

"УТВЕРЖДАЮ"

Генеральный директор
АО "ЭКОлаб"

Т.Ю.Гашенко
"4" 09 2023 г.

ИНСТРУКЦИЯ по применению

набора реагентов «Тест-система для выявления антител к отдельным
антигенам возбудителя сифилиса методом иммунного блоттинга
с использованием рекомбинантных антигенов»
"Лайн-Блот Сифилис"

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «Тест-система для выявления антител к отдельным антигенам возбудителя сифилиса методом иммунного блоттинга с использованием рекомбинантных антигенов» "Лайн-Блот Сифилис" предназначен для качественного выявления антител классов G и M к *Treponema Pallidum* методом линейного иммуноблоттинга и подтверждение результатов скрининговых исследований (в РПР, РПГА или ИФА) образцов сыворотки (плазмы) крови или ликвора человека на присутствие антител указанных классов к *Treponema Pallidum* при "ручной" постановке и с использованием систем для автоматизации иммуноблоттинга.

Функциональное назначение: подтверждение и диагностика. Применение изделия не имеет популяционных и демографических ограничений.

Для однократного применения набора по назначению.

Для клинической лабораторной диагностики *in vitro*.

Показания и противопоказания к применению изделия

Изделие предназначено для подтверждения результатов скринингового обследования на сифилис-инфекцию.

Противопоказаний не существует.

Потенциальные потребители изделия

Лабораторные подразделения лечебно-профилактических учреждений.

Профессиональный уровень потенциальных пользователей

Врач клинической лабораторной диагностики, медицинский лабораторный техник.

Описание целевого анализа, сведения о его научной обоснованности

Сифилис - инфекционное венерическое заболевание, вызываемое бледной трепонемой (*Treponema pallidum*), характеризуется волнообразным прогрессирующим течением и разнообразными клиническими проявлениями с чередованием манифестных и скрытых периодов. Сифилис, как правило, передается во время полового контакта, а также при гемотрансфузии, вертикальным (от матери – плоду) и бытовым путями. На протяжении инфекционного процесса клинические проявления заболевания могут отсутствовать или проявляться в виде высыпаний или язв на коже и иных неспецифических симптомов (увеличении лимфатических узлов, общего недомогания и пр.). Развитие заболевания сопровождается распространением возбудителя в организме с поражением внутренних органов, костей, суставов, сердечно-сосудистой системы и ЦНС.



КОПИЯ ВЕРНА

Гашенко Т.Ю.
ГЕН. ДИРЕКТОР АО «ЭКОлаб»

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.

После проникновения инфекционного агента (*Treponema pallidum*) в организме больного начинают вырабатываться различные антитела: реагены (преципитины), агглютинины, антитела классов М и G (IgM и IgG). IgM выявляются первыми (на 2 неделе); затем (через 6–9 недель) их концентрация снижается вследствие замены на IgG, вплоть до исчезновения. Рецидив заболевания или повторное заражение ведет к нарастанию концентрации IgM. IgG в детектируемых количествах появляются в крови через 3–4 недели от момента заражения; концентрация их нарастает и постепенно преобладает над IgM и, достигнув максимума, сохраняется длительное время (годы и десятилетия) даже после проведенной терапии.

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 врожденного сифилиса, а также поздних форм инфекции. Чаще всего используются серологические методы лабораторной диагностики, основанные на выявлении антител, в сочетании с эпидемиологической и клинической картинами заболевания.

Различают нетрепонемные и трепонемные тесты. Нетрепонемные тесты направлены на выявление антител к кардиолипину, фосфолипиду, компоненту клеточной и митохондриальной мембран бактерий. Трепонемные тесты выявляют антитела, направленные конкретно против антигенов, компонентов бактерий *T. pallidum*. К ним относятся реакция пассивной гемагглютинации, реакция иммунофлуоресценции, метод иммуноферментного анализа и метод иммуноблоттинга.

Метод иммуноблоттинга используется в качестве теста для подтверждения скрининговых методов исследования или в качестве дополнительной диагностики сифилиса, при подозрении на наличие данного заболевания, но отрицательных результатах других исследований.

СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

Набор выпускается в шести базовых вариантах комплектации:

Название	Описание	Комплект					
		№ 1/1	№ 1/2	№ 1/3	№ 2/1	№ 2/2	№ 2/3
Иммуносорбент	полоски (стрипы) из нитроцеллюлозной мембраны белого цвета, с нанесенными на них в виде отдельных поперечных полос: <ul style="list-style-type: none"> рекомбинантных аналогов антигенов <i>Treponema pallidum</i> (TpN15, TpN17, TmpA, TpN47), а также пять контрольных линий: контроли интенсивности окрашивания: <ul style="list-style-type: none"> линия с минимальной интенсивностью окрашивания ("0,5+") линия со средней интенсивностью окрашивания ("1+"). линия с максимальной интенсивностью окрашивания ("3+"); контроль внесения 	24 стрипа	36 стрипов	48 стрипов	24 стрипа	36 стрипов	48 стрипов



КОПИЯ ВЕРНА
 Гашенко Т. Ю.
 Ген. директор АО «ЭКОлаб»

	образца (Кво) • контроль специ- фичности реакции (КАГ) (см. рис. 1.) нанесенные на стрипы ан- тигены визуально не опре- деляются. Стрипы промар- кированы и находятся в пластмассовом контейнере (пробирке) с крышкой.						
Контрольный положительный образец (К ⁺)	инактивированный; про- зрачная светло-желтого цвета жидкость	1 фл. (0,2 мл)	1 фл. (0,2 мл)	1 фл. (0,2 мл)	-	-	-
Контрольный отрицательный образец (К ⁻)	инактивированный; про- зрачная светло-желтого цвета жидкость	1 фл. (0,2 мл)	1 фл. (0,2 мл)	1 фл. (0,2 мл)	-	-	-
Конъюгат	антитела козы к IgG чело- века, конъюгированные со щелочной фосфатазой в стабилизирующем раство- ре; прозрачная слегка пе- нящаяся фиолетового цвета жидкость	1 фл. (45 мл)	2 фл. (по 40 мл)	2 фл. (по 45 мл)	-	-	-
	антитела козы к IgM чело- века, конъюгированные со щелочной фосфатазой в стабилизирующем раство- ре; прозрачная слегка пе- нящаяся фиолетового цвета жидкость	-	-	-	1 фл. (45 мл)	2 фл. (по 40 мл)	2 фл. (по 45 мл)
Раствор для разведения об- разцов (РРО)	мутная, слегка пенящаяся зеленого цвета жидкость	1 фл. (30 мл)	1 фл. (45 мл)	2 фл. (по 30 мл)	1 фл. (30 мл)	1 фл. (45 мл)	2 фл. (по 30 мл)
10-кратный концентрат промывочного раствора [ПР(х10)]	прозрачная пенящаяся жел- того цвета жидкость	1 фл (50 мл)	2 фл (по 40 мл)	2 фл (по 50 мл)	1 фл (50 мл)	2 фл (по 40 мл)	2 фл (по 50 мл)
Субстратный раствор (СР)	прозрачная светло-желтого цвета жидкость	1 фл (45 мл)	4 фл (по 20 мл)	2 фл (по 45 мл)	1 фл (45 мл)	4 фл (по 20 мл)	2 фл (по 45 мл)
РФ-сорбент	прозрачная или слегка опа- лесцирующая, бесцветная или слегка желтоватого цвета жидкость	-	-	-	1 фл. (2 мл)	1 фл. (4 мл)	1 фл. (5 мл)
Фотография референс-стрипа	фотография со стрипом той же серии, что и имму- носорбент, проинкубирован- ным с предварительно аттестованной сывороткой, содержащей антитела IgG/IgM к <i>Treponema</i> <i>pallidum</i> в высоком титре	1 шт	1 шт	1 шт	1 шт	1 шт	1 шт
Пинцет пластиковый	пинцет пластиковый	1 шт.	1 шт.	1 шт.	1 шт.	1 шт.	1 шт.



КОПИЯ ВЕРНА
подпись: *Гашенко Т. Ю.*

Гашенко Т. Ю.
ГЕН. ДИРЕКТОР АО «ЭКОЛАБ»

- Примечания: 1. Набор включает все реагенты, необходимые для постановки линейного иммуноблоттинга, кроме очищенной (дистиллированной или деионизированной) воды.
2. Допускается использование неспецифических реагентов из разных серий.
3. К⁺ и К⁻ не содержат 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.

Дополнительно набор комплектуется принадлежностями:

- планшеты пластмассовые с канавками (по 8 канавок) (по 3 шт. в комплектах №1/1 и №2/1; по 5 шт. комплектах №1/2 и №2/2, по 6 шт. в комплектах №1/3 и №2/3);
- клейкая пленка для планшетов - (по 3 шт. в комплектах №1/1 и №2/1; по 5 шт. комплектах №1/2 и №2/2, по 6 шт. в комплектах №1/3 и №2/3);

Рис. 1. Стандартная схема нанесения антигенов *Treponema pallidum* и контролей на стрип



Примечания:

1. Линия "0,5+" соответствует критическому уровню интенсивности окрашивания.
2. Интенсивность окрашивания линии КВО зависит от концентрации соответствующих антител (G или M) в исследуемом образце.

Компоненты набора упакованы в коробку, в коробку вложена инструкция по применению и протокол учета результатов.

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

ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Набор выпускается в шести базовых вариантах комплектации:

комплект №1/1 "Лайн-Блот Сифилис-IgG" для выявления антител класса G, рассчитан на исследование 24 образцов, включая контрольные (на контрольные образцы используется 2 стрипа).

комплект №1/2 "Лайн-Блот Сифилис-IgG" для выявления антител класса G, рассчитан на исследование 36 образцов, включая контрольные (на контрольные образцы используется 2 стрипа).

комплект №1/3 "Лайн-Блот Сифилис-IgG" для выявления антител класса G, рассчитан на исследование 48 образцов, включая контрольные (на контрольные образцы используется 2 стрипа).

комплект №2/1 "Лайн-Блот Сифилис-IgM" для выявления антител класса M, рассчитан на исследование 24 образцов.

комплект №2/2 "Лайн-Блот Сифилис-IgM" для выявления антител класса M, рассчитан на исследование 36 образцов.

комплект №2/3 "Лайн-Блот Сифилис-IgM" для выявления антител класса М, рассчитан на исследование 48 образцов.

Предусмотрена возможность проведения отдельных исследований с использованием необходимого количества стрипов. При этом допускается исследование контрольных образцов только в первой постановке после вскрытия.

Функциональное назначение.

Подтверждение и диагностика.

Применение изделия не имеет популяционных и демографических аспектов.

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

В основе теста лежит метод непрямого иммуноферментного анализа на нитроцеллюлозной мембране, на которую в виде отдельных полос нанесены рекомбинантные аналоги антигенов *Treponema pallidum* (TpN15, TpN17, TmpA, TpN47), а также контроли специфичности, правильности проведения реакции и контроль внесения образца.

При наличии в исследуемом образце антител к *Treponema pallidum* они связываются с антигенами иммуносорбента; образовавшиеся комплексы антиген-антитело связываются с конъюгатом – козьими антителами к IgG или IgM человека, меченными щелочной фосфатазой, и выявляются по цветной реакции с субстратным раствором, которая приводит к появлению в соответствующих зонах стрипа окрашенных линий; интенсивность окрашивания пропорциональна содержанию антител в исследуемой пробе.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность набора определяется по стандартной панели положительных сывороток предприятия, (СОП⁺-118) как процентное содержание образцов, определенных набором как положительные, и составляет 100%.

Специфичность набора определяется по стандартной панели отрицательных сывороток предприятия, (СОП⁻-118) как процентное содержание образцов, определенных набором как отрицательные, и составляет 100%.

Диагностическая чувствительность набора реагентов: 99,72% - 100% (с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическая специфичность набора реагентов: 99,79% - 100% (с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическая чувствительность для каждого вида биологического материала составила:

Сыворотка крови человека:	99,17% - 100%
Плазма крови человека:	99,45% - 100%
Ликвор человека	98,35%-100%

Диагностическая специфичность для каждого вида биологического материала составила:

Сыворотка крови человека:	99,64 % - 100%
Плазма крови человека:	99,38% - 100%
Ликвор человека	97,05%-100%

Перекрестных иммунологических реакций, обусловленных наличием общих антигенных детерминант у возбудителей *Treponema pallidum* и *Borrelia burgdorferi*, *Chlamydia trachomatis*, возбудителей лептоспирозов (семейство *Leptospira*) не выявлено.

Интерферирующие вещества: гемоглобин, билирубин и триглицериды, в повышенных концентрациях (гемоглобин – до 200 г/л; билирубин – до 120 мкмоль/л; триглицериды – до 11 ммоль/л), не оказывают влияния на результат анализа.

ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Нативная сыворотка, плазма крови (гепаринизированная, с ЭДТА, цитратная, оксалатная) человека или ликвор человека объемом не менее 20 мкл (комплекты №1/1, №1/2, №1/3) или 80 мкл (комплекты №2/1, №2/2, №2/3).

Образцы до исследования хранить при температуре от 2 до 8 °С. При необходимости хранения образцов более 7 дней рекомендуется разделить их на аликвоты и хранить при температуре от минус 20 до минус 70 °С. Размороженные образцы перед исследованием нужно тщательно перемешать. При работе с размороженными образцами следует учитывать, что каждый цикл оттаивания-замораживания приводит к разрушению выявляемых антител, снижая качество исследуемого материала. С целью получения достоверных результатов исследования рекомендуется использовать только однократное замораживание-оттаивание образцов.

Не допускается использование для исследования образцов с повышенным содержанием липидов и (или) с признаками гемолиза, и (или) с видимым микробным проростом.

Образцы, содержащие осадок, перед анализом отцентрифугировать в течение 10-15 мин при 2500-3000 об/мин.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные содержать любые возбудители инфекции.

ПРО содержит азид натрия, ПР(х10) - мертиолят натрия, в безопасной концентрации.

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

Дозаторы пипеточные (пипетки полуавтоматические одно- и многоканальные переменного объема) для внесения реагентов в лунки планшета с погрешностью дозирования не более 5 % с наконечниками полипропиленовыми одноразовыми.

Ручные, или автоматические промыватели, или восьми- и двенадцатиканальные пипеточные дозаторы для промывания лунок планшета.

Центрифуга лабораторная.

Встряхиватель (вортекс).

Автоматическое качающее устройство: шейкер-качалка с углом наклона платформы 6-8° и частотой качания 30-40 об/мин или орбитальный шейкер с диаметром орбиты 10-12 мм и частотой вращения 90-160 об/мин.

Аспиратор вакуумный.

Фильтровальная бумага.

Холодильник бытовой.

Мерные стаканы или цилиндры вместимостью от 25 до 1000 мл.

Вода очищенная (дистиллированная или деионизированная).

70 %-ный раствор спирта этилового и 6 %-ный раствор перекиси водорода (дез.растворы) или растворы иных дезинфектантов, разрешенных к применению СП 1.32322-08, кроме хлорсодержащих.

Подготовка к проведению анализа

Перед использованием все компоненты набора и исследуемые образцы довести до комнатной температуры от 18 до 25°C (пробирку со стрипами выдерживать при указанной температуре до вскрытия!).

1. Приготовление растворов и реагентов

1.1. Приготовление рабочего промывочного раствора (ПР)

При использовании системы для автоматизации иммуноблоттинга или при одновременном использовании всех стрипов в "ручной" постановке содержимое флакона с ПР(х10) перелить в мерную емкость (вместимостью 500, 800 либо 1000 мл соответственно для каждого комплекта) и водой очищенной довести объем жидкости до метки; тщательно перемешать.

При дробной "ручной" постановке отобрать необходимый объем ПР(х10), довести до заданного объема водой очищенной, тщательно перемешать; объемы ПР(х10) и воды, необходимые для постановки с использованием разного числа стрипов, приведены в табл. 1.

Таблица 1

Количество стрипов	4	8	12	16	20	24	28	32	36	40	44	48
ПР(х10), мл	8	16	24	32	40	48	56	64	72	80	88	100
Вода очищенная, до ...мл	80	160	240	320	400	480	560	640	720	800	880	1000

Примечание. При использовании числа стрипов, не указанного в таблице, необходимые объемы реагентов определять, исходя из расчета 1 мл ПР(х10) и до 10 мл воды очищенной на 1 стрип.

Готовый раствор хранить при температуре от 18 до 25 °С не более 15 суток; при температуре от 2 до 8 °С – не более 30 суток.

1.2. Подготовка остальных реагентов

Иммуносорбент, К+, К-, РРО, конъюгат, РФ-сорбент, СР – готовы к применению. Растворы перед использованием обязательно перемешать осторожным встряхиванием флаконов.

После вскрытия упаковок неиспользованные реагенты (кроме иммуносорбента) хранить в плотно закрытой упаковке при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности.

Подготовка образцов (только для комплектов №2/1, №2/2, №2/3)

Перед исследованием образца на IgM-антитела для получения более достоверного результата следует удалить из него IgM антитела ревматоидного фактора (повышенный уровень которых характерен для ревматоидного артрита), а также избыток IgG антител.

Для этого исследуемый образец необходимо

- предварительно развести в соотношении 1:1 РФ-сорбентом (например, к 80 мкл РФ-сорбента добавить 80 мкл исследуемого образца),
- выдержать 30 мин при комнатной температуре,
- центрифугировать 5 мин при 2000 об/мин при комнатной температуре,

- отобрать супернатант и сразу же исследовать его, как описано ниже.

2. Проведение анализа

“Ручная” постановка

2.1. Подготовить необходимое количество планшетов. Открыть пробирку со стрипами. Необходимое число стрипов (один стрип на каждый исследуемый и контрольный образец) осторожно по одному извлечь из контейнера пинцетом и поместить в канавки планшета (планшетов) маркированной стороной вверх. Плотнo закрыть контейнер с неиспользованными стрипами и поместить его для последующего хранения при температуре от 2 до 8 °С.

2.2. В канавки планшета (планшетов) со стрипами внести по 1 мл РРО, выдержать 3-5 мин при встряхивании на шейкере при скорости качания платформы 30-40 об/мин при температуре от 18 до 25 °С.

Внимание! Следите, чтобы при инкубациях и отмывках стрипы были полностью погружены в жидкость (не плавали частично на поверхности буфера), а реагенты во избежание смешивания не переливались через бортики канавок.

2.3. Отдельными наконечниками внести по 20 мкл контрольных (K^+ и K^-) и исследуемых образцов (для комплектов № 1/1, №1/2, №1/3) или по 40 мкл супернатанта, полученного в результате предварительной обработки образца (для комплектов № 2/1, №2/2, №2/3).

Внимание! Внесение образцов должно сопровождаться быстрым и тщательным перемешиванием автоматической пипеткой. При внесении каждого (исследуемого и контрольного) образца необходимо регистрировать номер соответствующего ему стрипа.

2.4. Заклеить занятые дорожки клейкой пленкой или закрыть крышкой. Поместить планшет на шейкер. Инкубировать 2 ч на шейкере при температуре от 18 до 25 °С.

2.5. Не позднее, чем за 5-10 мин до окончания инкубации приготовить рабочий промывочный раствор (см. п. *Приготовление рабочего промывочного раствора*).

2.6. После инкубации удалить жидкость из канавок планшета, используя автоматическую пипетку или вакуумный насос, в емкость, содержащую дезинфицирующий раствор.

Внимание! Следует соблюдать осторожность, чтобы при удалении растворов из канавки не выпал стрип. Наконечник отсасывающего устройства после каждого контакта с различными образцами следует промывать дистиллированной водой или использовать для каждого образца отдельный одноразовый наконечник во избежание перекрестной контаминации. Следите, чтобы капли влаги не оставались под стрипом. При необходимости осторожно приподнимите стрип пинцетом и удалите из-под него остатки влаги.

2.7. Промыть каждый стрип 4 раза рабочим промывочным раствором, внося в канавку по 2 мл раствора.

При первой промывке раствор удалить из лунки, как указано в п. 2.6, сразу после внесения.

При последующих трех промывках после внесения промывочного раствора выдерживать планшет по 5 мин на шейкере. Удаление промывочного раствора проводить, как указано в п.2.6.

2.8. Во все использованные канавки планшета внести по 1,0 мл конъюгата.

2.9. Инкубировать в течение 30 мин при температуре от 18 до 25 °С на шейкере.

2.10. После инкубации удалить жидкость из канавок планшета, как указано в п. 2.6. Промыть стрипы, как указано в п. 2.7.

Внимание! Промывку и удаление жидкости после реакции с конъюгатом выполняйте особенно аккуратно, т.к. даже следы конъюгата при контакте с субстратным раствором, могут привести к неспецифическому окрашиванию всего стрипа, а не отдельных полос.

2.11. Внести во все использованные канавки по 1,0 мл субстратного раствора. Инкубировать 10 мин на шейкере в защищенном от света месте при температуре от 18 до 25 °С до появления на стрипе окрашенных линий.

2.12. Для остановки реакции удалить субстратный раствор, как указано в п. 2.6.

Промыть стрипы 4 раза, внося в канавки по 2 мл воды очищенной и выдерживая планшет по 1 мин на шейкере. Воду удалять, как указано в п. 2.6.

2.13. Поместить стрипы между двумя листами фильтровальной бумаги маркированной стороной вверх и выдержать в защищенном от света месте до полного высыхания, после чего сразу же зарегистрировать результаты.

Регистрация и учет результатов.

Регистрацию результатов проводить визуально, сравнивая интенсивность окраски антигенных линий с интенсивностью окраски контрольных линий по табл. 2

Таблица 2

Интенсивность окрашивания антигенных линий	Оценка
Окрашивание отсутствует или менее интенсивно, чем "0,5+"	-
Интенсивность окрашивания равна "0,5+"	0,5+
Интенсивность окрашивания выше, чем "0,5+", но ниже или равна "1+"	1+
Интенсивность окрашивания выше, чем "1+", но ниже, чем "3+"	2+
Интенсивность окрашивания равна "3+"	3+
Интенсивность окрашивания выше, чем "3+"	4+

Результаты, полученные на стрипах с исследуемыми образцами, учитывать только при соблюдении следующих условий:

- контрольная линия внесения образца сыворотки или плазмы (K_{BO}) окрашена;

Внимание! При исследовании образцов спинномозговой жидкости (ликвора) линия КВО может быть окрашена слабо или не быть окрашена совсем, вследствие пониженного содержания в них соответствующих антител (G или M).

- контрольная линия специфичности реакции (K_{AG}) не окрашена;

- хорошо различимы контрольные линии интенсивности окрашивания с четкой их дифференциацией (контрольная линия "3+" окрашена интенсивнее, чем линия "1+"; а линия "1+" окрашена интенсивнее, чем линия "0,5+");

- окрашивание K^- и K^+ в комплектах № 1/1, №1/2, №1/3 соответствует табл. 3.

Таблица 3

Образец	Окрашивание линии					
	TrN15	TrN17	TrpA	TrN47	K_{BO}	K_{AG}
K^-	-	-	-	-	+	-
K^+	не ниже "0,5+"	не ниже "1+"	не ниже "1+"	не ниже "1+"	+	-

Если данные условия не соблюдаются, исследование необходимо повторить.

Окрашивание линии контроля специфичности реакции (K_{AG}) означает, что образец дает неспецифическую реакцию (из-за наличия большого количества антител к бактериальным антигенам или вследствие несоблюдения правил приготовления и хранения сывороток). В этом случае повторное исследование необходимо проводить со вновь полученным образцом.

При исследовании образцов сыворотки (плазмы) неокрашенная линия K_{BO} означает отсутствие образца. Слабое окрашивание линии K_{BO} также может быть следствием его разведения, снижающего содержание в нем соответствующих антител (G или M).

Для оптимального учета результатов проявленные стрипы рекомендуется прикреплять к протоколу так, чтобы контрольные линии интенсивности 3+ у всех стрипов и соответствующая линия на рисунке протокола были на одном уровне. В этом случае проявленные антигенные линии будут находиться на уровне линий соответствующих антигенов на рисунке протокола. Для закрепления стрипов на протоколе можно использовать полосы из защитной пленки для планшет, которыми комплектуется набор.

При соблюдении вышеперечисленных условий интерпретировать результаты, полученные на стрипах с исследуемыми образцами, используя табл. 4.

Таблица 4

Наличие и интенсивность антигенных линий на стрипе	Результат исследования
Нет окрашенных линий или есть только одна линия с интенсивностью окрашивания, равной "0,5+"	Отрицательный

Есть только одна линия с интенсивностью окрашивания, не меньшей "1+"	Неопределенный
Есть не меньше двух линий с интенсивностью окрашивания, не меньшей "0,5+"	Положительный

При получении неопределенного результата рекомендуется провести повторное исследование; если в нем вновь будет получен неопределенный результат, рекомендуется взятие крови через 3-4 недели с проведением нового исследования на выявление антител к антигенам *Treponema pallidum*.

Интерпретация результатов.

Антителообразование при сифилисе

Через 2-3 недели после инфицирования, появляются IgM-антитела. После коррективного лечения в первичной стадии титр IgM-антител снижается за 6 мес. до практически не выявляемых величин. После коррективного лечения во вторичной или третичной стадии IgM-антитела могут обнаруживаться до 24 месяцев. При отсутствии или недостаточном лечении IgM-антитела могут выявляться в течение многих лет, что может свидетельствовать о переходе инфекции в скрытую хроническую форму. Примерно у 2 % пациентов, не получающих терапию, IgM-антитела исчезают и при хронической инфекции на фоне высоких титров IgG-антител. Предполагается, что в этих случаях синтез IgM-антител блокирован высоким титром IgG-антител. Нет различий в динамике образования IgM-антител между первичной и вторичной инфекцией, если первичная инфекция была вылечена своевременно до исчезновения IgM-антител.

IgG антитела появляются обычно на 4-й неделе после заражения и, как правило, достигают более высоких титров, чем IgM. Антитела этого класса могут сохраняться даже после клинического излечения пациента до 20 лет и более.

При вторичной инфекции можно наблюдать резкое повышение титра IgG-антител (эффект усиления их синтеза, начавшегося после первичной инфекции). Одновременно может происходить ингибирование синтеза IgM-антител. В этом случае специфические IgM-антитела синтезируются спустя некоторое время и обнаруживаются только в очень низких титрах. По этой причине вторичные и многократные инфекции часто проявляются только повышением титров IgG-антител без появления IgM-антител.

При скрининговых исследованиях в качестве отборочного теста обычно используют одновременное выявление суммарных (IgG и IgM) антител. Для уточнения диагноза большое значение имеет последующее выявление IgM-антител и динамика титра

Результаты оценки в тест-системе		Интерпретация
«Лайн-Блот Сифилис IgM»	«Лайн-Блот Сифилис IgG»	
Отрицательный	Отрицательный	1. Нет указаний на сифилис 2. В случаях подозрения на раннюю стадию сифилиса (от момента возможного заражения прошло менее 2 недель) рекомендуется повторный контроль в кратчайшие сроки, а также дифференциация с мягким шанкром и генитальным герпесом
Положительный	Отрицательный	Недавнее инфицирование (от момента заражения прошло менее 4 недель)
Положительный	Положительный	1. От момента заражения прошло 4 и более недель. 2. По клиническим симптомам – указание на активный вторичный сифилис. 3. В случаях подозрения на врожденный сифилис специфические IgM-антитела указывают на инфекцию у ребенка. IgG-антитела могут передаваться от матери
Отрицательный	Положительный	Указание на прошлую инфекцию (заражение было давно, либо сифилис успешно пролечен) или сероконверсию. IgG антитела могут сохраняться годами

Постановка с использованием систем для автоматизации иммуноблоттинга

Подготовить прибор в соответствии с инструкцией по его эксплуатации, ввести программу анализа, соответствующую используемому набору, и провести анализ.

СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности набора - 18 месяцев. Набор с истекшим сроком годности использованию не подлежит.

ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ

Наборы реагентов, хранившиеся и транспортировавшиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат.

Хранение

Замораживание не допускается!

Хранение наборов должно осуществляться в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный 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 регламентированный температурный режим, при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности.

Транспортирование

Замораживание не допускается!

При температуре от 2 до 8 °С транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. Допускается транспортирование при температуре от 9 до 25 °С в течение 15 сут.

УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для учреждений здравоохранения.

ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Набор реагентов «Тест-система для выявления антител к отдельным антигенам возбудителя сифилиса методом иммунного блоттинга с использованием рекомбинантных антигенов», "Лайн-Блот Сифилис" соответствует ТУ 9398-118-70423725-2020, Национальным стандартам РФ и нормативным документам в части требований безопасности и эффективности (см. Сведения о нормативной документации).

По вопросам, касающимся качества и обращения набора реагентов "Лайн-Блот Сифилис" следует обращаться по адресу 142530 Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1-1а, Акционерное Общество «ЭКОлаб» (АО "ЭКОлаб"); тел. 8(49643)3-23-11, 3-30-93, 3-30-85, 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



С.Г. Марданлы

КОПИЯ ВЕРНА
ПОДПИСЬ
Гашенко Т.Ю.
ГЕН. ДИРЕКТОР АО «ЭКОлаб»

КРАТКАЯ СХЕМА ПОСТАНОВКИ **(Лайн-Блот Сифилис)**

Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией

Внести	в канавки планшета по одному стрипу для каждого контрольного и исследуемого образца; в каждую канавку – по 1 мл РРО
Инкубация	3-5 мин, 18-25 °С, на шейкере (30-40 об/мин)
Внести	по 20 мкл контрольных и исследуемых образцов (комплекты № 1/1, №1/2, №1/3) по 40 мкл супернатанта (комплекты № 2/1, №2/2, №2/3)
Инкубация	2 ч, 18-25 °С, на шейкере (30-40 об/мин)
Промыть	4 раза ПР (1+3 раза по 5 мин.)
Внести	в каждую канавку по 1,0 мл конъюгата
Инкубация	30 мин, 18-25 °С, на шейкере (30-40 об/мин)
Промыть	4 раза ПР (1+3 раза по 5 мин.)
Внести	в каждую канавку по 1,0 мл СР
Инкубация	10 мин, 18-25 °С, на шейкере (30-40 об/мин) в темноте
Промыть	4 раза водой очищенной по 1 мин.
Высушить стрипы между листов фильтровальной бумаги и зарегистрировать результаты	

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ НА УПАКОВКЕ И ЭТИКЕТКАХ

IVD	Только для диагностики <i>in vitro</i>
	Биологический риск
	Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению
	Хранить при температуре



КОПИЯ ВЕРНА

подпись

Гашенко Т. Ю.
Ген. директор АО «ЭКОЛАБ»