

«УТВЕРЖДАЮ»

Главный государственный  
санитарный врач  
Российской Федерации

Г. Г. Онищенко  
«15» \_\_\_\_\_ 2010 г.

№ 01-11/2-10

## ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов  
“ИФА-АНТИ-ЛЮИС”

Тест-система иммуноферментная для выявления антител  
к возбудителю сифилиса

Набор 1

“ИФА-АНТИ-ЛЮИС-GM” - выявление антител классов G и M

## Содержание

I. Назначение.....	3
II. Принцип теста.....	3
III. Состав набора “ИФА-АНТИ-ЛЮИС-GM”.....	3
IV. Меры предосторожности .....	4
V. Инструкции по безопасности .....	5
VI. Необходимые материалы и оборудование, не предоставляемые с набором реагентов .....	6
VII. Отбор и подготовка образцов.....	6
VIII. Подготовка реагентов.....	7
IX. Проведение анализа (качественный анализ).....	8
X. Проведение ИФА в автоматическом режиме.....	9
XI. Учет результатов.....	9
XII. Полуколичественный анализ.....	10
XIII. Ограничения теста.....	10
XIV. Срок годности. Условия хранения и транспортировки.....	11
XV. Объяснение символов.....	11

### Набор реагентов выпускается в трех комплектах:

комплект № 1 рассчитан на проведение 96 (один разборный планшет) определений, включая контрольные; предназначен для ручной постановки с возможностью дробного (по одному стрипу) использования набора или для одновременной постановки 96 определений на автоматических анализаторах для иммуноферментного анализа открытого типа;

комплект № 2 рассчитан на проведение 192 (два разборных планшета) определений, включая контрольные, предназначен для ручной постановки с возможностью дробного (по одному стрипу) использования набора или для одновременной постановки 192 (96 x 2) определений на автоматических анализаторах для иммуноферментного анализа открытого типа;

комплект № 3 рассчитан на проведение 480 (пять разборных планшетов) определений, включая контрольные, предназначен для ручной постановки с возможностью дробного (по одному стрипу) использования набора или для одновременной постановки 480 (96 x 5) определений на автоматических анализаторах для иммуноферментного анализа открытого типа.

## I. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов “ИФА-АНТИ-ЛЮИС-GM” - Тест-система иммуноферментная, предназначен для качественного и полуколичественного выявления антител классов G и M к *Treponema pallidum* в сыворотке (плазме) крови человека при обследовании с целью диагностики сифилитической инфекции.

## II. ПРИНЦИП ТЕСТА

Лунки иммунологического планшета покрыты смесью рекомбинантных антигенов *T. pallidum* с молекулярной массой 17, 41 и 47 кДа, которые вступают во взаимодействие с соответствующими антителами, содержащимися в сыворотке крови больных сифилисом, и образуют иммунные комплексы. Образование иммунных комплексов антиген-антитело выявляют с помощью моноклональных антител против иммуноглобулинов G и M человека, конъюгированных с пероксидазой хрена. Изменение цвета субстратно-хромогенной (ТМБ) смеси, внесенной в лунки планшета, указывает на наличие в исследуемых образцах специфических антител к *T. pallidum*.

## III. СОСТАВ НАБОРА “ИФА-АНТИ-ЛЮИС-GM”

Таблица 1.

Реагент	Форма выпуска		
	комплект 1	комплект 2	комплект 3
Полистироловые 96-луночные разборные планшеты с прозрачными бесцветными лунками, в которых сорбированы рекомбинантные антигены - аналоги белков <i>T. pallidum</i> .	1 планшет	2 планшета	5 планшетов
Конъюгат (концентрат x 11) – смесь моноклональных антител мыши против иммуноглобулинов G и M человека, конъюгированных с пероксидазой хрена. Прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная или светло-желтого цвета жидкость.	1 флакон 1,5 мл	1 флакон 3,0 мл	2 флакона по 4,0 мл
K+ (контрольный положительный образец) - сыворотка крови человека, содержащая антитела классов G и M к <i>T. pallidum</i> , не содержащая HBsAg, антиген р24 ВИЧ-1, антитела к вирусу гепатита С и антитела к ВИЧ-1 и ВИЧ-2, инактивированная. Прозрачная или слегка опалесцирующая малинового цвета жидкость.	1 флакон 2,5 мл	1 флакон 2,5 мл	1 флакон 2,5 мл
K- (контрольный отрицательный образец) - сыворотка крови человека, не содержащая антитела к <i>T. pallidum</i> , не содержащая HBsAg, антитела к ВИЧ-	1 флакон 5,0 мл	1 флакон 5,0 мл	1 флакон 5,0 мл

1,2 и вирусу гепатита С, инактивированная. Прозрачная или слегка опалесцирующая зеленого цвета жидкость.			
РРК - раствор для разведения конъюгата. Прозрачная или слегка опалесцирующая желтого цвета жидкость, допустимо образование осадка.	1 флакон 13,0 мл	1 флакон 25,0 мл	3 флакона по 25,0 мл
БР - блок-раствор для рабочего разведения сывороток: БР (концентрат x 11) или БР (готовый к применению) Опалесцирующая фиолетового цвета жидкость, допустимо образование хлопьев или аморфного осадка.	1 флакон 2,5 мл	1 флакон 2,5 мл	1 флакон 6,0 мл
1 флакон 12,0 мл	1 флакон 25,0 мл	2 флакона по 30,0 мл	
ПР (концентрат x 25) – промывочный раствор. Прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость бесцветная или светло-желтая, допустимо образование осадка, полностью растворяющегося при температуре от 35 до 39°C и встряхивании.	1 флакон 50,0 мл	1 флакон 80,0 мл	3 флакона по 80,0 мл или 2 флакона по 120,0 мл
СБ - субстратный буферный раствор, содержащий лимонную кислоту, ацетат натрия, раствор перекиси водорода. Прозрачная, бесцветная жидкость.	1 флакон 15,0 мл	1 флакон 25,0 мл	3 флакона по 25,0 мл или 2 флакона по 50,0 мл
Хромоген ТМБ раствор содержащий 3,3',5,5' тетраметилбензидин. Прозрачная, бесцветная жидкость.	1 флакон 1,5 мл	1 флакон 2,5 мл	2 флакона по 3,5 мл
Стоп-реагент - раствор серной кислоты 0,75 моль/л. Прозрачная, бесцветная жидкость.	1 флакон 25,0 мл	1 флакон 25,0 мл	2 флакона по 25,0 мл или 50,0 мл 1 флакон

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

		Комплект 1	Комплект 2	Комплект 3
Дополнительно набор может быть укомплектован	Крышка к полистироловым 96-луночным планшетам или защитная пленка для ИФА планшетов	1 шт.	2 шт.	5 шт.
		2 шт.	4 шт.	10 шт.
	Одноразовые наконечники	16 шт.	32 шт.	80 шт.
	Пластиковая ванночка для жидких реагентов	2 шт.	4 шт.	10 шт.
	Пластиковая скрепка для закрывания пакета с иммуносорбентом или пакет полиэтиленовый с замком zip-lock.	1 шт.	1 шт.	1 шт.

#### IV. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Достоверность результатов зависит от правильного выполнения следующих правил лабораторной практики:

- Постановку ИФА следует проводить в помещении с температурой от 18 до 24 °С.
- 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.
- Рабочие растворы готовить осторожно, исключая какое-либо загрязнение.
- Нельзя проводить тест в присутствии реактивных паров (кислота, щелочь, альдегиды) или пыли, которые могут повлиять на ферментативную активность конъюгата.
- Лабораторная посуда должна быть тщательно промыта; предпочтительно применение материалов одноразового использования.
- Перед использованием пластиковые ванночки для жидких реагентов ополоснуть водой дистиллированной. Многоцветные ванночки для автоматических анализаторов необходимо сразу после работы ополоснуть водой дистиллированной. Затем промыть 70 % раствором этилового спирта и снова ополоснуть водой дистиллированной.
- Иммуносорбент допускается хранить в промежутках между отдельными операциями не более 10 мин (нельзя допускать высыхания лунок планшета).
- Ферментативная реакция особо чувствительна к ионам металлов. Нельзя допускать контакта металлических предметов с растворами конъюгата или субстрата.
- Необходимо использовать чистый наконечник для каждого образца или реагента.
- Промывка лунок - важный этап в данной процедуре: необходимо соблюдать рекомендованное количество циклов промывки и следить за заполнением лунок, не допускать остатка жидкости в лунках после промывки. Неправильно проведенный этап промывки может привести к неточным результатам.
- Нельзя использовать одну и ту же емкость для приготовления конъюгата и растворов.
- Необходимо использовать только валидированные пипетки и оборудование.
- Нельзя изменять процедуру проведения анализа.
- Необходимо использовать воду дистиллированную.
- Нельзя подвергать реагенты воздействию высокой температуры или прямого солнечного света.

## **V. ИНСТРУКЦИИ ПО БЕЗОПАСНОСТИ**

- Все реагенты набора предназначены для лабораторной диагностики "in vitro".
- Сыворотки (плазмы) крови человека, используемые при приготовлении 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 антител к ВИЧ-1 и ВИЧ-2.
- Сыворотки (плазмы) крови человека, используемые при приготовлении контрольного положительного 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 антител к ВИЧ-1 и ВИЧ-2.
- При работе с реагентами набора (К-, К+) 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.

- Избегать расплескивания образцов или растворов, содержащих образцы. При расплескивании немедленно дезактивировать поверхность 3 % раствором хлорамина Б.
- Избегайте контакта субстратного буфера, хромогена, стоп-реагента с кожей и слизистыми.
- После проведения ферментной реакции необходимо нейтрализовать и/или автоклавировать растворы, отходы или любые жидкости, содержащие биологические образцы до сброса в канализационную трубу. Твердые отходы (использованные планшеты, наконечники к дозаторам, флаконы, лабораторная посуда, одноразовые перчатки и т.д.) должны быть обеззаражены погружением в 6 % раствор перекиси водорода с 0,5 % синтетического моющего средства или в 3 % раствор хлорамина Б. Длительность дезактивации – не менее 1 ч. Допустимо применение другого разрешенного к применению дез. средства. Твёрдые отходы также следует обезвреживать автоклавированием в течение часа при температуре от 124 до 128 °С под давлением 1,5 кгс/см<sup>2</sup> (0,15 МПа). Жидкие отходы (промывочные воды) следует обеззараживать добавлением сухого хлорамина Б из расчета 30 г/л (длительность дезактивации – не менее 2 ч) или кипячением в течение 30 мин, или автоклавированием в течение 1 ч под давлением 1,5 кгс/см<sup>2</sup> (0,15 МПа) при температуре от 124 до 128 °С. Инструменты и оборудование до и после работы необходимо протирать 2 раза 70 % этиловым спиртом.



- **Xi** Некоторые реагенты содержат Проклин 300. Проклин 300 в виде 0,04-0,05 % растворов является раздражающим веществом, может вызвать сенсibilизацию при контакте с кожей. В случае попадания растворов, содержащих этот реагент на кожу или слизистые оболочки, необходимо промыть область контакта большим количеством воды с мылом.

## VI. НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ, НЕ ПОСТАВЛЯЕМОЕ С НАБОРОМ РЕАГЕНТОВ

- Вода дистиллированная.
- Автоматические пипетки переменного объема (одно- или многоканальные).
- Одноразовые наконечники к пипеткам.
- Термоинкубатор микропланшетный (37,0 ± 0,5) °С.
- Устройство для промывки микропланшет.
- Градуированные цилиндры: 25 мл, 100 мл, 1000 мл.
- Спектрофотометр вертикального сканирования с возможностью измерения оптической плотности (ОП) при фильтрах 450 нм и 620-680 нм.
- Принтер.
- Автоматический анализатор для иммуноферментного анализа открытого типа.
- Бумага фильтровальная лабораторная.
- Перчатки медицинские.

## VII. ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

В качестве исследуемых образцов могут быть использованы образцы сыворотки или плазмы крови человека, содержащие ЭДТА, цитрат натрия или гепарин. Необходимо отделить сыворотку или плазму от элементов крови как можно быстрее, чтобы избежать гемолиза эритроцитов. Образцы с выраженным гемолизом, гиперлипидемией и бактериальным проростом анализу не подлежат. Образцы, содержащие видимые частицы следует осветлить центрифугированием до проведения анализа. Образцы можно хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение 3 дней, допустимо длительное хранение в замороженном состоянии при температуре минус 20 °С. Нельзя использовать образцы, замороженные и размороженные более 1 раза. Образцы следует быстро разморозить и тщательно размешать перед анализом. Инактивация образцов при 56 °С не рекомендуется, т.к. может привести к снижению реактивности образцов, содержащих IgM антитела к *T. pallidum*. Присутствие азидата натрия в образцах не влияет на результаты анализа.

## **VIII. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ**

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

### **1. Реагенты готовые к применению:**

- К- - контрольный отрицательный образец.
- К+ - контрольный положительный образец.
- РРК - раствор для разведения конъюгата.
- БР- блок-раствор для рабочего разведения сывороток.
- Стоп-реагент.

### **2. Реагенты, требующие предварительного приготовления**

**Иммуносорбент.** Каждый планшет, содержащий 12 стрипов, упакован в фольгированный пакет. Вскрыть пакет и вынуть планшет. Взять нужное количество стрипов. Неиспользованные стрипы без рамки поместить обратно в фольгированный пакет (не удаляя силикагель!) и плотно закрыть; для этого край пакета следует свернуть 2-3 раза и закрепить, место сгиба скрепкой или поместить фольгированный пакет со стрипами в полиэтиленовый пакет с замком Zip-Lock. После вскрытия пакета иммуносорбент стабилен в течение 1 мес. при температуре от 2 до 8 °С.

**Рабочий промывочный раствор (ПР).** Содержимое флакона с концентратом (х 25) промывочного раствора тщательно перемешать. Если в растворе сформировались кристаллы, необходимо растворить их нагреванием при температуре 35 - 39 °С до полного исчезновения.

Для приготовления рабочего промывочного раствора необходимый объем концентрата (х 25) промывочного раствора развести соответствующим объемом воды дистиллированной (согласно табл. № 2, 3). Полученный раствор тщательно перемешать. Приготовленный рабочий промывочный раствор стабилен в течение 3-х суток при хранении при температуре от 2 до 8 °С в плотно закупоренном флаконе.

**Рабочий раствор конъюгата.** Содержимое флакона с концентратом конъюгата осторожно перемешать, не допуская вспенивания (интенсивное перемешивание не применять!). Для приготовления рабочего раствора конъюгата необходимое количество РРК перенести в чистую емкость, добавить соответствующее количество тщательно перемешанного концентрата конъюгата (согласно табл. № 2, 3) и осторожно перемешать, не допуская вспенивания (интенсивное перемешивание не применять!). Рабочий раствор конъюгата стабилен не более 12 ч в защищенном от света месте при температуре от 18 до 24 °С.

**БР** - для рабочего разведения сывороток. Необходимое количество предварительно тщательно перемешанного БР (концентрата х 11) перенести в чистую ёмкость и развести в 11 раз добавлением необходимого количества рабочего ПР с последующим тщательным перемешиванием (согласно табл. № 2 и 3). Срок годности приготовленного раствора - не более 1 суток при температуре от 2 до 8 °С.

При комплектации набора БР, готовым к применению, перед использованием реагент тщательно перемешать.

**Субстратная смесь (СС).** Готовить перед использованием. Необходимый объем ТМБ развести соответствующим объемом СБ (согласно табл. № 2 и 3), тщательно перемешать до полного растворения. Допустимо хранение СС не более 10 ч в защищённом от света месте при температуре от 18 до 24 °С в химически чистых флаконах или специальной емкости, предназначенной для постановки ИФА на автоматических анализаторах для иммуноферментного анализа открытого типа.

**Субстратная смесь должна быть бесцветной!**

### **3. Хранение неиспользованных реагентов**

После вскрытия флаконов, оставшиеся не использованными реагенты набора "ИФА-АНТИ-ЛЮИС-ГМ" хранить при температуре от 2 до 8 °С: иммуносорбент - не более 1 мес., конъюгат (концентрат х 11), контрольный положительный образец (К+), контрольный отрицательный образец (К-), РРК, БР (концентрат х 11) или БР, ПР (концентрат х 25), СБ, ТМБ, стоп-реагент - в течение срока годности тест-системы.

## IX. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА (КАЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ)

Необходимые объемы реагентов в зависимости от количества используемых стрипов представлены в таблицах 2 и 3:

Таблица 2

### Расход реагентов набора в зависимости от количества используемых стрипов или на целом планшете при ручной постановке ИФА

Количество используемых стрипов	Рабочий промывочный раствор (ПР)		Рабочий раствор конъюгата		БР		СС	
	ПР (конц. x 25), мл	Вода дистиллированная, мл	Конъюгат (конц. x 11), мл	РРК	БР (конц. x 11), мл	Рабочий ПР, мл	СБ, мл	ТМБ, мл
1	3,0	72,0	0,1	1,0	0,1	1,0	1,0	0,1
2	6,0	144,0	0,2	2,0	0,2	2,0	2,0	0,2
3	9,0	216,0	0,3	3,0	0,3	3,0	3,0	0,3
4	12,0	288,0	0,4	4,0	0,4	4,0	4,0	0,4
5	15,0	360,0	0,5	5,0	0,5	5,0	5,0	0,5
6	18,0	432,0	0,6	6,0	0,6	6,0	6,0	0,6
7	21,0	504,0	0,7	7,0	0,7	7,0	7,0	0,7
8	24,0	576,0	0,8	8,0	0,8	8,0	8,0	0,8
9	27,0	648,0	0,9	9,0	0,9	9,0	9,0	0,9
10	30,0	720,0	1,0	10,0	1,0	10,0	10,0	1,0
11	33,0	792,0	1,1	11,0	1,1	11,0	11,0	1,1
12	40,0	960,0	1,2	12,0	1,2	12,0	12,0	1,2

#### Перед использованием иммуносорбент не промывать!

1. Составить протокол проведения исследования с разметкой лунок для внесения контрольных и исследуемых образцов.

2. Внести по 100 мкл К+ и по 100 мкл К- в двух повторах в лунки иммунологического планшета (иммуносорбента). В остальные лунки внести по 90 мкл БР и по 10 мкл исследуемых образцов сывороток крови (образцы в лунках разведены в 10 раз). Содержимое лунок тщательно перемешать, при этом фиолетовый цвет раствора должен измениться на голубовато-зеленый.

3. Планшет закрыть крышкой или защитной пленкой и выдержать 30 мин при температуре  $(37,0 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$ .

4. Содержимое лунок удалить в ёмкость для сбора инфицированного материала и планшет промыть 4 раза рабочим ПР, заливая его до краев лунок (от 380 до 400 мкл в лунку), выдерживая 30 сек и удаляя промывочный раствор в ёмкость для сбора инфицированного материала.

5. Во все лунки стрипов внести по 100 мкл конъюгата в рабочем разведении и покрытый крышкой или защитной пленкой планшет выдержать 30 мин при температуре  $(37,0 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$ .

6. Содержимое лунок удалить в ёмкость для сбора инфицированного материала и планшет промыть 4 раза рабочим ПР, как описано в п.4.

7. Во все лунки иммуносорбента внести по 100 мкл СС и выдержать 30 мин в защищённом от света месте при температуре от 18 до 24  $^\circ\text{C}$ .

8. Реакцию остановить добавлением во все лунки по 50 мкл стоп-реагента и немедленно провести учёт результатов.



## Х. ПРОВЕДЕНИЕ ИФА В АВТОМАТИЧЕСКОМ РЕЖИМЕ

Таблица 3

### Расход реагентов набора на один планшет (иммуносорбент) при постановке ИФА на автоматических анализаторах открытого типа

Количество используемых стрипов	Рабочий промывочный раствор (ПР)		Рабочий раствор конъюгата		БР		СС	
	ПР (конц. x 25), мл	Вода дистиллированная, мл	Конъюгат (конц. x 11), мл	РПК, мл	БР (конц. x 11), мл	Рабочий ПР, мл	СБ, мл	ТМБ, мл
12	40,0	960,0	1,2	12,0	1,2	12,0	12,0	1,2

1. Включить анализатор и задать программу проведения ИФА в соответствии с этапами исследования, описанными в разделе IX.

2. Приготовленный рабочий промывочный раствор залить в предназначенную для него емкость (входящую в комплект к ИФА-анализатору), остальные рабочие растворы и реагенты поместить в специальные контейнеры или емкости. Флаконы с контрольными образцами К+ и К-, и флаконы или пробирки с образцами исследуемых сывороток в объеме не менее 300 мкл установить в соответствующие штативы анализатора. В анализатор помещают необходимое количество планшетов. Далее постановку проводят в соответствии с инструкцией по применению ИФА-анализатора и программой проведения ИФА.

3. По окончании анализа с печатающего устройства автоматического анализатора получить протокол по результатам исследования, в котором содержатся результаты исследования каждого исследуемого и контрольных (К+ и К-) образцов.

## ХІ. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов проводить на автоматическом спектрофотометре при двух длинах волн – 450 нм и при референс-длине волны в диапазоне от 620 до 680 нм с настройкой прибора по «воздуху». Допустим учёт результатов при одной длине волны - 450 нм.

Реакцию учитывают, если среднее значение оптической плотности (ОП) в лунках с К+ составляет не менее 0,6, а среднее значение ОП растворов в лунках с К- не более 0,2.

ОП крит. рассчитывают по формуле:

$$ОП_{крит.} = ср.знач. ОП К- + А,$$

где А- коэффициент, определяемый методом статистической обработки результатов ИФА на предприятии-изготовителе, величину которого указывают в рабочей инструкции на производственную серию набора.

Положительными считать образцы со значением  $ОП_{обр.}$ , превышающим  $ОП_{крит.}$  умноженное на 1,1 ( $ОП_{крит.} \times 1,1$ ).

Отрицательными считать образцы со значением  $ОП_{обр.}$  меньше  $ОП_{крит.}$  умноженное на 0,9 ( $ОП_{крит.} \times 0,9$ ).

Если значение ОП исследуемого образца превышает значение  $ОП_{крит.} \times 0,9$ , но меньше значения ОП крит.  $\times 1,1$ , этот образец попадает в “серую зону” ( $0,9 \times ОП_{крит.} < ОП_{обр.} < 1,1 \times ОП_{крит.}$ ).

В этом случае необходимо провести повторное исследование сыворотки пациента на антитела к *T. pallidum* через 1-2 недели после первого забора крови. Желательно, чтобы повторно взятый образец сыворотки крови исследовался одновременно с предыдущим (“парные” сыворотки), что позволит с большей достоверностью оценить динамику специфических антител.

## ХII. ПОЛУКОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ

Образцы сывороток крови, при тестировании которых был получен положительный результат, могут быть использованы для полуколичественного анализа - определения титра специфических антител к *T. pallidum*. Титр антител можно определить двумя способами.

### Способ 1.

1. Внести 180 мкл БР в первую лунки и 100 мкл БР в остальные лунки стрипа.
2. Затем в лунку 1 добавить 20 мкл образца, содержащего антитела к *T. pallidum*. Содержимое лунки тщательно перемешать осторожным пипетированием и перенести 100 мкл разведенного образца в следующую лунку ряда, после чего содержимое этой лунки тщательно перемешать и так повторить до конца ряда, после перемешивания 100 мкл содержимого последней лунки отобрать и перенести в ёмкость для дезинфекционной обработки биоматериала.

Последующие операции выполнить в соответствии с разделом IX (п.2-7). За титр антител к *T. pallidum* принимают максимальное разведение образца, при котором регистрируется положительный результат ( $ОП_{обр.} > ОП_{крит.}$ ).

### Способ 2.

Образцы сывороток с  $ОП_{обр.}/ОП_{крит.} \leq 2$  имеют титр 1/10, а образцы  $2 < ОП_{обр.}/ОП_{крит.} < 5$  имеют титр 1/20.

Сыворотки с  $ОП_{обр.}/ОП_{крит.} \geq 5$  необходимо развести в 100 раз. Для этого:

1. В 2 лунки иммуносорбента внести по 90 мкл БР.
2. Затем в первую лунку добавить 10 мкл исследуемого образца сыворотки крови (разведение в 10 раз).
3. После тщательного перемешивания содержимого лунки осторожным пипетированием 10 мкл разведенной в 10 раз сыворотки перенести во вторую лунку (разведение в 100 раз). Все последующие операции проводить в соответствии с разделом IX (п.2-7).
4. Определить титр антител по таблице. 3.

Таблица 3

Соответствие величины  $ОП_{обр.} (1:100)/ОП_{крит.}$  титру антител IgG и IgM к *T. pallidum*

$ОП_{обр.} (1:100)/ОП_{крит.}$	Титр антител
до 0,35	1/40
От 0,36 до 2,0	1/80
От 2,01 до 3,60	1/160
От 3,61 до 5,50	1/320
От 5,51 до 8,0	1/640
От 8,01 до 11,5	1/1280
От 11,51 до 13,2	1/2560
От 13,21	1/5120

## ХIII. ОГРАНИЧЕНИЯ ТЕСТА

- Отрицательный результат исследования при определении антител не исключает наличия инфекции у пациента. Образцы с низким уровнем антител могут быть вне пределов чувствительности ИФА.
- Клинический диагноз не должен основываться на результате одного теста, а должен базироваться на корреляции результатов лабораторных исследований с клиническими данными.
- Реактивность образцов сыворотки (плазмы) в ИФА в большинстве случаев сохраняется после проведенной терапии.
- Ложно-положительные результаты исследования в ИФА могут наблюдаться при ВИЧ инфекции, гепатитах, онкологических заболеваниях, хламидиозе, беременности, инфекционном мононуклеозе, лепре, аутоиммунных болезнях и наркозависимости.




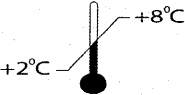


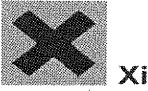
#### XIV. СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВКИ.

Срок годности – 12 мес. Хранить в сухом, защищенном от света месте при температуре от 2 до 8 °С. Транспортирование может производиться любым закрытым транспортом при температуре от 9 до 20 °С не более 10 суток. Замораживание не допускается.

Рекламации на специфические и физические свойства препарата направлять в ФГУ «ГНЦД Росмедтехнологий» по адресу: 107076, г. Москва, ул. Короленко, д.3, строение 6, тел./факс (499) 785-20-16 и адрес предприятия изготовителя: ООО «Научно-производственное объединение «Диагностические системы», 603093, Россия, Нижний Новгород, ул. Яблонева, 22, тел.: (831) 434-97-12, тел./факс: (831) 434-86-83.

e-mail: info@npods.nnov.ru, www.npods.ru

#### XV. ОБЪЯСНЕНИЕ СИМВОЛОВ

	СЕ маркировка (Европейская директива 98/79/СЕ по ИВД медицинским устройствам)
	Для «in vitro» диагностики
	Серия
	Температура хранения
	Срок годности ДД/ММ/ГГ
	Смотрите инструкцию по применению
	Содержит раздражающее вещество

Директор по производству  
ООО «Научно-производственное объединение  
«Диагностические системы»



В. К. Пименов