



"УТВЕРЖДАЮ"

Генеральный директор
АО "ЭКОлаб"

Т.Ю.Гашенко

ИНСТРУКЦИЯ
по применению
Набора реагентов для выявления антител к кардиолипину
в реакции флоккуляции
(Сифилис RPR –тест)

Регистрационное удостоверение № ФСР 2007/00406 от 08.10.19 г.

НАЗНАЧЕНИЕ

«Набор реагентов для выявления антител к кардиолипину в реакции флоккуляции (Сифилис RPR-тест)» предназначен для качественного и полуколичественного определения неспецифических реактивных антител при выявлении бактериальной инфекции *Treponema pallidum*, связанной с сифилисом.

Для серодиагностики сифилиса и контроля результатов его лечения

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.

Описание целевого анализа, сведения о его научной обоснованности

Сифилис – хроническое инфекционное заболевание, которое вызывается бледной трепонемой и характеризуется системным поражением организма и стадийным прогрессирующим течением. Сифилис относят к числу социально значимых инфекций.

Возбудитель сифилиса - Бледная трепонема (лат. *Treponema pallidum*) — вид грамотрицательных спирохет, *T. pallidum* подвида *pallidum*.

Пути заражения: половой, бытовой, трансплантационный (внутриутробное инфицирование плода от инфицированной матери), гемотрансфузионный.

Выделяют 5 форм сифилиса: первичный сифилис, вторичный сифилис, третичный сифилис, нейросифилис, врожденный сифилис.

Для сифилиса характерно волнообразное течение со сменой периодов заболевания. Пути протекания сифилиса:

- Скрыто с переходом в поздний нейросифилис;
- Манифестно;
- При трансфузионном пути заражения сразу развитие вторичного сифилиса.

Методы диагностики.

Действующий приказ Министерства Здравоохранения РФ № 87 от 26 марта 2001 года «О совершенствовании серологической диагностики сифилиса» предусматривает использование для серо- и ликвордиагностики сифилиса следующих реакций:

- Микрореакция преципитации (МР) с кардиолипинным антигеном или ее модификации (RPR- РПР, TRUST - ТРАСТ, VDRL - ВДРЛ).
- Иммуноферментный анализ (ИФА).
- Реакция пассивной гемагглютинации (РПГА).
- Реакция иммунофлюоресценции (РИФ) в модификациях.

- Комплекс серологических реакций на сифилис (КСР), состоящий из реакции связывания комплемента (РСК) с трепонемным и кардиолипидным антигенами и МР.

- Реакция иммобилизации бледных трепонем (РИТ).

При этом нетрепонемные тесты (МР и РСК с кардиолипидным антигеном) используются лишь как отборочные, а так же при контроле эффективности лечения, т.к. после проведенной терапии у пациентов наблюдается снижение реагиновых антител к *Treponema pallidum*.

Прогноз при лечении первичного и вторичного сифилиса благоприятный. Поздние стадии заболевания приводят к тяжёлым поражениям сердечнососудистой, нервной систем, слепоте, психическим расстройствам и смерти.

СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

Набор выпускается в четырех вариантах комплектации:

комплекты № 1, №3 (рассчитаны на 100 определений);

комплекты № 2, №4 (рассчитаны на 500 определений).

Наименование компонента	Описание	Комплект № 1	Комплект № 2	Комплект № 3	Комплект № 4
Реагент 1 (RPR-антиген)	водная 0,02 % суспензия угольных частиц сенсibilизированных смесью кардиолипина, лецитина и холестерина; однородная суспензия от серого до черного цвета, при хранении разделяющаяся на черный осадок и прозрачную бесцветную надосадочную жидкость.	1 фл. (2,0 мл)	5 фл. (по 2,0 мл)	1 фл. (2,0 мл)	5 фл. (по 2,0 мл)
Реагент 2 положительная контрольная сыворотка (K ⁺)	жидкая сыворотка крови человека, содержащая антитела к кардиолипидному антигену в титре не ниже 1:4 (титр указывается в паспорте каждой серии); не содержит антител к вирусу гепатита С, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, а также HBsAg, инактивированная; прозрачная бесцветная или светло-желтая жидкость.	1 фл. (1,0 мл)	2 фл. (по 1,0 мл)	1 фл. (1,0 мл)	2 фл. (по 1,0 мл)
Реагент 3 отрицательная контрольная сыворотка (K ⁻)	жидкая сыворотка крови человека, не содержащая антитела к кардиолипидному антигену; не содержит антител к вирусу гепатита С, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, а также HBsAg, инактивированная; прозрачная бесцветная или светло-желтая жидкость	1 фл. (1,0 мл)	2 фл. (по 1,0 мл)	1 фл. (1,0 мл)	2 фл. (по 1,0 мл)
Карточки для реакции	прямоугольные карточки из плотного картона, на лицевой поверхности которых намечены 12 пронумерованных ячеек диаметром 18-20 мм	10 шт.	50 шт.	10 шт.	50 шт.
Флакон-диспенсер	флакон из полупрозрачного мягкого эластичного пластика	1 шт.	1 шт.	-	-
Игла дозирующая	игла с тупым концом и канюлей, плотно надевающейся на горловину флакона-диспенсера	1 шт.	1 шт.	-	-

Примечания. 1. Набор включает все реагенты, необходимые для постановки реакции флоккуляции, кроме физиологического раствора.

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).

В составе изделия отсутствуют лекарственные средства и фармацевтические субстанции.

По желанию потребителя набор может дополнительно комплектоваться принадлежностями: палочками для смешивания, которые поставляются упакованными в отдельные пакеты по 100 или 500 шт.

В комплект поставки входят реагенты, карточки для реакции, палочки для смешивания (по запросу).

ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Набор рассчитан на проведение 100 или 500 определений, включая контрольные образцы.

Методы стерилизации изделия

Изделие не требует стерилизации.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Тест основан на взаимодействии кардиолипинового антигена с соответствующими антителами (реагинами) в сыворотке или плазме больного сифилисом. Для усиления видимых различий между положительным и отрицательным результатом реакции к антигену добавлены угольные частицы. При наличии в пробе реагинов образуются черные агрегаты, видимые невооруженным глазом. В отсутствие реагинов флоккуляция не происходит, и угольная суспензия сохраняет однородность.

ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Сыворотка нативная или прогретая при температуре $56 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение 30 мин или плазма (с гепарином, цитратом натрия, ЭДТА) объемом 50 мкл на 1 исследование.

Нельзя использовать гемолизированные, хилезные или проросшие образцы.

Реакцию проводят с получаемыми стандартными методами сывороткой, нативной или прогретой (30 мин при $56 \pm 1^\circ\text{C}$), плазмой крови.

Образцы сыворотки, плазмы, предназначенные для исследования, могут храниться от 2 до 8 $^\circ\text{C}$ не более 7 сут, допустимо их длительное хранение (не более 6 мес.) в замороженном состоянии при температуре минус 20°C и ниже. Повторное замораживание размороженных образцов не допускается.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Специфическая активность реагента 1 (RPR-антигена). Реагент 1 (RPR-антиген) должен давать положительную реакцию со стандартными образцами предприятия, содержащими антитела к кардиолипinovому антигену (СОП⁺-024) и давать отрицательную реакцию со стандартными образцами предприятия, не содержащими антитела к кардиолипinovому антигену (СОП-024). Титр (СОП⁺-024), определенный в исследовании, может отличаться от паспортного значения не более чем в два раза (на 1 разведение).

Специфическая активность реагентов 2 и 3 (К+ и К-). Реагент 2 (К+) должен давать положительную реакцию с реагентом 1 (RPR-антигеном) в титре не ниже 1:4.

Реагент 3 (К-) должен давать отрицательную реакцию с реагентом 1 (RPR-антигеном).

Аналитическая специфичность: При исследовании образцов с содержанием до 200 г/л гемоглобина, 120 мкмоль/л билирубина и 11 ммоль/л триглицеридов в «Наборе реагентов для выявления антител к кардиолипinovому антигену в реакции флоккуляции (Сифилис RPR-тест)» интерференция не наблюдалась.

Эквивалентность образцов сыворотки и плазмы крови человека.

Эквивалентность образцов сыворотки и плазмы крови человека дополнительно была подтверждена на положительных и отрицательных образцах сыворотки и плазмы крови человека, полученных от одних и тех же 25 больных сифилисом и 25 здоровых доноров.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 26 (Приказ МЗ РФ №4н от 6 июня 2012 г.).

Меры предосторожности при работе с набором – соблюдение «Инструкция по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», Минздрав СССР 17 января 1991 г.

Реагенты 2 и 3 содержат натрия азид в безопасной конечной концентрации.

Набор реагентов, в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» относится к классу Б (эпидемиологически опасные отходы).

Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 "Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами" и МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

Для контроля качества набора исследование K^+ и K^- необходимо проводить с каждой серией исследуемых образцов.

Образцы для внешнего контроля качества должны быть протестированы в соответствии со стандартами качества, установленными в вашей лаборатории.

Оборудование и материалы

- Шейкер орбитальный (любой марки с амплитудой колебаний 10-20 мм, скоростью вращения в диапазоне 100 - 200 об/мин.).
- Дозаторы (пипетки полуавтоматические одноканальные переменного объема) с погрешностью дозирования не более 5%;
- Физиологический раствор - 0,9 % раствор натрия хлористого в воде очищенной (дистиллированной или деионизированной).

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. Подготовка к исследованию

Все реагенты до начала анализа выдержать 15-20 мин при комнатной температуре.

Суспензию RPR-антигена взболтать до однородного состояния.

Для Комплектов №1, №2 подготовить систему дозирования антигена, для чего снять крышку с флакона-диспенсера и плотно насадить иглу на его горловину.

Наполнить флакон-диспенсер RPR-антигеном, опустив конец иглы во флакон с суспензией. RPR-антиген наносить, держа флакон-диспенсер строго вертикально иглой вниз.

Для Комплектов №3 и №4 использовать дозатор (пипетку).

2. Проведение анализа

Качественное определение

1. Дозатором (пипеткой) нанести по 50 мкл K^+ , K^- и исследуемых образцов на ячейки одноразовой карточки (одна ячейка на образец). Распределить жидкость по всей поверхности ячейки наконечником пипетки или палочкой для перемешивания.

Внимание:

Для каждого образца использовать отдельный наконечник!

При работе с карточками нельзя прикасаться пальцами к ячейкам!

2. Нанести на все ячейки по 16 мкл (по одной капле) RPR антигена. Карточки поместить на платформу орбитального шейкера, закрепить в соответствии с конструкцией шейкера, и вращать в горизонтальной плоскости 8 мин со скоростью 180 об/мин. Сразу же после этого произвести учет результатов.

Полуколичественное определение (определение титра)

Проводится только с образцами, давшими положительную реакцию.

1. Приготовить на одноразовых карточках серийные двукратные разведения исследуемых образцов и K^+ – от 1:2 до 1:1024. Использовать отдельную карточку для каждого образца.

При работе с карточками нельзя прикасаться пальцами к ячейкам!

Нанести по 50 мкл (по одной капле) физиологического раствора на все тестовые ячейки. Затем в ячейку № 1 первой карточки добавить 50 мкл (одну каплю) первого исследуемого образца и перемешать с физиологическим раствором. После этого отобрать из ячейки № 1 50 мкл (одну каплю) разведенного 1:2 образца, перенести в ячейку № 2 и перемешать. Повторить процедуру до получения последнего разведения (1:1024) в ячейке № 10. Наконечником пипетки или палочкой для перемешивания, распределить капли по всей поверхности ячеек, двигаясь от большого разведения к меньшему.

Нанести на все ячейки по 16 мкл (по одной капле) RPR-антигена. Поместить карточки на платформу орбитального шейкера, закрепить в соответствии с конструкцией шейкера, и вращать в горизонтальной плоскости 8 мин при 180 об/мин. Сразу же после этого произвести учет результатов, начиная с K^+ .

РЕГИСТРАЦИЯ И УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты анализа учитывать при выполнении условий:

Реагент 2 (K^+) должен давать положительную реакцию с реагентом 1 (RPR-антигеном) в титре не ниже 1:4 и отличаться от паспортного значения не более чем в два раза (на 1 разведение).

Реагент 3 (K^-) должен давать отрицательную реакцию с реагентом 1 (RPR-антигеном).

Качественное определение

Положительная реакция – в пробе видны большие, средние или мелкие агрегаты.

Отрицательная реакция – видимые агрегаты в пробе отсутствуют.

Примечание: Наличие в пробе после реакции разводов или неравномерности окраски при отсутствии видимых агрегатов не является признаком положительной реакции

Полуколичественное определение

Результаты титрования учитывать также как при качественном определении.

Титром антител к RPR-антигену в образце считается последнее разведение, в котором получена положительная реакция (различаются видимые агрегаты).

Титр антител в исследуемом образце учитывают при условии, что титр антител в K^+ , полученный в реакции, соответствует паспортному значению или отличается от значения, указанного в паспорте, не более чем на одно разведение.

Примечание: Наличие реагинов (антител к кардиолипину) в сыворотке или плазме человека может иметь место помимо сифилиса также при ряде других заболеваний и физиологических состояний организма, таких как инфекционный мононуклеоз, беременность, вирусная пневмония, системная красная волчанка, ревматоидный артрит, малярия, лепра и др. В связи с этим все положительные результаты, полученные с помощью набора "Сифилис RPR-тест", должны быть подтверждены с помощью наборов специфическими методами исследования, использующими трепонемный антиген (рекомендуется использовать "Сифилис-РПГА-тест" или соответствующие иммуноферментные тест-системы).

СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности набора – 2 года. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ

Хранение

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

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 °C до истечения срока годности. Вскрытые пакеты с карточками хранить при комнатной температуре.

Транспортирование

Транспортирование наборов – при температуре от 2 до 8 °C 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 10 сут. Замораживание не допускается.

УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для учреждений здравоохранения.

ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Производство имеет сертифицированную на соответствие требованиям международных стандартов ISO 9001:2015, ISO 13485:2003 систему менеджмента качества.

«Набор реагентов для выявления антител к кардиолипину антигену в реакции флоккуляции (Сифилис RPR-тест)», соответствует Национальным стандартам РФ и нормативным документам в части требований безопасности и эффективности.

По вопросам, касающимся качества и обращения набора " **Сифилис RPR-тест**", следует обращаться по адресу 142530 Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1-1А, АО "ЭКОлаб"; тел. (49643) 3-23-11, факс (49643) 3-30-93 – отдел сбыта, (49643) 3-37-30 – ОБТК.

Директор АО "ЭКОлаб"
по научной работе



С.Г. Марданлы