	10	0,0012	2+
7	10	0,00058	2+
8	10	0,00029	1+
9 (отрицательный)	10	0,00014	-

Воспроизводимость

Воспроизводимость теста “ДС-РПГА–АНТИ-ЛЮИС” была оценена при повторном тестировании 3 образцов сывороток крови больных сифилисом вторичным. Воспроизводимость была оценена по результатам исследования, проведенного одним оператором внутри одного планшета, между разными планшетами, между тремя сериями набора реагентов и проведенных двумя операторами. Воспроизводимость набора “ДС-РПГА-АНТИ-ЛЮИС” составила 100%.

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

Ограничения теста

1. При проведении теста используются только образцы сыворотки, плазмы крови (гепарин) и ликвора человека.

2. Отрицательный результат исследования при определении антител не исключает наличия инфекции у пациента. Низкий уровень антител в таких образцах может быть ниже пределов чувствительности РПГА.

3. Сыворотки крови больных, получивших лечение по поводу сифилиса, могут сохранять положительные результаты РПГА.

4. Ложноположительные результаты могут наблюдаться при ВИЧ инфекции, вирусном гепатите, онкозаболеваниях, хламидиозе, беременности.

5. Клинический диагноз не должен основываться на результате исследования в одном тесте, а должен базироваться на корреляции результатов лабораторных исследований с клиническими данными или результатах исследования в нескольких тестах с разным принципом определения антител к антигенам *T. pallidum.*

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