





REF	L-331		500
REF	L-338		1000
REF	L-332		500

ІНСТРУКЦІЯ
по застосуванню
Набору реагентів «ДСУ-ЛЮІС-ТЕСТ»
для визначення асоційованих з сифілісом реакінових антитіл
в зразках сироватки (плазми) крові, ліквори людини

ЗМІСТ

I.	ПРИЗНАЧЕННЯ	3
II.	ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ	3
III.	ПРИНЦИП ТЕСТУ	3
IV.	СКЛАД НАБОРУ РЕАГЕНТІВ «ДСУ-ЛЮІС-ТЕСТ»	3
V.	АНАЛІТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ	4
VI.	ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ	4
VII.	УТИЛІЗАЦІЯ І ЗНИЩЕННЯ	5
VIII.	НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ І ОБЛАДНАННЯ, ЯКІ НЕ ПОСТАВЛЯЮТЬСЯ З НАБОРОМ РЕАГЕНТІВ	5
IX.	ВІДБІР І ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ	5
X.	ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ	5
XI.	ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ	5
XII.	ОБМЕЖЕННЯ ТЕСТУ	7
XIII.	ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ. УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ І ТРАНСПОРТУВАННЯ	7
XIV.	ГАРАНТІЙНІ ЗОБОВ'ЯЗАННЯ	7
XV.	ПОЯСНЕННЯ СИМВОЛІВ	8

Варіант виконання 1 (набір 1) – з незабарвленим кардіоліпіновим антигеном, розрахований на проведення 500 (комплект 1) і 1000 (комплект 2) визначень в реакції мікропреципітації асоційованих з сифілісом реакіонних антитіл.

Варіант виконання 2 (набір 2) – з пофарбованим кардіоліпіновим антигеном, розрахований на проведення 500 визначень в реакції мікропреципітації асоційованих з сифілісом реакіонних антитіл, включаючи дослідження контрольних зразків.

I. ПРИЗНАЧЕННЯ.

Набір реагентів "ДСУ-ЛЮІС-ТЕСТ" для визначення асоційованих з сифілісом реакіонних антитіл, призначений для визначення асоційованих з сифілісом реакіонних антитіл в зразках сироватки (плазми) крові, ліквори людини і повинен використовуватися в клініко-діагностичних лабораторіях спеціально навченим персоналом.

II. ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ.

У хворих на активні форми сифілітичної інфекції в сироватці (плазмі) крові та, при деяких формах, в спинномозковій рідині з'являються реакіонні антитіла, специфічно взаємодіють з ліпоїдними антигенами клітинної мембрани збудника захворювання *T. pallidum*. До регламентованих методів дослідження, що застосовуються для діагностики сифілітичної інфекції, відносяться нетрепонемні тести, призначені для визначення реакіонних антитіл з використанням кардіоліпінового антигену: реакція мікропреципітації (РМП), тест швидкого визначення реакіонів плазми (Rapid Plasma Reagin Test, RPR) і інші.

Кардіоліпіновий антиген, що входить до складу набору реагентів «ДСУ-ЛЮІС-ТЕСТ», містить кардіоліпін, лецитин, холестерин, холін-хлорид, ЕДТА і тімеросал як консервант.

Після успішно проведеної специфічної терапії із застосуванням антибактеріальних засобів у пацієнтів з сифілітичною інфекцією спостерігається зниження вмісту реакіонних антитіл до *T. pallidum*, і зазвичай через кілька місяців результати реакіонних тестів стають негативними. Результати напівкількісного визначення реакіонних антитіл (титру антитіл) можуть бути використані в якості критеріїв оцінки ефективності антибіотикотерапії хворих на сифіліс, вилікування і можливості зняття з клініко-діагностичного спостереження.

III. ПРИНЦИП ТЕСТУ.

При проведенні реакції мікропреципітації кардіоліпіновий антиген взаємодіє з присутніми в сироватці (плазмі) крові або лікворі хворих на сифіліс реакіонними антитілами:

- з утворенням білих агрегатів, наявність яких визначають візуально або з використанням лупи з дворазовим збільшенням. Визначення проводять на предметному склі або в реакційних лунках діаметром 1-1,2 см і глибиною не менше 0,5 см пластини з прозорого матеріалу (для набору 1).
- з утворенням темних агрегатів, що візуально визначаються. Визначення проводять в реакції мікропреципітації на тест-картах (для набору 2).

IV. СКЛАД НАБОРУ РЕАГЕНТІВ «ДСУ-ЛЮІС-ТЕСТ»

4.1. Склад набору.

Таблиця 1

Характеристики реагентів		Набір 1		Набір 2
		комплект 1	комплект 2	-
КА незабарвлений	Кардіоліпіновий антиген, суспензія, що містить кардіоліпін, лецитин, холестерин з додаванням холін-хлориду, ЕДТА (стабілізатор), тімеросал (консервант). Після ретельного перемішування обережним перекиданням флакона КА являє собою суспензію молочно-білого кольору, при відстоюванні розділяється на опалесцюючу безбарвну рідину і осад білого кольору	3 флакона по 5,0 мл	8 флаконів по 3,75 мл або 3 флакона по 10,00 мл	-
КА забарвлений	Кардіоліпіновий антиген, суспензія, що містить кардіоліпін, лецитин, холестерин з додаванням холін-хлориду, ЕДТА (стабілізатор), тімеросал (консервант), судан чорний (барвник). Після ретельного перемішування обережним перекиданням флакона КА являє собою суспензію темного синьо-сірого кольору, при відстоюванні розділяється на опалесцюючу безбарвну або блакитнувату рідину з осадом темного синьо-сірого кольору.	-	-	2 флакона по 5,0 мл -
К+	Позитивний контрольний зразок, що містить реакіонні антитіла до антигенів <i>T. Pallidum</i> , інактивованій. Прозора або злегка опалесцююча рідина червоного кольору.	1 флакон 1,0 мл	-	1 флакон 1,0 мл

Набір комплектується готовими реагентами. Є маркування за допомогою штрих-кодів, а також колірне кодування реагентів. Колірне кодування реагентів - умовне позначення кольору / забарвлення рідких реагентів. КА (незабарвлений) - безбарвний; КА (забарвлений) - синій; К + - червоний.

Реагенти поміщають в коробку картонну або пакет поліетиленовий, куди вкладають інструкцію із застосування.

4.2. Приналежності: тест-карти (50 шт.), піпетка (крапельниця) пластмасова для дозування КА (1 шт.).

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

V. АНАЛІТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ.

Діагностична чутливість

Діагностична чутливість набору реагентів оцінена на 400 клінічних зразках сироваток (плазм) крові людини і склала 98,5% (95% СІ: 97,2-99,8%) (394/400), що на 100% відповідає результатам тесту "Syphilis RPR Test" (Human, Німеччина).

Діагностична чутливість набору реагентів оцінена на 30 клінічних зразках ліквору, - 86,7% (95% СІ: 70,3-94,7%) (26/30), що на 100% відповідає результатам тесту «Антиген кардіоліпіновий для реакції мікропреципітації (РМП)».

Специфічність набору реагентів «ДСУ-ЛЮІС-ТЕСТ» при дослідженні зразків сироваток (плазм) крові людини склала 99,0% (95% СІ: 98,7-99,2%) (5280/5333), при дослідженні ліквору - 100% (95 % СІ: 99,0-100%) (371/37).

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.

VI. ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ.

6.1. Потенційний ризик застосування набору – перелік В.

6.2. Набір призначений для професійного використання в клінічній лабораторній діагностиці.

6.3. Достовірність результатів залежить від виконання наступних правил лабораторної практики:

- Не можна використовувати реагенти з наборів різних серій і змішувати їх в процесі приготування розчинів.

6.4 Правила лабораторної практики та запобіжні заходи.

- Не змінювати процедуру проведення аналізу.
- Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності, зазначеного на упаковці.
- Ретельно промивати лабораторний посуд.
- Не допускати висихання реакційного середовища в лунці пластини або на поверхні предметного скла!
- Після використання крапельниці ретельно продезінфікувати, потім промити водою дистильованою або деіонізованою і висушити.
- Використовувати валідовані дозатори і обладнання, нові наконечники одноразові для кожного зразка.
- Не піддавати реагенти впливу високої температури або прямого сонячного світла під час інкубації і зберігання.
- Промивати руки після роботи з набором реагентів і досліджуваними зразками.
- При роботі з набором реагентів і досліджуваними зразками використовувати спецодяг та одноразові рукавички.
- У приміщенні з імунодіагностичними матеріалами не можна вживати їжу, пити, палити, застосовувати косметику.
- Необхідно уникати розплескування зразків або розчинів, що містять зразки. При розплескуванні негайно дезінфікувати поверхню розчином засобу, який містить хлор, відповідно до інструкції по застосуванню.
- Відходи, що містять біологічні зразки, потрібно нейтралізувати до скидання в каналізацію.
- Сироватки крові людини, використані при приготуванні К +, не містять HBsAg, p24 антигену ВІЛ-1, антитіл до ВІЛ-1, 2 і HCV.
- При роботі з реагентами набору «ДСУ-ЛЮІС-ТЕСТ», досліджуваними зразками і обладнанням потрібно поводитись як з потенційно небезпечними матеріалами, тому що жоден відомий метод тестування не може гарантувати відсутність інфекційних агентів.

6.5 Паспорт безпеки на набір реагентів «ДСУ-ЛЮІС-ТЕСТ» може бути представлений за запитом клієнта.

VII. 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.

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

- Предметне скло або реакційна пластина з прозорого матеріалу з лунками діаметром 1-1,2 см і глибиною не менше 0,5 см.
- Дозатори піпеточні змінного об'єму для відбору рідин.
- Наконечники одноразові для дозаторів піпеточних.
- Шейкер з частотою коливань 200 об / хв або ротатор з частотою коливань (100 ± 50) об / хв.
- Папір фільтрувальний лабораторний.
- Ізотонічний (фізіологічний) розчин з вмістом натрію хлориду. Використовується при контролі КА, а також при визначенні титру реакінових антитіл в К + і досліджуваних зразках.

IX. ВІДБІР І ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ.

Збір зразків крові людини проводити відповідно до поточної практикою методом венепункції. Для дослідження можна використовувати зразки сироватки крові людини (як прогріті протягом 30 хв при температурі (56,0 ± 1,0) °С, так і непрогріті), зразки плазми людини, зразки ліквору, отримані стандартними методами. Зразки, що містять агрегати або осад, освітлювати центрифугуванням при 1000-2000 об / хв (15 хв, 2-8 °С).

Зразки можна зберігати відповідно до вимог існуючих нормативних документів. Зразки сироватки (плазми) крові людини з вираженим гемолізом, гіперліпідемією і бактеріальним ростом аналізу не підлягають. Тривале зберігання допустимо при температурі не вище мінус 20 °С (заморожування / відтавання не більше 1 рази). Щоб уникнути осадження фібрину плазму розморозувати протягом декількох хвилин при температурі (39,0 ± 1,0) °С на водяній бані.

X. ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ.

Перед використанням всі реагенти набору витримати не менше 30 хв при кімнатній температурі.

- **К+** (контрольний позитивний зразок), готовий до застосування - перед використанням флакон з реагентом перемішати, не допускаючи спінювання.
- **КА (кардіоліпіновий антиген)**, готовий до застосування - перед використанням КА перемішати, обережно перевертаючи флакон не менше 30 разів до отримання гомогенної суспензії. Необхідна для дослідження кількість КА відібрати в чистий скляний флакон.

При використанні піпетки (крапельниці) - резервуар крапельниці стиснути, голку опустити в скляний флакон з доведеним до гомогенного стану кардіоліпіновим антигеном (обережним перемішуванням) і набрати необхідну кількість його в крапельницю.

Після закінчення заповнення крапельниці флакон з кардіоліпіновим антигеном необхідно закрити!

XI. ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ.

Примітка: Якщо при роботі використовується крапельниця, то перед дослідженням антиген в крапельниці обережно перемішати, крапельницю перевести в вертикальне положення голкою вниз, першу краплю скинути, перевіривши тим самим прохідність голки, а наступні краплі нанести на поверхні лунок або кіл (у цілому кінчиком голки поверхні кола!).

Етап	Набір 1	Набір 2
	Визначення реакінових антитіл до T. pallidum (якісне дослідження).	
1.	На поверхню предметного скла або в лунки пластини дозатором піпеточним нанести 90 мкл досліджуваного зразка і рівномірно розподілити його наконечником дозатора по всій поверхні кола (лунки), після чого наконечник скинути в ємність для дезінфекції.	На поверхню одного з кіл тест-карти дозатором піпеточним нанести 50 мкл досліджуваного зразка і рівномірно розподілити його наконечником дозатора по всій поверхні кола, після чого наконечник скинути в ємність для дезінфекції.
1.1.	При контролі КА (проводити кожен раз в день дослідження):	
	на поверхню інших лунок точно так же нанести 90 мкл К + і 90 мкл фізіологічного розчину (для комплекту 1).	на поверхню інших кіл тест-карти точно так же нанести 50 мкл К + і 50 мкл фізіологічного розчину .

2.	На поверхню предметного скла або в реакційні лунки пластини з досліджуваними зразками, К+ і фізіологічним розчином додати дозатором піпеточним 30 мкл гомогенної суспензії КА (при використанні крапельниці - 2 краплі).	На поверхню кіл тест-карти з нанесеними досліджуваними зразками, К+ і фізіологічним розчином додати дозатором піпеточним 16 мкл гомогенної суспензії КА (при використанні крапельниці - 1 крапля).
3.	Інгредієнти реакції перемішати обережним погойдуванням пластини, скла або тест-карти на шейкері з частотою коливань 200 об / хв протягом 8-10 хв або на ротаторі з частотою коливань (100 ± 50) об / хв протягом 8 хв, після чого негайно провести облік результатів.	
4.	Облік результатів дослідження зразків і КА.	
4.1.	При дослідженні зразків. Результати дослідження вважати позитивними, якщо в лунці пластини, скла або на колі тест-карти з досліджуваним зразком видно білі агрегати (набір 1) / темні агрегати (набір 2) різної величини: великі (реакція +++++), середні (реакція +++), дрібні (реакція ++) з чіткими просвітленнями рідини між ними.	
4.2.	При контролі КА. На поверхні скла або в лунці пластини з К + повинні бути видні білі агрегати (набір 1) / темні агрегати (набір 2) пластівці частинок середніх розмірів з чіткими просвітленнями рідини між ними (позитивна реакція інтенсивністю не менше +++). У лунках з фіз. розчином, де реакційна середу повинна залишатися без агрегатів і просвітлень, з рівномірно розподіленими в ній частками (негативна реакція).	
4.3.	При негативному результаті дослідження , свідчить про відсутність реакційних антитіл в досліджуваному зразку, стан реакційного середовища не змінюється. На поверхні скла, кола або в лунці пластини з зразком спостерігається рівномірний розподіл часток без освіти агрегатів.	
4.4.	Зразки, які показали в якісному дослідженні позитивні результати (++++, +++) необхідно досліджувати напівкількісним методом для визначення титру реакційних антитіл.	
5.	Визначення титру реакційних антитіл (напівкількісне дослідження)	
5.1.	У лунках пластини або на поверхні скла приготувати 2-кратні розведення досліджуваних зразків на фіз. розчині від 1: 2 до 1: 512 відповідно до наведеної схемою постановки (див. таблицю 3).	
5.2.	Інгредієнти реакції перемішати обережним погойдуванням пластини або скла на шейкері з частотою коливань 200 об / хв протягом 8-10 хв або на ротаторі з частотою коливань (100 ± 50) об / хв протягом 8 хв, після чого негайно провести облік результатів.	
5.3.	Облік результатів провести з урахуванням критеріїв оцінки, наведених у розділі 4.	

Таблиця 3

Схема приготування розведень досліджуваних зразків

№ лунки		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Розведення			1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512
Постановка для набору 1	Фізіологічний розчин, мл	-	90	90	90	90	90	90	90	90	90
	Зразок, мл	90	90	-	-	-	-	-	-	-	-
	Перемішування і перенесення в наступну лунку, мл		90 →	90 →	90 →	90 →	90 →	90 →	90 →	90 →	90 → видалення
Постановка для набору 2	Фізіологічний розчин, мл	-	50	50	50	50	50	50	50	50	50
		50	50	-	-	-	-	-	-	-	
	Перемішування і перенесення в наступну лунку, мл		50 →	50 →	50 →	50 →	50 →	50 →	50 →	50 →	50 → видалення

Титром реакінових антитіл вважати максимальне розведення зразка, що дає позитивний результат - утворення в лунці або на поверхні скла агрегатів.

Після закінчення дослідження залишки кардіоліпінового антигену з крапельниці перелити в окремий скляний флакон, зберігати при температурі від 2 до 8 ° С і використати до кінця терміну придатності набору реагентів.

ХІІ. ОБМЕЖЕННЯ ТЕСТУ.

- Температура реагентів і зразків має критичне значення для результатів; температура повинна бути кімнатної.
- Час проведення реакції повинно відповідати заданим. Більш тривале проведення реакції може привести до хибнопозитивних результатів через висихання рідини на поверхні кола.
- Реактивні зразки повинні бути перевірені в специфічному трепонемному тесті.
- Іноді спостерігаються біологічні хибнопозитивні реакції з кардіоліпіновим антигеном. Такі реакції спостерігаються у пацієнтів, які в минулому страждали наркозалежністю або мають такі захворювання як системний червоний вовчак, віспа, мононуклеоз, лепра, вірусна пневмонія та ін.
- Титри реакінових антитіл у пацієнтів після лікування прихованого або пізнього сифілісу або пацієнтів, повторно інфікованих сифілісом, не знижуються так швидко, як у пацієнтів на ранній стадії первинного інфікування. Насправді у них може зберегтися низький рівень реактивності на все життя.
- Ефект прозони спостерігається у пацієнтів з вторинним сифілісом. Помилково негативні результати нетрепонемних тестів, що виникають за рахунок Прозони, можуть також спостерігатися на ранніх і пізніх стадіях сифілісу. Нереактивний зразок, проявляючий прозону, злегка зернистий або «шорсткий». Такі зразки повинні бути додатково досліджені. В цьому випадку необхідно приготувати розведення зразка. Зразок титрується до кінцевої точки, що дає позитивну реакцію.
- Пінта, фрамбезія, беджель і інші трепонемні захворювання дають позитивну реакцію в даному тесті.
- У відповідності з усіма діагностичними методами, остаточний діагноз не повинен ґрунтуватися на результатах одного тесту, а повинен базуватися на кореляції результатів декількох тестів з клінічними даними

ХІІ. ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ. УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ І ТРАНСПОРТУВАННЯ

13.1.	Умови та термін зберігання набору реагентів «ДСУ-ЛЮІС-ТЕСТ»	
	Зберігати в сухому, захищеному від світла місці, при температурі від 2 до 8 ° С. Заморожування не допускається.	Термін придатності 18 місяців. Термін придатності серії вказано на упаковці набору. Набір з вичерпаним терміном придатності використанню не підлягає.
13.2.	Умови і строки транспортування набору реагентів «ДСУ-ЛЮІС-ТЕСТ»:	
	при температурі від 2 до 8 ° С.	
	при температурі до 25 ° С.	не більше 10 діб
	при температурі до 30°С.	не більше 5 діб
13.3.	Умови та термін зберігання невикористаних реагентів набору після відкриття (флакони з реагентами щільно закрити гвинтовими кришками і зберігати в сухому, захищеному від світла місці).	
	КА, К+	при температурі від 2 до 8 °С. В упаковці виробника, протягом терміну придатності набору реагентів.

ХІІІ. ГАРАНТІЙНІ ЗОБОВ'ЯЗАННЯ.



- Виробник гарантує відповідність продукту вимогам нормативної і технічної документації. Безпека і якість продукту гарантуються протягом усього терміну придатності.
- Рекламация на специфічні і фізичні властивості набору направляти на адресу підприємства-виробника 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 рекламация необхідно надання:

- 1) рекламацияного набору реагентів;
- 2) всіх зразків кроводач пацієнта;
- 3) протоколів досліджень з використанням інших методів із зазначенням серії, термінів придатності;

4) протоколів досліджень з використанням референтних наборів реагентів із зазначенням номера серії, термінів придатності.

XIV. ПОЯСНЕННЯ СИМВОЛІВ.

	Медичний виріб для діагностики in vitro		Використовувати до (число / місяць / рік)
	Виробник		Дата виготовлення (місяць / рік)
	Номер за каталогом		Зверніться до інструкції по застосуванню
	Вмісту досить для проведення n-кількості тестів (кількість визначень)		Температурний діапазон
	Код партії (номер серії)	Code: X.X.XX	Ідентифікаційний код
	«Увага»;	 UA.TR.116	Знак відповідності
	Не допускати впливу сонячного світла		Берегти від вологи.