«УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный директор
АО «ЭКОлаб»
_____Т.Ю.Гашенко
«___» _____2023 г.

И Н С Т Р У К Ц И Я
по применению набора реагентов "Диагностикум для выявления антител классов М или G к Treponema pallidum в реакции иммунофлюоресценции" "Антипаллидум-Флюороген-IgM/IgG"

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов "Диагностикум для выявления антител классов М или G к Treponema pallidum в реакции иммунофлюоресценции" "Антипаллидум-Флюороген IgM/IgG" предназначен для выявления в реакции иммунофлюоресценции (РИФ) антител классов М или G к Treponema pallidum в сыворотке (плазме) крови (модификации $РИФ_{абс}$ и $РИФ_{200}$) и спинномозговой жидкости человека (модификация $РИФ_{ц}$).

Функциональное назначение: диагностика, подтверждение результатов отборочных тестов и специфической серодиагностики сифилиса. Применение изделия не имеет популяционных и демографических ограничений.

Для однократного применения набора по назначению.

Для клинической лабораторной диагностики in vitro.

Потенциальные потребители изделия

Лабораторные подразделения лечебно-профилактических учреждений.

Профессиональный уровень потенциальных пользователей

Врач клинической лабораторной диагностики, медицинский лабораторный техник.

Показания и противопоказания к применению изделия

Изделие предназначено для подтверждения положительных результатов скрининга на сифилис.

Противопоказания: нет.

Описание целевого аналита, сведения о его научной обоснованности

Сифилис – системное инфекционное заболевание, вызываемое бледной трепонемой (Treponema pallidum), характеризуется волнообразным прогрессирующим течением и разнообразными клиническими проявлениями с чередованием манифестных и скрытых периодов.

Особенно большое значение в распространении сифилиса играют остро заразные ранние формы инфекции (первичный, вторичный), а также больные скрытым ранним сифилисом, у 25% которых заболевание может реверсировать в манифестный вторичный сифилис.

Одно из значимых мест в контроле над распространением сифилиса занимает диагностика, осуществляемая лабораторными методами. Она особенно важна при малосимптомных и скрытых формах заболевания, при необходимости раннего установления диагноза, предупреждения развития врождённого сифилиса, а также поздних форм инфекции.

Диагностика сифилиса, осуществляемая лабораторными методами, является комплексной и включает применение как прямых методов исследования, связанных с необходимостью выявления самого возбудителя или его генетического материала, так и непрямых – как правило, серологических методов исследования, направленных на выявление гуморальных иммунных антител к возбудителю сифилиса или его отдельным антигенным детерминантам. При этом комплексность диагностики обусловлена не только возможностью прямого, либо непрямого выявления возбудителя, но и стадийностью течения инфекции и связанным с этим изменением гуморального иммунного ответа.

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

Абсолютный приоритет в диагностике сифилиса, как за рубежом, так и в России, в настоящее время занимают непрямые, серологические методы исследования.

В соответствии с Приказом МЗ РФ № 87 от 26.03.2001 «О совершенствовании серологической диагностики сифилиса») серо- и ликвородиагностика сифилиса предусматривает применение следующих реакций: реакции микропреципитации (РМП), Venereal Disease Research Laboratory (VDRL) тест, Rapid Plasma Reagins (RPR) тест и других модификаций на основе кардиолипинового антигена — нетрепонемные, отборочные тесты; реакции пассивной (непрямой) гемагглютинации (РПГА), реакции иммунофлуоресценции (РИФ), иммуноферментного анализа (ИФА), реакции иммобилизации бледных трепонем (РИБТ) – трепонемные тесты.

Реакция имуннофлюоресценции широко применяется для диагностики сифилиса в качестве подтверждающего теста положительных результатов скрининга. Реакция иммунофлюоресценции выявляет антитела классов М и G к Treponema pallidum в сыворотке (плазме) крови (модификации РИФабс и РИФ200) и спинномозговой жидкости человека (модификация РИФц).

СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

Набор реагентов "Антипаллидум-Флюороген-IgM/IgG" выпускается в двух вариантах комплектации (Комплект № 1 и Комплект № 2 в двух исполнениях: исполнение 2/1 и исполнение 2/2):

Комплект № 1:

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

Комплект № 2:

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

Наименование компонента	Характеристика компонента	**Комплект № 1**	**Комплект №2**	
			Исп.2/1	**Исп. 2/2**
Антиген Treponema pallidum на стекле предметном	инактивированные Treponema pallidum (штамм Nicols), фиксированные в лунках предметных стекол	10 шт.	10 шт.	8 шт.
ФИТЦ-конъюгат-IgM	козьи антитела к IgM человека, меченные флюоресцеин-5-изотиоционатом (ФИТЦ); прозрачная жидкость с желтоватым оттенком	1 фл. (2,8 мл)	-	-
ФИТЦ-конъюгат-IgG	козьи антитела к IgG человека, меченные флюоресцеин-5-изотиоционатом (ФИТЦ); прозрачная жидкость с желтоватым оттенком	-	1 фл. (2,8 мл)	1 фл. (2,2 мл)
Контрольный положительный образец ($К^+$)	сыворотка крови человека, содержащая антитела класса М к Treponema pallidum, инактивированная; прозрачная бесцветная или слабо желтого цвета жидкость	1 фл. (0,3 мл)	-	-
	сыворотка крови человека, содержащая антитела класса G к Treponema pallidum, инакти-	-	1 фл. (0,3 мл)	1 фл. (0,3 мл)

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

	вированная; прозрачная бесцветная или слабо желтого цвета жидкость			
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	-	1 фл. (0,3 мл)	1 фл. (0,3 мл)
Контрольный отрицательный образец ($К^{-}$)	сыворотка крови человека, не содержащая антитела к Treponema pallidum, инактивированная; прозрачная бесцветная или слабо желтого цвета жидкость	1 фл.(0,3 мл)	-	-
Контрольный неспецифический образец ($К_{несп}$)	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	-	1 фл. (0,3 мл)	1 фл. (0,3 мл)
РФ-сорбент	козьи антитела к IgG человека - прозрачная жидкость с желтоватым оттенком	1 фл.(5,5 мл)	-	-
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	1 фл. (10 мл)	1 фл. (5,0 мл)	1 фл. (5,0 мл)
Разводящий буферный раствор (РБР)	прозрачная бесцветная жидкость	1 фл.(12,0 мл)	1 фл. (20 мл)	1 фл. (20 мл)
Монтирующая жидкость	прозрачная бесцветная вязкая жидкость	1 фл (2,0 мл)	1 фл. (2,0 мл)	1 фл. (2,0 мл)
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	2 фл (по 40 мл)	2 фл (по 40 мл)	2 фл (по 40 мл)
Вспомогательный планшет для предварительного разведения исследуемых образцов (РУ № ФСР 2010/08676)		1 шт.	1 шт.	1 шт.
Клейкая пленка для вспомогательного планшета (РУ № РЗН 2022/19122)		2 шт.	-	-

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

Примечания. 1. Набор включает все реагенты, необходимые для постановки РИФ, кроме очищенной (дистиллированной иди деионизированной) воды.
2. Антиген Treponeta Pallidum на стекле предметном, [(ОР)к], РБР, монтирующая жидкость – унифицированы для всех наборов ЗАО "ЭКОлаб", в которых используются указанные реагенты.
3. К+, ($К_{+слаб}$), ($К_{неспец}$) и К- не содержат антигены ВИЧ, HBsAg, антитела к ВГС и ВИЧ.
4. В составе изделия отсутствуют материалы, вступающие в непосредственный или опосредованный контакт с организмом пациента и персонала, использующего изделие, при выполнении требований эксплуатационной документации (инструкции по применению).
5. В составе изделия отсутствуют лекарственные средства и фармацевтические субстанции.

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

ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Предусмотрено два базовых варианта комплектации набора.
Базовый вариант комплекта № 1 рассчитан на исследование 100 образцов, включая контрольные (на контрольные образцы используется 2 лунки).
Базовый вариант комплекта № 2 исполнения 2/1 рассчитан на 100 образцов, включая контрольные (на контрольные образцы используется 4 лунки).
Базовый вариант комплекта № 2 исполнения 2/2 рассчитан на 80 образцов, включая контрольные (на контрольные образцы используется 4 лунки). 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

Методы стерилизации изделия
Изделие не требует стерилизации.
Программное обеспечение работы изделия
Отсутствует.
Техническое обслуживание и ремонт изделия
Изделие не требует технического обслуживания и не подлежит ремонту.

ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

Используется метод непрямого иммунофлюоресцентного анализа.

При выявлении антител класса М к Treponeta 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 специфи-

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

ческих 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 $РИФ_{абс}$ для исключения ложноположительного результата исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови предварительно обрабатываются раствором ультрасорбента. Ультрасорбент представляет собой солевой экстракт из культуральных бледных трепонем (штаммы V, VII, VIII, IX и Рейтера) обработанных ультразвуком.

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 спинномозговая жидкость человека. Объем исследуемого образца сыворотки (плазмы) крови 10 мкл, СМЖ-25 мкл.

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

Чувствительность набора определяется по стандартной панели образцов предприятия, содержащих иммуноглобулины классов М или G к Treponema pallidum ($СОП^{+}$-128) как процентное содержание образцов, определенных набором как положительные, и составляет 100%.

Специфичность набора определяется по стандартной панели образцов предприятия, не содержащих иммуноглобулины классов М или G к Treponema pallidum ($СОП^{-}$-128) как процентное содержание образцов, определенных набором как отрицательные, и составляет 100%.

Диагностическая чувствительность набора реагентов: 99,67% - 100% (с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическая специфичность набора реагентов: 99,57% - 100% (с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическая чувствительность для каждого вида биологического материала (с доверительной вероятностью 95%):

Сыворотка крови человека:	99,08% - 100%
Плазма крови человека:	99,25% - 100%
Спинномозговая жидкость	98,51% - 100%

Диагностическая специфичность для каждого вида биологического материала (с доверительной вероятностью 95%):

Сыворотка крови человека:	99,25 % - 100%
Плазма крови человека:	98,51% - 100%
Спинномозговая жидкость	97,05% - 100%

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

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

Потенциальный риск применения набора – класс 2б (Приказ МЗ РФ №4н от 6 июня 2012 г.).

Меры предосторожности при работе с набором – соблюдение правил "Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений" (Утв. Минздравом СССР 17 января 1991 г.), ГОСТ Р 52905–2007 (ИСО 15190:2003).

Набор реагентов, в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 "Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно- противоэпидемических (профилактических) мероприятий" относится к классу А - отходы, не имеющие контакта с биологическими жидкостями пациентов, инфекционными больными и классу Б (эпидемиологически опасные отходы) – инфицированные и потенциально инфицированные отходы, материалы и инструменты, предметы, загрязненные кровью и/или другими биологическими жидкостями.

Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 "Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно- противоэпидемических (профилактических) мероприятий" и МУ 287-113 "Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения".

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.

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

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.

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.

Подготовка контрольных и исследуемых образцов

Комплект № 1

В планшете для предварительного разведения образцов развести исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови раствором ультрасорбента в соотношении 1:5 (10 мкл образца внести в 40 мкл раствора ультрасорбента). Лунки планшета закрыть клейкой пленкой. Инкубировать 10-15 мин при комнатной температуре.

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

Внимание! Образцы СМЖ (ликворы) не требуют разведения.

Комплект № 2

Развести в планшете для предварительного разведения образцов:

исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови раствором ультрасорбента в 5 раз (10 мкл образца внести в 40 мкл раствора ультрасорбента);

контрольный положительный образец ($К^{+}$) в 5 раз РБР (10 мкл контрольного образца внести в 40 мкл РБР);

контрольный слабоположительный образец ($К^{+}_{слаб}$) раствором ультрасорбента в 5 раз (10 мкл контрольного образца внести в 40 мкл раствора ультрасорбента);

контрольный неспецифический образец ($К_{несп}$) в 5 раз РБР (10 мкл контрольного образца внести в 40 мкл РБР);

контрольный неспецифический образец ($К_{несп}$) раствором ультрасорбента в 5 раз (10 мкл контрольного образца внести в 40 мкл раствора ультрасорбента).

Внимание! Образцы СМЖ (ликворы) не требуют разведения.

Подготовка других реагентов

Комплект № 1

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

Комплект № 2

РБР, 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!

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

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 37°С.

Внимание! Не допускать пересыхания лунок во время инкубаций!

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 37°С 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 пред-

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

метного 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 37 °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 монтирующей 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)

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

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.

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 18 месяцев. Набор с истекшим сроком годности использованию не подлежит.

ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ

Хранение

Замораживание не допускается.

Хранение наборов должно осуществляться в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности.

После вскрытия упаковок неиспользованные реагенты допускается хранить в плотно закрытых упаковках в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности.

Транспортирование

При температуре от 2 до 8 °С. Замораживание не допускается. Допускается транспортирование при температуре от 9 до 25 °С в течение 15 сут.

УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для учреждений здравоохранения.

ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Набор реагентов "Диагностикум для выявления антител классов М или G к Treponema pallidum в реакции иммунофлюоресценции","Антипаллидум-Флюороген IgM/IgG" соответствует ТУ 9398-128-70423725-2021 с изм. № 1, Национальным стандартам РФ и нормативным документам в части требований безопасности и эффективности. *По вопросам, касающимся качества набора реагентов следует обращаться по адресу: 142530 Московская обл.,*

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

г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1-1а, Акционерное Общество «ЭКОлаб» (АО "ЭКОлаб"); тел. 8(49643) 3-23-11; 3-30-93; тел./ факс (49643)3-30-85; тел. 8-800-333-33-47, ekolab-sekretar@mail.ru.

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

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

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

КРАТКАЯ СХЕМА ПОСТАНОВКИ РИФ

Комплект № 1
(Набор реагентов «Антипаллидум-Флюороген-IgM»)

Подготовка образцов	Восстановление сухого ультрасорбента в 10 мл РБР 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 ^{0}C, 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 ^{0}C, 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)	

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

Комплект № 2
(Набор реагентов «Антипаллидум-Флюороген-IgG»)

Подготовка образцов	Развести ультрасорбент в 5 мл. РБР Исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови и контрольные образцы $К^{+}_{слаб}$ и $К_{несп}$ 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 ^{0}С, 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 ^{0}С, 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)	

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