







REF	L-155		96
REF	L-154		192
REF	L-156		480
REF	L-153		96

**ІНСТРУКЦІЯ
по застосуванню**

**Набору реагентів
«ДСУ-ІФА-АНТИ-ЛЮІС»
Тест-система імуноферментна для виявлення антитіл
до збудника сифілісу**

ЗМІСТ

I.	ПРИЗНАЧЕННЯ.....	3
II.	ПРИНЦИП ТЕСТА	3
III.	СКЛАД НАБОРУ РЕАГЕНТІВ «ДСУ-ІФА-АНТИ-ЛЮІС» (набір 1, набір 2).....	3
IV.	АНАЛІТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ	4
V.	ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ	5
VI.	УТИЛІЗАЦІЯ І ЗНИЩЕННЯ.....	5
VII.	НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ І ОБЛАДНАННЯ, ЯКІ НЕ ПОСТАВЛЯЮТЬСЯ З НАБОРОМ РЕАГЕНТІВ	5
VIII.	ВІДБІР І ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ.....	5
IX.	ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ.....	6
X.	ПРОВЕДЕННЯ ЯКІСНОГО АНАЛІЗУ	6
XI.	ОБЛІК РЕЗУЛЬТАТІВ.....	8
XII.	ОБМЕЖЕННЯ ТЕСТУ	9
XIII.	ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ. УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ І ТРАНСПОРТУВАННЯ.....	9
XIV.	ГАРАНТІЙНІ ЗОБОВ'ЯЗАННЯ.....	9
XV.	ПОЯСНЕННЯ СИМВОЛІВ.....	10
	Додаток.....	11

Набір реагентів «ДСУ-ІФА-АНТИ-ЛЮІС» призначений як для ручної постановки, так і для постановки на ІФА-аналізаторах відкритого типу з можливістю дробового використання.

Випускається в двох варіантах виконання:

набір 1 «ДСУ-ІФА-АНТИ-ЛЮІС-GM» - для одночасного виявлення антитіл класів G і M до *Treponema pallidum*. Передбачено 3 форми випуску (комплекти 1, 2 і 3, розраховані на 96, 192 і 480 визначень, включаючи контрольні)¹.

набір 2 «ДСУ-ІФА-АНТИ-ЛЮІС-G» - для виявлення антитіл класу G до *Treponema pallidum*. Передбачена одна форма випуску, розрахована на 96 визначень, включаючи контрольні.

¹*Всі комплекти набору 1 еквівалентні за призначенням, властивостями і функціональних характеристик (аналітична і діагностична чутливість і специфічність).*

I. ПРИЗНАЧЕННЯ

Набір реагентів «ДСУ-ІФА-АНТИ-ЛЮІС» Тест-система імуноферментна для виявлення антитіл до збудника сифілісу призначений для виявлення антитіл до *Treponema pallidum* в зразках сироватки (плазми) крові або ліквору людини з метою діагностики сифілітичної інфекції.

Збудником сифілісу є бактерія *T. pallidum*. Виявлення антитіл до *T. pallidum* грає важливу роль при діагностиці сифілісу, оскільки *T. pallidum* не може бути виділена з культури клітин, а проби для прямого визначення збудника найчастіше недоступні при латентних і пізніх стадіях захворювання. У сиродіагностиці сифілісу використовуються нетрепонемні (РМП, RPR, VDRL) і трепонемні (РПГА, РІФ абс., ІФА) тести. Імуноферментні тести для визначення специфічних антитіл класів G і M можуть бути використані для масового скринінгу донорської крові та для диференціальної діагностики стадій захворювання і постановки діагнозу сифілісу як складова частина комплексу серологічних реакцій. Після успішно проведеної терапії реактивність трепонемних тестів в більшості випадків зберігається.

II. ПРИНЦИП ТЕСТА

В основі тесту лежить неконкурентний спосіб імуноферментного аналізу (ІФА), двохстадійний варіант. На першій стадії аналізу антитіла до *T. pallidum*, що містяться в досліджуваних зразках, зв'язуються з рекомбінантними антигенами, іммобілізованими на внутрішній поверхні лунок полістиролового планшета. На другому етапі аналізу зв'язані антитіла взаємодіють з кон'югатом. Кількість зв'язаних молекул кон'югата прямо пропорційно кількості антитіл в досліджуваному зразку. Під час інкубації з субстратною сумішшю відбувається фарбування розчину в лунках. Ступінь забарвлення прямо пропорційна концентрації антитіл в досліджуваному зразку.

III. СКЛАД НАБОРУ РЕАГЕНТІВ «ДСУ-ІФА-АНТИ-ЛЮІС» (набір 1, набір 2)

3.1. Склад набору:

Таблиця 1

Характеристики реагентів		Форма випуску			
		набір 1			набір 2
		Комплект 1	Комплект 2	Комплект 3	-
Імуносорбент	Планшет полістироловий 96-лунковий розбірний до стрипів, в лунках якого сорбовані рекомбінантні антигени-аналоги білків <i>T. pallidum</i> .	1 планшет	2 планшета	5 планшетів	1 планшет
Кон'югат GM	Концентрат (x 11). Суміш антитіл миші проти імуноглобулінів G і M людини, кон'югованих з пероксидазою хрому. Прозора або злегка опалесцююча безбарвна або світло-жовтого кольору рідина.	1 флакон 2,4 мл	1 флакон 2,4 мл	3 флакона по 2,4 мл або 2 флакона по 3,0 мл	-
Кон'югат G	Концентрат (x 11). Антитіла миші проти імуноглобулінів G людини, кон'юговані з пероксидазою хрому. Прозора або злегка опалесцююча безбарвна або світло-жовтого кольору рідина.	-	-	-	1 флакон 2,4 мл
K+	Контрольний позитивний зразок, що містить антитіла до <i>T. pallidum</i> , інактивований. Прозора або злегка опалесцююча малинового кольору рідина.	1 флакон 2,5 мл	1 флакон 2,5 мл	1 флакон 2,5 мл	1 флакон 2,5 мл
K-	Контрольний негативний зразок, який не містить антитіла до <i>T. pallidum</i> , інактивований. Прозора або злегка опалесцююча зеленого кольору рідина.	1 флакон 2,5 мл	1 флакон 2,5 мл	2 флакона по 2,5 мл	1 флакон 2,5 мл
БР	Блок-розчин для розведення сироваток. Опалесцююча фіолетового кольору рідина, допустимо освіту пластівців або аморфного осаду.	1 флакон 12,0 мл	1 флакон 25,0 мл або 2 флакона по 12,0 мл	2 флакона по 25,0 мл	1 флакон 12,0 мл
РРК	Розчин для розведення кон'югату. Прозора або злегка опалесцююча жовтого кольору рідина, допустимо утворення осаду.	1 флакон 24,0 мл	1 флакон 24,0 мл	3 флакона по 24,0 мл	1 флакон 24,0 мл

ПР	Промивний розчин. Концентрат (×25) фосфатно-сольового буферного розчину з твіном (ФСБ-Т). Прозора або злегка опалесцююча безбарвна або світло-жовтого кольору рідина, допустимо утворення осаду, повністю розчиняється при температурі від 35 до 39 °С і струшуванні.	1 флакон 50,0 мл	1 флакон 120,0 мл	2 флакона по 120,0 мл	1 флакон 50,0 мл
Стоп-реагент	Розчин сірчаної кислоти (0,2 М). Прозора, безбарвна рідина.	1 флакон 25,0 мл	1 флакон 50,0 мл	2 флакона по 50,0 мл	1 флакон 25,0 мл
СБ	Субстратний буферний розчин, цитратний буфер, що містить розчин перекису водню. Прозора безбарвна рідина.	1 флакон 25,0 мл	1 флакон 25,0 мл	3 флакона по 25,0 мл або 2 флакона по 50,0 мл	1 флакон 25,0 мл
ТМБ	Концентрат (х 11). Розчин, що містить 3,3',5,5'-тетраметилбензидин. Прозора безбарвна рідина	1 флакон 2,5 мл	1 флакон 2,5 мл	2 флакона по 3,5 мл або 3 флакона по 2,5 мл	1 флакон 2,5 мл

Обсяги реагентів вказані на етикетках флаконів.

Набір комплектується готовими реагентами і концентрованими розчинами. Є маркування за допомогою штрих-кодів, а також колірне кодування для ряду реагентів. Колірне кодування реагентів - умовне позначення кольору / забарвлення рідких реагентів. Кон'югат GM, кон'югат G – світло-жовтий; K+ – малиновий; K- – зелений.

Реагенти набору поміщають в споживчу упаковку (коробку картонну). Кожна споживча упаковка забезпечена інструкцією із застосування.

3.2. Приладдя:

набір 1

- кришки до полістиролових 96-лункових планшетів: комплект 1 (1 шт.), Комплект 2 (2 шт.), Комплект 3 (5 шт.) або
- плівки захисні для ІФА-планшетів: комплект 1 (2 шт.), комплект 2 (4 шт.), комплект 3 (10 шт.);
- наконечники одноразові: комплект 1 (16 шт.), комплект 2 (32 шт.), комплект 3 (80 шт.);
- ванночки пластикові для рідких реагентів: комплект 1 (2 шт.), комплект 2 (4 шт.), комплект 3 (10 шт.);
- пакети поліетиленові з замком Zip-Lock: комплект 1 (1 шт.), комплект 2 (2 шт.), комплект 3 (3 шт.).

набір 2

- кришка до полістиролових 96-лункових планшетів (1 шт.) або
- плівки захисні для ІФА планшетів (2 шт.);
- наконечники одноразові (16 шт.);
- ванночки пластикові для рідких реагентів (2 шт.);
- пакет поліетиленовий з замком Zip-Lock (1 шт.).

3.3. У комплект поставки входять: набір реагентів (додатково може бути укомплектований приладдям), інструкція із застосування, паспорт.

IV. АНАЛІТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

4.1. Діагностична чутливість

4.1.1. Для набору 1 «ДСУ-ІФА-АНТИ-ЛЮІС-GM» оцінювалася при дослідженні:

- 306 клінічних зразків сироваток крові і склала 99,7% (95% СІ:98,2-99,9%) (305/306);
- 30 клінічних зразків ліквору і склала 100% (95% СІ: 88,6-100%) (30/30);
- 93 зразків сироваток крові пацієнтів з паст-інфекцією 100% (95% СІ: 96,03-100%) (93/93);
- комерційних панелей: «Mixed Titer Syphilis Panel» (ZeptoMetrix, США, lot 0709-272-00053), «Syphilis Mixed Titer Performance Panel PSS202» (BBI, США, lot 113187), «Syphilis Qualification Panel QSS701» (BBI, США, lot 115367) – 100%.

4.1.2. Для набору 2 «ДСУ-ІФА-АНТИ-ЛЮІС-G» оцінювалася при дослідженні:

- 231 клінічного зразка сироваток крові і склала 99,6% (95% СІ:97,6-99,9%) (230/231);
- 30 клінічних зразків ліквору і склала 100%; (95% СІ: 88,6-100%) (30/30);
- 170 зразків сироваток крові пацієнтів з паст-інфекцією 100%; (95% СІ: 96,7-99,9%) (169/170);
- комерційних панелей: «Syphilis Mixed Titer Performance Panel PSS202» (BBI, США, lot 113187), «Syphilis Qualification Panel QSS701» (BBI, США, lot 115367) – 100%.

4.2. Специфічність

4.2.1. Для набору 1 «ДСУ-ІФА-АНТИ-ЛЮІС-GM» оцінювалася при дослідженні:

- 5012 зразків сироваток крові донорів випадкової вибірки, включаючи первинних і склала 99,8% (95% СІ: 99,6-99,9%) (5001/5012).
- 1813 перехресно-реагують зразків сироваток крові людини (вагітні, соматичні хворі, зразки, що містять ревматоїдний фактор) і склала 98,7% (95% СІ: 98,0-99,1%) (1789/1813).
- 68 зразків ліквору від осіб з виключеним діагнозом нейросифілісу і склала 100%; (95% СІ: 94,7-

100%) (68/68).

4.2.2. Для набору 2 «ДСУ-ІФА-АНТИ-ЛЮІС-С» оцінювалася при дослідженні:

- 1034 зразків сироваток крові донорів випадкової вибірки, включаючи первинних, і склала 99,8% (95% СІ: 99,3-99,9%) (1032/1034).
- 498 перехресно-реагуючих зразків сироваток крові (вагітні, соматичні хворі, зразки, що містять ревматоїдний фактор) і склала 99,0% (95% СІ: 97,7-99,6%) (493/498).
- 68 зразків ліквору від осіб з виключеним діагнозом нейросифілісу і склала 100%; (95% СІ: 94,7-100%) (68/68).

4.3. Аналітична чутливість набору 1 «ДСУ-ІФА-АНТИ-ЛЮІС-СМ»

Даний набір показав здатність виявляти 0,0047 МЕ/мл специфічних антитіл до *T. pallidum* при тестуванні Міжнародного стандарту “WHO International Standard 1st IS for human syphilitic plasma IgG and IgM” (NIBSC, Великобританія).

4.4. Відтворюваність

Відтворюваність оцінена з використанням 3 зразків сироваток крові хворих на сифіліс всередині планшета і між планшетами на трьох серіях наборів. Коефіцієнти варіації не перевищили 8,0%.

4.5. Еквівалентність зразків сироватки та плазми крові людини

Додатковими дослідженнями колекції позитивних (n = 25) і негативних (n = 25) парних зразків сироватки та плазми була показана їх еквівалентність, що дозволяє віднести показники діагностичної чутливості та специфічності до обох видів досліджуваних зразків.

V. ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ

5.1. Нестерильні медичний виріб для діагностики *in vitro*. Потенційний ризик застосування набору - перелік В.

5.2. Набір призначений для професійного використання в клінічній лабораторній діагностиці спеціально навченим персоналом.

5.3. Реагенти набору не містять шкідливих речовин в небезпечних концентраціях, за винятком реагентів, позначених символом «Увага». При попаданні на шкіру або слизові негайно промити великою кількістю води.

5.4. Контрольні зразки К+ і К- приготувані з використанням інактивованих сироваток (плазм) крові людини, що не містять HBsAg, р24 антигену ВІЛ-1, антитіл до ВІЛ-1,2 і HCV. Незважаючи на це, ці компоненти залишаються потенційно небезпечними, тому що жоден метод тестування не може гарантувати відсутність інфекційних агентів.

5.5. Паспорт безпеки для Набору реагентів «ДСУ-ІФА-АНТИ-ЛЮІС» може бути представлений за запитом клієнта.

5.6. Для отримання надійних результатів необхідно:

- забезпечити умови зберігання набору;
- суворо дотримуватись вимог Інструкції по застосуванню набору реагентів;
- не використовувати набір за межами встановленого терміну придатності.

5.7. Не застосовувати набір, якщо при відкритті виявлено пошкодження пакета з імуносорбентом, протікання флаконів з рідкими реагентами.

VI. УТИЛІЗАЦІЯ І ЗНИЩЕННЯ

Відходи, які утворюються в результаті використання набору і приладдя, відносяться до медичних відходів відповідно і повинні бути знешкоджені відповідно до діючих правил і нормативів.

VII. НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ І ОБЛАДНАННЯ, ЯКІ НЕ ПОСТАВЛЯЮТЬСЯ З НАБОРОМ РЕАГЕНТІВ

- Вода дистильована або деіонізована.
- Дозатори піпеточні змінного об'єму для відбору рідин.
- Наконечники одноразові для дозаторів піпеточних.
- Інкубатор мікропланшетний (термостат) або термостатуючий шейкер (термошейкер) (37,0 ± 1,0)°С.
- Пристрій для промивання планшетів (вошер).
- Планшетний спектрофотометр (ІФА-рідер) з фільтрами 450 нм і 620-680 нм.
- Папір фільтрувальний лабораторний.
- Для постановки ІФА в автоматичному режимі - будь-яка модель ІФА-аналізатора відкритого типу.

VIII. ВІДБІР І ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

Збір зразків крові людини проводити відповідно до поточної практикою методом венепункції.

Для аналізу використовувати:

- нерозведені зразки плазми крові людини, містить ЕДТА, цитрат натрію, гепарин;
- зразки сироватки крові людини;
- зразки ліквору людини, отримані стандартними методами.

Щоб уникнути гемолізу потрібно якомога швидше відокремити плазму від еритроцитів або сироватку від згустку. Зразки, що містять агрегати або осад, освітлювати центрифугуванням при 1000-2000 об / хв (15 хв, при температурі від 2 до 8 ° С).

Зразки з вираженим гемолізом, гіперліпідемією і бактеріальним ростом аналізу не підлягають.

Зразки можна зберігати відповідно до вимог існуючих нормативних документів. Тривале зберігання допустимо при температурі не вище мінус 18 ° С (заморожування / відтавання не більше 3 разів). Щоб уникнути осадження фібрину плазму розморожувати протягом декількох хвилин при температурі (39,0 ± 1,0) °С на водяній бані.

IX. ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ

9.1. Загальні вимоги та рекомендації:

- Не можна використовувати реагенти з наборів різних серій і змішувати їх при приготуванні розчинів, крім:
 - неспецифічних компонентів (ПР, СБ), які взаємозамінні у всіх наборах реагентів виробництва ТОВ «Діагностичні системи Україна»;
 - **Стоп-реагента**, який може бути взаємозамінним в залежності від молярності розчину.
- Робочі розчини готувати обережно, виключаючи будь-яке забруднення. Використовувати одноразовий або чистий ретельно вимитий лабораторний посуд для приготування реагентів. Не допускати контакту металевих предметів з кон'югатом або субстратною сумішшю.
- Не піддавати реагенти впливу високої температури або прямого сонячного світла.
- Перед використанням флакони з рідкими реагентами перемішати, не допускаючи спінювання.

9.2. Реагенти готові до застосування:

- **Імуносорбент.** Планшет, що складається з 12 стрипів і рамки, упакований в фольгований пакет. Розкрити фольгований пакет, відступивши 1 см від краю пакета, і взяти необхідну кількість стрипів.
- **К-, К+, БР, РРК, Стоп-реагент (0,2 М).**

9.3. Реагенти, що вимагають попереднього приготування:

- **Робочий ПР.** Необхідний обсяг концентрату ПР (× 25) розвести в 25 разів відповідним обсягом води дистильованої або деіонізованої (див. табл. № 2 і 3) і ретельно перемішати.
- **Робочий Кон'югат GM і робочий Кон'югат G.** Необхідний обсяг концентрату кон'югату (x 11) розвести в 11 разів відповідним обсягом РРК (див. табл. № 2 і 3), обережно перемішати, не допускаючи спінювання.

9.4. Приготування субстратної суміші (СС).

Необхідний обсяг концентрату ТМБ (x 11) розвести в 11 разів відповідним обсягом СБ (див. табл. № 2 і 3) і ретельно перемішати. **Субстратна суміш повинна бути безбарвною!**

Таблиця 2

Кількість використуваних стрипів		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Робочий ПР	ПР (x25), мл	3,0	6,0	9,0	12,0	15,0	18,0	21,0	24,0	27,0	30,0	33,0	40,0
	Вода, мл	72,0	144,0	216,0	288,0	360,0	432,0	504,0	576,0	648,0	720,0	792,0	960,0
Робочий Кон'югат	кон'югат GM (x11), мл	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0	1,1	1,2
	кон'югат G (x11), мл												
СС	РРК, мл	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0
	СБ, мл	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0
	ТМБ (x 11), мл	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0	1,1	1,2

X. ПРОВЕДЕННЯ ЯКІСНОГО АНАЛІЗУ

10.1. Загальні вимоги та рекомендації:

- Використовувати валідовані дозатори і обладнання.
- Використовувати нові наконечники для кожного зразка.
- Перед використанням набір реагентів витримати не менше 30 хв при кімнатній температурі.
- Перед використанням ванночки пластикові для рідких реагентів обполоснути водою дистильованою (деіонізованою).
- Не використовуйте одну і ту ж ванночку пластикову для внесення кон'югату або субстратної суміші.
- Уникати розплескування зразків або розчинів, що містять зразки.
- Не допускати висихання лунок планшета між окремими операціями.
- Дотримуватись вимог у промиванні (рекомендовану кількість циклів, обсяг розчину при наповненні, тимчасові інтервали, ефективність відсмоктування).
- Багаторазові ванночки для ІФА аналізаторів відразу після роботи обполоснути водою дистильованою (деіонізованою). Потім промити 70% розчином етилового спирту і знову обполоснути водою дистильованою (деіонізованою).

10.2. Проведення ІФА при ручній постановці:

Етап	Процедура постановки	
	Процедура 1 (набір 1/набір 2)	Процедура 2 (набір 1)
1	Внести в лунки імуносорбент по 100 мкл контрольних зразків у двох повторах.	
2	В інші лунки внести по 90 мкл БР і по 10 мкл досліджуваних зразків сироватки (плазми) крові або по 50 мкл БР і 50 мкл зразків ліквору, ретельно перемішуючи піпетуванням. При цьому в лунках із зразками сироватки (плазми) крові фіолетовий колір розчину повинен змінитися на блакитно-зелений, в лунках із зразками ліквору колір не змінюється.	
3	Планшет накрити кришкою або захисною плівкою і витримати:	
	в термостаті 30 хв. (37,0 ± 1,0)°С.	в термостатуючому шейкері (500 об/хв.) 15 хв. (37,0 ± 1,0) °С.
4	За допомогою промивного пристрою видалити вміст лунок в ємність з дезінфікуючим розчином і промити планшет 4 рази робочим ПР. Для цього внести робочий ПР в лунки планшета до країв (не менше 380 мкл в лунку), витримати 40 сек, потім видалити в ємність з дезінфікуючим розчином. При необхідності видалити залишки вологи шляхом відстукування по складеному в кілька шарів фільтрувальному папері. <i>Рекомендується використовувати автоматичний мікроплашетний вошер. Недостатня промивка може несприятливо вплинути на точність аналізу.</i>	
5	У всі лунки внести по 100 мкл розчину робочого кон'югату.	
6	Планшет накрити кришкою або захисною плівкою і витримати:	
	в термостаті 30 хв. (37,0 ± 1,0)°С.	в термостатуючому шейкері (500 об/хв.) 20 хв. (37,0 ± 1,0)°С.
7	Видалити вміст лунок і промити планшет 4 рази робочим ПР, як зазначено в п 4.	
8	У всі лунки внести по 100 мкл СС	
9	Планшет витримати 20 хв в захищеному від світла місці при кімнатній температурі або 15 хв при температурі (37,0 ± 1,0) °С.	
10	У всі лунки внести по 150 мкл стоп-реагенту і провести облік результатів при 450 / 620-680 нм. Припустимо облік результатів при одній довжині хвилі - 450 нм.	

Схема проведення ІФА приведена в Додатку.

10.3. Проведення ІФА в автоматичному режимі

Таблиця 3

Витрата реагентів набору при постановці на ІФА-аналізаторах

Кількість використовуваних стрипів	4		8		12	
	(тільки для комплекту 1)		(тільки для комплекту 1)			
Робочий ПР	ПР (x25), мл	16,0	32,0	40,0		
	Вода, мл	384,0	768,0	960,0		
Робочий Кон'югат	кон'югат GM (x11), мл	0,7	1,2	1,2		
	кон'югат G (x11), мл					
	РРК, мл	7,0	12,0	12,0		
СС	СБ, мл	7,0	12,0	12,0		
	ТМБ (x11), мл	0,7	1,2	1,2		

- Провести підготовку аналізатора до роботи згідно з інструкцією по експлуатації ¹.
- Завантажити в аналізатор реагенти набору, робочі розчини в спеціальних контейнерах або ємностях.
- Завантажити в аналізатор досліджувані зразки (не менше 300 мкл).
- Запустити програму проведення ІФА, адаптовану для даного набору реагентів.
- Після закінчення аналізу прилад видає протокол за результатами дослідження, в якому дається характеристика кожного досліджуваного зразка і контрольних зразків К+ і К-.
- Далі облік результатів проводити відповідно до п. XI.

¹при відсутності в програмі для промивання пристрою стандартних опцій, таких як придонна і перехресна аспірація, регулювання позицій донної аспірації, швидкості промивання і сили потоку наливається рідини, часу замочування і часу аспірації, а також швидкості струшування, щоб уникнути отримання некоректних результатів допускається введення в процедуру додаткової відмивання планшета.

Спектрофотометричний контроль внесення зразків і реагентів при постановці на ІФА-аналізаторах:

- Контроль внесення БР з досліджуваними зразками рекомендується проводити при довжині хвилі 620 нм, критерій: ОП > 0,400 (при постановці із зразками сироваток (плазм) крові людини) і ОП > 0,200 (при постановці із зразками ліквору).
- Контроль внесення кон'югату GM і кон'югатів G рекомендується проводити при довжині хвилі 450 нм, критерій: ОП > 0,100.
- Контроль внесення СС рекомендується проводити при довжині хвилі 405 нм, критерій: ОП > 0,050.

XI. ОБЛІК РЕЗУЛЬТАТІВ

Реакцію враховувати, якщо середнє значення оптичної густини (ОП_{ср.}) в лунках з К+ становить не менше 0,600, а середнє значення ОП розчинів в лунках з К- не більше 0,200.

ОПкрит. розраховують за формулою:

$$\text{ОПкрит.} = \text{ср. знач. ОП К-} + A \quad (A=0,350),$$

де А - коефіцієнт, який визначається методом статистичної обробки результатів постановки ІФА на підприємстві-виробнику, величину якого вказують для кожної серії в інструкції по застосуванню, що вкладається в коробку з набором, і в паспорті на серію.

Досліджувані зразки розцінювати як позитивні: якщо $\text{ОП} \geq (\text{ОПкрит.} \times 1,1)$.

Досліджувані зразки розцінювати як негативні якщо $\text{ОП} \leq (\text{ОПкрит.} \times 0,9)$.

Якщо значення ОП досліджуваного зразка перевищує значення ОПкрит. $\times 0,9$, але менше значення ОПкрит. $\times 1,1$, тоді результат потрапляє в «сіру зону» ($0,9 \times \text{ОПкрит.} < \text{ОПобр.} < 1,1 \times \text{ОПкрит.}$).

У цьому випадку необхідно провести додаткове дослідження зразків на антитіла до *T. pallidum* через 1-2 тижні після першого забору крові. Бажано, щоб повторно взятий зразок досліджувався одночасно з попереднім («парні» зразки), що дозволить з більшою вірогідністю оцінити динаміку утворення специфічних антитіл

Визначення титру антитіл

Набір реагентів «ДСУ-ІФА-АНТИ-ЛЮІС» можна використовувати для визначення титру антитіл до *T. pallidum* в зразках сироватки (плазми) крові людини.

Зразки сироватки (плазми) крові людини, при тестуванні яких було отримано позитивний результат, можуть бути використані для напівкількісного аналізу - визначення титру специфічних антитіл до *T. pallidum*. Титр антитіл можна визначити двома способами.

Спосіб 1.

1. Внести 180 мкл БР в першу лунку і 100 мкл БР в інші лунки стрипа планшета.
2. Потім в першу лунку додати 20 мкл зразка, що містить антитіла до *T. pallidum*. Вміст лунки ретельно перемішати обережним піпетуванням і перенести 100 мкл розведеного зразка в наступну лунку ряду, після чого вміст цієї лунки ретельно перемішати і так повторити до кінця ряду, після перемішування 100 мкл вмісту останньої лунки стрипа відібрати і перенести в ємність з дезінфікуючим розчином.

Наступні операції виконати відповідно до п. X (п. 2-10). За титр антитіл до *T. pallidum* приймають максимальне розведення зразка, при якому реєструється позитивний результат.

Спосіб 2.

Зразки з ОП/ОПкрит. $\leq V1$ мають титр 1/10, а зразки $V1 < \text{ОП/ОПкрит.} < V2$ мають титр 1/20 ($V1=2,00$; $V2=5,00$).

Зразки з ОП. / ОП крит. $\geq V2$ необхідно розвести в 100 разів. Для цього:

1. В 2 лунки планшета внести по 90 мкл БР.
2. У першу лунку додати 10 мкл досліджуваного зразка (розведення в 10 разів).
3. Після ретельного перемішування вмісту лунки обережним піпетуванням 10 мкл розведеного в 10 разів зразка перенести в другу лунку (розведення в 100 разів). Всі наступні операції проводити відповідно до п. X (п. 2-10).
4. Визначити титр антитіл по таблиці 4.

Примітка: допустима похибка визначення титру за таблицею відповідності становить ± 1 титр.

Таблиця 4

Відповідність величини ОП (1: 100) / ОП крит. титру антитіл класу G і M до *T. pallidum*

ОП (1:100)/ОПкрит.	Титр антитіл
До V3 / до 0,80	1/40
від V4 до V5 / від 0,81 до 2,30	1/80
від V6 до V7 / від 2,31 до 4,00	1/160
від V8 до V9 / від 4,01 до 5,60	1/320
від V10 до V11 / від 5,61 до 7,00	1/640
від V12 до V13 / від 7,01 до 8,00	1/1280
від V14 до V15 / від 8,01 до 8,40	1/2560
від V16 / від 8,41	1/5120

де V1-V16 - коефіцієнти, що визначаються методом статистичної обробки результатів ІФА на підприємстві-виробнику, величину яких вказують для кожної серії в інструкції по застосуванню, що вкладається в коробку з набором.

ХІІ. ОБМЕЖЕННЯ ТЕСТУ

- Негативний результат дослідження при визначенні антитіл не виключає наявності інфекції у пацієнта. Низький рівень антитіл в таких зразках може бути поза межами чутливості ІФА.
- Реактивність зразків сироватки (плазми) крові і ліквору людини в ІФА в більшості випадків зберігається після проведеної терапії.
- Клінічний діагноз не може ґрунтуватися на результаті одного тесту, а повинен базуватися на кореляції результатів лабораторних досліджень з клінічними даними.
- Хибно позитивні результати дослідження в ІФА можуть спостерігатися при ВІЛ-інфекції, гепатитах, онкологічних захворюваннях, хламідіозі, вагітності, інфекційному мононуклеозі, лепрі, аутоімунних хворобах і наркозалежності.

ХІІІ. ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ. УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ І ТРАНСПОРТУВАННЯ.

13.1	Термін придатності. Умови зберігання набору реагентів «ДСУ-ІФА-АНТИ-ЛЮІС»		
	Зберігати в сухому, захищеному від світла місці, при температурі від 2 до 8 °С. Заморожування не допускається.	Термін придатності 12 місяців. Термін придатності серії вказано на упаковці набору. Набір реагентів з вичерпаним терміном придатності використанню не підлягає.	
13.2	Умови транспортування набору реагентів «ДСУ-ІФА-АНТИ-ЛЮІС»		
	при температурі від 2 до 8 °С.		
	при температурі від 25 °С.	не більше 10 діб	
	при температурі від 30 °С.	не більше 5 діб	
13.3	Умови та термін зберігання робочих розчинів (зберігати в чистій, щільно закритій ємності, в захищеному від світла місці)		
	Робочий ПР	при температурі від 18 до 25 °С	не більше 14 діб
		при температурі від 2 до 8 °С	не більше 28 діб
	Робочий кон'югат GM Робочий кон'югат G	при температурі від 18 до 25 °С.	не більше 12 год.
	СС	в хімічно чистих флаконах або спеціальної ємності, призначеної для постановки на ІФА-аналізаторах, при температурі від 18 до 25 °С	не більше 10 год.
13.4	Умови та термін зберігання невикористаних реагентів набору після відкриття		
	Імуносорбент	При температурі від 2 до 8 °С. Після відкриття невикористані стрипи імуносорбенту без рамки помістити в фольгований пакет (без видалення силікагель!) і ретельно герметизувати. Для цього край пакета слід звернути 2-3 рази і помістити фольгований пакет зі стрипами в поліетиленовий пакет з замком Zip-Lock. Зберігати в сухому, захищеному від світла місці.	протягом 6 місяців.
	Невикористані рідкі реагенти набору	При температурі від 2 до 8 °С. Флакони з реагентами щільно закрити гвинтовими кришками і зберігати в упаковці виробника в сухому, захищеному від світла місці.	протягом терміну придатності набору реагентів

ХІV. ГАРАНТІЙНІ ЗОБОВ'ЯЗАННЯ

- Виробник гарантує відповідність продукту вимогам нормативної і технічної документації.
- Безпека і якість продукту гарантуються протягом всього терміну придатності.
- Рекламачії на специфічні і фізичні властивості набору направляти на адресу підприємства-виготовлювача ТОВ «Діагностичні системи Україна», Україна, 04107, м. Київ, вул. Багговутівська, б. 8/10, тел. 044 361 55 76 E-mail: ua@npods.ru.

Для проведення розслідування і отримання об'єктивних висновків по заявленій рекламачії необхідно надання:

- 1) рекламачійного набору реагентів;
- 2) всіх досліджених зразків пацієнта;
- 3) протоколів досліджень з використанням інших методів із зазначенням серій, термінів придатності;
- 4) протоколів досліджень з використанням референтних тестів із зазначенням серій, термінів придатності.

XV. ПОЯСНЕННЯ СИМВОЛІВ

	Медичний виріб для діагностики in vitro		Термін придатності (дата закінчення терміну придатності в форматі YYYY-MM-DD)
	Виробник		Зверніться до інструкції по застосуванню
	Номер за каталогом		Температурний діапазон
	Вмісту досить для проведення п-кількості тестів (кількість визначень)		Не допускати впливу сонячного світла
	Код партії (номер серії)		Берегти від вологи
	Дата виготовлення (YYYY-MM)		Увага
	Знак відповідності		

СХЕМА АНАЛІЗУ

1	Внести	По 100 мкл К+, К-
2	Внести	По 90 мкл БР (для зразків сироваток і плазм крові) або по 50 мкл БР (для зразків ліквору)
3	Внести	По 10 мкл досліджуваних зразків сироваток (плазм) крові людини або по 50 мкл зразків ліквору
4	Інкубувати	Процедура 1 (набір 1/набір 2): 30 хв., $(37,0 \pm 1,0)^\circ\text{C}$, термостат Процедура 2 (набір 1): 15 хв., 500 об/хв., $(37,0 \pm 1,0)^\circ\text{C}$, термошейкер
5	Промити планшет	Робочий ПР, 380 мкл, 4 рази
6	Внести	По 100 мкл робочого Кон'югату GM / Кон'югату G
7	Інкубувати	Процедура 1 (набір 1/набір 2): 30 хв., $(37,0 \pm 1,0)^\circ\text{C}$, термостат Процедура 2 (набір 1): 20 хв., 500 об/хв., $(37,0 \pm 1,0)^\circ\text{C}$, термошейкер
8	Промити планшет	Робочий ПР, 380 мкл, 4 рази
9	Внести	По 100 мкл СС
10	Інкубувати	20 хв, при кімнатній температурі або 15 хв, $(37,0 \pm 1,0)^\circ\text{C}$ в захищеному від світла місці
11	Внести	По 150 мкл Стоп-реагенту
12	Облік результатів	450 нм/620-680 нм або 450 нм