

Certificate

mdc medical device certification GmbH
certifies that

VECTOR



**AO Vector-Best
Research and Production Area
Building 36, Office 211, Koltsovo
630559 Novosibirsk region
Russian Federation**

with the locations listed in the attachment
for the scope

**Design and development, production and distribution of
medical devices for in vitro diagnostics (PCR, ELISA, Biochemistry)**

has introduced and applies a

Quality Management System

The mdc audit has proven that this quality management system
meets all requirements of the following standard

EN ISO 13485

Medical devices – Quality management systems –
Requirements for regulatory purposes

EN ISO 13485:2016 + AC:2016 - ISO 13485:2016

Valid from	2020-07-04
Valid until	2023-07-03
Registration no.	D1213100019
Report no.	P20-00568-173687
Stuttgart	2020-06-02


Head of Certification Body



Attachment of the certificate

No. D1213100019

date 2020-06-02

Page 1 of 1

Location	Scope
AO Vector-Best Arbuzova str. 1/1, 630117 Novosibirsk Russian Federation	design and development, production and distribution of medical devices for in vitro diagnostics
AO Vector-Best Research and Production area, building 36, Koltsovo, 630559 Novosibirsk region Russian Federation	design and development, production of medical devices for in vitro diagnostics
AO Vector-Best Pasechnaya str, 3, 630117 Novosibirsk Russian Federation	design and development, production of medical devices for in vitro diagnostics




Head of Certification Body

ПАСПОРТ № 1335-22
РекомбиБест антипаллидум-IgM

D-1858

Набор реагентов для иммуноферментного выявления антител класса IgM к Treponema pallidum

Хранить при температуре 2-8°C Транспортировать при температуре 2-8°C. Допускается транспортирование при температуре до 25°C не более 10 суток.	Номер серии 3838
	Количество наборов в серии 445
	Дата изготовления 2022-04-07
	Дата выдачи паспорта 2022-04-07
	Срок годности наборов до 2023-04-07

Состав	Внешний вид	Результаты контроля
Планшет с иммобилизованными моноклональными антителами к IgM человека	96 луночный разборный полистироловый планшет с прозрачными бесцветными лунками	Соответствует
Положительный контрольный образец (К+), инактивированный	Аморфная масса белого или светло-желтого цвета	Соответствует
Отрицательный контрольный образец (К-), инактивированный	Аморфная масса белого или светло-желтого цвета	Соответствует
Конъюгат	Аморфная масса белого или светло-желтого цвета, гигроскопична	Соответствует
Раствор для предварительного разведения (РПР)	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
Раствор для разведения сывороток и конъюгата (РСК)	Непрозрачная жидкость светло-серого цвета	Соответствует
25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Тх25)	Прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная жидкость; возможно выпадение осадка солей, растворяющегося при нагревании до (30-40)°C	Соответствует
Субстратный буферный раствор (СБР)	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
Тетраметилбензидин (ТМБ), концентрат	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
Стоп-реагент	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует

Показатель	Норма	Результаты контроля
Оптическая плотность в лунках с положительным контрольным образцом, (450 нм - 620 нм) / (450 нм), ед. опт. плотн., не менее	ОП К- + 0,2	1,447 / 1,494
Оптическая плотность в лунках с отрицательным контрольным образцом, (450 нм - 620 нм) / (450 нм), ед. опт. плотн., не более	0,2	0,002 / 0,036
Оптическая плотность в лунке с контролем конъюгата (450 нм - 620 нм) / (450 нм), ед. опт. плотн., не более	0,2	0,003 / 0,037
Чувствительность на сыворотках стандартной панели предприятия (СПП+), содержащих антитела к Treponema pallidum, %	100	100
Специфичность на сыворотках стандартной панели предприятия (СПП-), не содержащих антитела к Treponema pallidum, %	100	100

Дополнительная информация:

Аликвота предварительно разведенного конъюгата для рабочего разведения, мкл	50
--	-----------

Заключение: Соответствует требованиям ТУ 9398-078-23548172-2007

по упаковке, маркировке, комплектности и по показателям качества

Начальник ОБТК



В.В. ШАПРОВ



ПАСПОРТ № 1415-22

D-1852

РекомбиБест антипаллидум-IgG (комплект 2)

Набор реагентов для иммуноферментного выявления антител класса IgG к *Treponema pallidum*Номер серии **3841**Количество наборов в серии **250**

Хранить при температуре 2-8°C

Дата изготовления **2022-04-12**

Транспортировать при температуре 2-8°C. Допускается транспортирование при температуре до 25°C не более 10 суток.

Дата выдачи паспорта **2022-04-12**Срок годности наборов до **2023-04-12**

Состав	Внешний вид	Результаты контроля
Планшет с иммобилизованными рекомбинантными антигенами <i>Treponema pallidum</i>	96 луночный разборный полистироловый планшет с прозрачными бесцветными лунками	Соответствует
Положительный контрольный образец (K+), инактивированный	Аморфная масса белого или светло-желтого цвета	Соответствует
Отрицательный контрольный образец (K-), инактивированный	Аморфная масса белого или светло-желтого цвета	Соответствует
Конъюгат	Аморфная масса белого или светло-желтого цвета	Соответствует
Раствор для предварительного разведения (РПР)	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
Раствор для разведения сывороток (РС)	Непрозрачная жидкость оранжево-красного цвета	Соответствует
Раствор для разведения конъюгата (РК)	Непрозрачная жидкость светло-серого цвета	Соответствует
25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Тх25)	Прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная жидкость; возможно выпадение осадка солей, растворяющегося при нагревании до (35-37)°C	Соответствует
Субстратный буферный раствор (СБР)	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
Тетраметилбензидин (ТМБ), концентрат	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
Стоп-реагент	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
Показатель	Норма	Результаты контроля
Оптическая плотность в лунках с положительным контрольным образцом, (450 нм - 620 нм) / (450 нм), ед. опт. плотн., не менее	0,8	3,424 / 3,489
Оптическая плотность в лунках с отрицательным контрольным образцом, (450 нм - 620 нм) / (450 нм), ед. опт. плотн., не более	0,2	0,005 / 0,044
Оптическая плотность в лунке с контролем конъюгата (450 нм - 620 нм) / (450 нм), ед. опт. плотн., не более	0,2	0,004 / 0,042
Чувствительность на сыворотках стандартной панели предприятия (СПП+), содержащих антитела к <i>Treponema pallidum</i> , %	100	100
Специфичность на сыворотках стандартной панели предприятия (СПП-), не содержащих антитела к <i>Treponema pallidum</i> , %	100	100
Дополнительная информация:		
Аликвота предварительно разведённого конъюгата для рабочего разведения, мкл		60
Титр K+		1:320

Заключение: Соответствует требованиям
ТУ 9398-068-23548172-2007

по упаковке, маркировке, комплектности и по показателям качества

Начальник ОБТК

В.В. ШАПРОВ



ВЕКТОР

БЕСТ

Набор реагентов
для иммуноферментного
выявления антител класса IgM
к *Treponema pallidum*

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

НАБОР РЕАГЕНТОВ

D-1858

РекомбиБест антипаллидум – IgM

«РекомбиБест антипаллидум – IgM» представляет собой набор, основой которого являются рекомбинантные антигены *Treponema pallidum*, входящие в состав конъюгата.

Основным свойством набора является способность выявлять в сыворотке (*плазме*) крови и ликворе человека специфические иммуноглобулины класса М к *Treponema pallidum* за счёт их взаимодействия с анти-IgM-антителами, иммобилизованными на поверхности лунок стрипов. Образование комплекса «анти-IgM-антитело – специфический IgM» выявляют с помощью конъюгата рекомбинантных белков *Treponema pallidum* с пероксидазой хрена.

Набор содержит все необходимые для проведения анализа реагенты, кроме дистиллированной воды.

Один набор рассчитан на проведение 96 анализов, включая контроли. Возможны 12 независимых постановок ИФА, при каждой из которых 4 лунки используются для постановки контролей.

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для выявления IgM к возбудителю сифилиса в сыворотке (*плазме*) крови и ликворе человека и рекомендуется для диагностики раннего сифилиса, нейросифилиса, а также врождённого сифилиса у детей.

2. СОСТАВ НАБОРА

- планшет разборный с иммобилизованными анти-IgM-антителами – 1 шт.;
- положительный контрольный образец, инактивированный (K⁺) – 1 фл., 0,5 мл;
- отрицательный контрольный образец, инактивированный (K⁻) – 1 фл., 0,5 мл;
- конъюгат (*рекомбинантные антигены Treponema pallidum, конъюгированные с пероксидазой хрена*) – 1 фл. или 2 фл.;
- раствор для предварительного разведения (РПР) – 1 фл., 3 мл;
- раствор для разведения сывороток и конъюгата (РСК) – 2 фл. по 13 мл;
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 1 фл., 28 мл;
- субстратный буферный раствор (СБР) – 1 фл., 13 мл;
- тетраметилбензидин (ТМБ), концентрат – 1 фл., 1,5 мл;
- стоп-реагент – 1 фл., 12 мл;
- плёнка для заклеивания планшета – 3 шт.;
- ванночка для реагентов – 2 шт.;
- наконечники для пипетки – 16 шт.

3. СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

При работе с исследуемыми сыворотками и контрольными образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом:

- * работать в резиновых перчатках;
- * не пипетировать растворы ртом;
- * все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями СП 1.3.2322-08 и МУ-287-113.

ВНИМАНИЕ! Тщательное соблюдение описанных ниже требований позволит избежать искажения результатов ИФА.

- Для приготовления растворов и проведения ИФА следует использовать чистую мерную посуду и автоматические пипетки с погрешностью измерения объёмов не более 5%.
- Желательно использовать свежееотобранные образцы сыворотки (*плазмы*) крови. Допускается использование образцов, хранившихся при (2-8)°С не более 5 суток, либо при минус (20±3)°С, если необходимо более длительное хранение.
- Сыворотки, содержащие взвешенные частицы, могут дать неправильный результат. Такие образцы перед использованием следует центрифугировать 10-15 мин при 3000 об/мин.
- Нельзя использовать проросшие, гемолизированные, гиперлипидные сыворотки или под-

вергавшиеся многократному замораживанию и оттаиванию.

- Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать при комнатной температуре (18-25)°С не менее 30 мин.
- Лиофилизированные компоненты должны быть восстановлены, как минимум, за 15 минут до их использования.
- После отбора необходимого количества стрипов оставшиеся сразу упаковать в пакет с осушителем. Упакованные стрипы, плотно закрытые флаконы с исходными компонентами сразу после постановки реакции поместить в холодильник (2-8)°С.
- Растворы ТМБ и конъюгата в рабочем разведении готовить непосредственно перед использованием. Необходимо исключить воздействие прямого света на раствор ТМБ.
- При промывке лунки (*стрипа, планшета*) заполнять полностью, не допуская переливания промывочного раствора через края лунок, и не касаясь лунок наконечником пипетки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек.
- При использовании автоматического или ручного промывателя необходимо следить за состоянием ёмкости для промывочного раствора и соединительных шлангов: в них не должно

- быть «заростов». Раз в неделю желательно ёмкость для промывочного раствора и шланги промывать 70% спиртом.
- Не допускать высыхания лунок стрипов между отдельными операциями.
 - При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (*ФСБ-Т×25, СБР, концентрат ТМБ, стоп-реагент*), которые взаимозаменяемы во всех наборах ЗАО «Вектор-Бест».
 - Запрещается повторное использование планшета для предварительного нанесения сывороток.
 - При приготовлении растворов и проведении ИФА следует использовать одноразовые наконечники для дозаторов.
 - Посуду (*ванночки*), используемые для работы с растворами конъюгата и ТМБ, не обрабатывать дезинфицирующими растворами и моющими средствами.
 - В случае повторного использования посуду (*ванночки*) для раствора конъюгата промыть проточной водой и тщательно ополоснуть дистиллированной водой; посуду (*ванночки*) для раствора ТМБ сразу после работы промыть 50% раствором этилового спирта, а затем дистиллированной водой.

- Для дезинфекции посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, рекомендуем использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС (*четвертичных аммониевых соединений*), спиртов, третичных аминов.
- Пипетки и рабочие поверхности обрабатывать только 70% раствором этилового спирта. Не использовать во время проведения ИФА перекись водорода, хлорамин и т.д.

3.1. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

3.1.1. Промывочный раствор

Взболтать содержимое флакона с концентратом ФСБ-Т×25. При выпадении осадка солей в концентрате прогреть его перед разведением до полного растворения осадка.

В соответствии с числом используемых стрипов отобрать необходимое количество концентрата ФСБ-Т×25 (*см. таблицу, стр. 11*) и развести его дистиллированной водой до указанного в таблице объёма или содержимое 1 флакона – до **700 мл**. Тщательно перемешать.

Хранение: при (2-8)°C до 5 суток.

3.1.2. Растворы конъюгатов

Внимание! Для работы с конъюгатом рекомендуем использовать одноразовые наконечники.

Приготовить концентрированный раствор конъюгата путём растворения содержимого флакона с конъюгатом в 1 мл РПР (при этом получается раствор насыщенного пурпурно-фиолетового цвета).

Хранение: концентрированный раствор конъюгата – при (2-8)°С до 1 месяца.

Внимание! Раствор конъюгата в рабочем разведении готовить в пластиковой ванночке непосредственно перед использованием!

Тщательно взболтать содержимое флакона с раствором для разведения сывороток и конъюгата (РСК).

В пластиковую ванночку отобрать необходимое количество концентрированного раствора конъюгата (см. таблицу), добавить соответствующее количество РСК, тщательно перемешать пипетированием до получения равномерного окрашивания.

Конъюгат в рабочем разведении хранению не подлежит.

Таблица расхода реагентов

	Количество используемых стрипов											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Промывочный раствор											
ФСБ-Т×25, мл	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24
Дистиллированная вода, мл	до 50	до 100	до 150	до 200	до 250	до 300	до 350	до 400	до 450	до 500	до 550	до 600
	Раствор конъюгата в рабочем разведении											
Конъюгат (концентрат), мкл	α*	2×α	3×α	4×α	5×α	6×α	7×α	8×α	9×α	10×α	11×α	12×α
РСК, 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
	Раствор ТМБ в рабочем разведении											
ТМБ (концентрат), мкл	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500	550	600
СБР, 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

* α = ▲▲▲ МКЛ

3.1.3. Раствор ТМБ в рабочем разведении

Внимание! Раствор ТМБ готовить в пластиковой ванночке, входящей в состав набора, непосредственно перед использованием!

Рекомендуем выделить наконечники для пипеток, которые использовать только для работы с ТМБ.

В пластиковую ванночку отобрать необходимое количество ТМБ (см. таблицу), добавить соответствующее количество СБР, тщательно перемешать пипетированием.

Внимание! Допустимо голубое окрашивание раствора ТМБ в рабочем разведении, которое не оказывает влияния на результаты анализа.

Раствор стабилен в защищённом от света месте при (18-25)°С до 3-х ч.

3.2. ПРОВЕДЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

3.2.1. Подготовить необходимое количество стрипов к работе. Оставшиеся – сразу упаковать во избежание губительного воздействия влаги. Для этого стрипы необходимо снять с рамки, поместить в цефленовый пакет с влагопоглотителем, тщательно закрыть пакет пластиковой застёжкой. Упакованные таким образом стрипы хранить при (2-8)°С до 1 месяца.

Приготовить промывочный раствор (п. 3.1.1), концентрированный раствор конъюгата (п. 3.1.2).

Все растворы должны быть комнатной температуры (18-25)°С.

3.2.2. В 1 лунку внести **10 мкл** положительного контрольного образца (**K⁺**), в 2 лунки – по **10 мкл** отрицательного контрольного образца (**K⁻**), в 1 лунку – **10 мкл РСК (контроль конъюгата)**, в остальные лунки — по **10 мкл** цельных **исследуемых сывороток**. Затем во все лунки внести по **90 мкл РСК**.

Стрипы заклеить плёнкой и инкубировать при 37°С **30 мин**. За 5-10 минут до окончания инкубации приготовить раствор конъюгата в рабочем разведении (п. 3.1.2).

3.2.3. По окончании инкубации содержимое лунок собрать в сосуд с дезифицирующим раствором, промыть лунки стрипов 5 раз промывочным раствором. *Каждую лунку необходимо заполнять полностью (вносить 400 мкл промывочного раствора)*. Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого их заполнения. Время между заполнением и опорожением лунок должно быть не менее 30 сек. По окончании промывки из лунок необходимо тщательно удалить влагу, постукивая перевёрнутыми стрипами по сложенной в несколько слоёв фильтровальной бумаге.

3.2.4. Во все лунки внести по **100 мкл раствора конъюгата в рабочем разведении**.

Внимание! Для внесения раствора конъюгата рекомендуем использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

Стрипы заклеить плёнкой и инкубировать при 37°C **30 мин.**

3.2.5. По окончании инкубации промыть стрипы 5 раз промывочным раствором и удалить влагу из лунок как описано выше (п. 3.2.3).

3.2.6. Приготовить раствор ТМБ в рабочем разведении (п. 3.1.3).

Во все лунки внести по **100 мкл раствора ТМБ в рабочем разведении**.

Внимание! Для внесения раствора ТМБ использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

Стрипы инкубировать в защищённом от света месте при (18-25)°C **25 мин.**

3.2.7. Остановить реакцию добавлением во все лунки по **100 мкл стоп-реагента** и через 2-3 мин измерить оптическую плотность (ОП).

Следует избегать попадания стоп-реагента (0,5 М H₂SO₄) на одежду и открытые участки тела. При попадании – промыть большим количеством воды.

4. РЕГИСТРАЦИЯ И ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты ИФА регистрировать с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность (ОП) в двухволновом режиме: основной фильтр — 450 нм, референс-фильтр — в диапазоне 620-650 нм. Допустима регистрация результатов только с фильтром 450 нм.

Выведение спектрофотометра на нулевой уровень («бланк») осуществлять по воздуху.

Результаты исследований учитывать только при соблюдении следующих условий:

- значение ОП в лунках с K⁺ должно быть не менее, чем ОП_{ср} (K⁻) + 0,2;
- значение ОП в лунках с контролем конъюгата и K⁻ не более 0,2.

Исследуемую сыворотку расценивать как **положительную**, если соответствующее ей значение ОП равно или превышает величину ОП_{крит}, которую рассчитать по формуле:

$$\text{ОП}_{\text{крит}} = \text{ОП}_{\text{ср}} (\text{K}^-) + 0,15,$$

где ОП_{ср} (K⁻) – среднее значение ОП для отрицательного контрольного образца.

Если ОП K⁻ имеет отрицательное значение, при расчёте считать её равной нулю.

5. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТИТРА АНТИТЕЛ В ВЫЯВЛЕННОМ ПОЛОЖИТЕЛЬНОМ ОБРАЗЦЕ

Если необходимо определить титр антител в выявленном положительном образце, проводят его титрование. Параллельно на отдельном стрипе (*контрольный стрип*) ставят K^+ и K^- в разведении 1:10 и контроль конъюгата (*п. 3.2.2*).

В верхнюю лунку стрипа внести **180 мкл РСК**, в остальные лунки стрипа – по **100 мкл РСК**.

Затем в верхнюю лунку стрипа внести **20 мкл** образца сыворотки. Тщательно перемешать раствор пипетированием, после чего перенести **100 мкл** во вторую лунку, перемешать пипетированием и перенести **100 мкл** в третью лунку и т.д. до последней лунки стрипа. Из последней лунки отобрать **100 мкл** раствора и слить их в дезинфицирующий раствор.

Таким образом, получают последовательные 2-кратные разведения образца от 1:10 до 1:1280.

Заклеить стрипы плёнкой и инкубировать 30 мин при 37°C. Далее все операции, а также регистрацию результатов проводить в соответствии с настоящей Инструкцией (*Разделы 3.2; 4*).

За титр антител к *Treponema pallidum* в образце принимать максимальное разведение образца, при котором регистрируется положительный результат, т.е. ОП образца равно или превышает ОП_{крит} (*см. стр. 15*).

При наблюдении большого в динамике достоверным считать изменение титра антител не менее чем в 4 раза.

При динамическом наблюдении пациента с целью получения результатов, адекватно отражающих изменение концентрации маркера в крови, необходимо использовать наборы реагентов одного наименования (одного предприятия-изготовителя).

6. ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИКВОРА

Исследование ликвора можно осуществлять одновременно с исследованием сывороток. В этом случае в лунку внести **50 мкл** исследуемого образца ликвора и добавить **50 мкл РСК** (*разведение ликвора 1:1*).

Для анализа ликвора требуется взять конъюгат в разведении в 2 раза выше рабочего разведения конъюгата, используемого для анализа сывороток (*включая контрольные*).

Например: если для анализа сывороток требуется взять **A мкл** концентрированного раствора конъюгата и смешать с 1 мл РСК (*см. п. 3.1.2*), то для анализа ликвора следует взять **2×A мкл** концентрированного раствора конъюгата и смешать с 1 мл РСК. Для исследования до 10 образцов ликвора достаточно приготовить **1 мл** рабочего разведения конъюгата.

Все последующие операции выполнять в соответствии с разделом 3.2 настоящей Инструкции. Учёт результатов осуществлять в соответствии с разделом 4.

7. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Наборы хранить и транспортировать при (2-8)°С.

Допускается транспортирование при температуре до 25°С не более 10 суток.

Не допускать замораживания!

Срок годности набора – 12 месяцев со дня выпуска.

По вопросам, касающимся качества набора, обращаться

в ЗАО «Вектор-Бест» по адресу:

630128, г. Новосибирск-128, а/я 102,

тел.: (383) 332-92-49, 227-60-30;

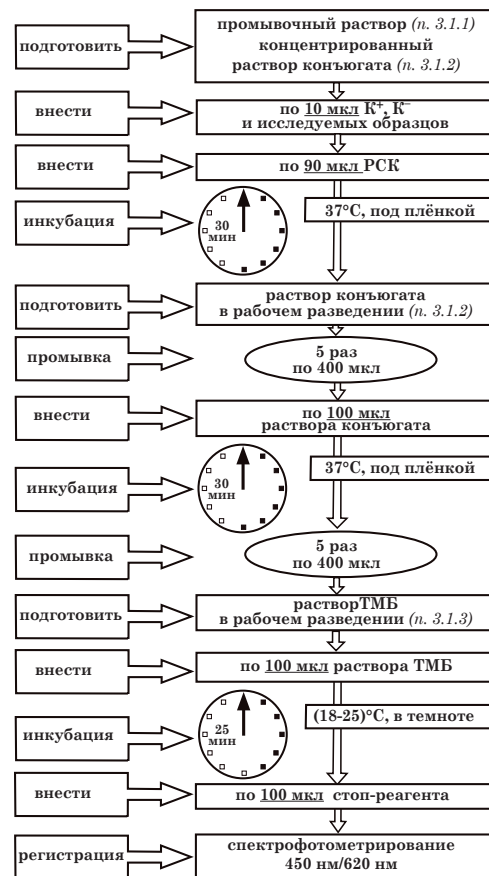
тел./факс: (383) 332-94-47, 332-94-44;

E-mail: plkobtk@vector-best.ru

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 332-24-48.

22.10.10

Схема анализа D-1858



**ЗАКРЫТОЕ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
«ВЕКТОР-БЕСТ»**

Федеральная лицензия № 99-04-000086
на производство, хранение и реализацию
лекарственных средств

**КРУПНЕЙШИЙ В РОССИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЬ
ИММУНОФЕРМЕНТНЫХ
ДИАГНОСТИКУМОВ**

Вирусные гепатиты А, В, С, D
Инфекции, передаваемые
половым путём
ВИЧ-инфекция
TORCH-инфекции
Клещевой энцефалит
Паразитарные болезни
Диагностика беременности
Лабораторное оборудование

***Стабильное качество
и точный результат
для Вашей лаборатории!***

Наш адрес: 630117, Новосибирск-117, а/я 492

Тел.: (383) 332-37-58, 332-37-10, 332-36-34,
332-67-49, 332-67-52

Тел./факс: (383) 227-73-60 (многоканальный)

E-mail: vbmarket@online.nsk.su

Internet: www.vector-best.ru

ВЕКТОР



Набор реагентов
для иммуноферментного
выявления антител класса IgG
к *Treponema pallidum*

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

РекомбиБест
антипаллидум – IgG (комплект 2)

НАБОР РЕАГЕНТОВ
D-1852

«РекомбиБест антипаллидум – IgG» (комплект 2) представляет собой набор реагентов, основой которого является рекомбинантный антиген *Treponema pallidum*, иммобилизованный на поверхности лунок полистиролового разборного планшета.

Основным свойством набора является способность выявлять в сыворотке (*плазме*) крови и ликворе человека специфические антитела класса G к *Treponema pallidum* за счёт их взаимодействия с рекомбинантным антигеном, иммобилизованным на поверхности лунок стрипов. Образование комплекса «антиген-антитело» выявляют с помощью иммуноферментного конъюгата.

Набор содержит все необходимые для проведения анализа реагенты, кроме дистиллированной воды. Один набор рассчитан на проведение 96 анализов, включая контроли. Возможны 12 независимых постановок ИФА, при каждой из которых 4 лунки используются для постановки контролей.

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов предназначен для выявления специфических антител (*IgG*) к возбудителю сифилиса в сыворотке (*плазме*) крови и ликворе человека и рекомендуется для диагностики сифилиса как составная часть комплекса серологических реакций.

2. СОСТАВ НАБОРА

- планшет разборный с иммобилизованными рекомбинантными антигенами *Treponema pallidum* – 1 шт.;
- положительный контрольный образец, инактивированный (K^+) – 1 фл., 0,5 мл;
- отрицательный контрольный образец, инактивированный (K^-) – 1 фл., 0,5 мл;
- конъюгат (*антивидовые антитела, конъюгированные с пероксидазой хрена*) – 1 фл., 1,5 мл;
- раствор для разведения сывороток (РС) – 1 фл., 13 мл;
- раствор для разведения конъюгата (РК) – 1 фл., 13 мл;
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 1 фл., 28 мл;
- субстратный буферный раствор (СБР) – 1 фл., 13 мл;
- тетраметилбензидин (ТМБ), концентрат – 1 фл., 1,5 мл;
- стоп-реагент – 1 фл., 12 мл;
- плёнка для заклеивания планшета – 3 шт.;
- ванночка для реагентов – 2 шт.;
- наконечники для пипетки – 16 шт.

3. СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

При работе с исследуемыми сыворотками и контрольными образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом:

- * работать в резиновых перчатках;
- * не пипетировать растворы ртом;
- * все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями СП 1.3.2322-08 и МУ-287-113.

ВНИМАНИЕ! Тщательное соблюдение описанных ниже требований позволит избежать искажения результатов ИФА.

- Для приготовления растворов и проведения ИФА следует использовать чистую мерную посуду и автоматические пипетки с погрешностью измерения объёмов не более 5%.
- Желательно использовать свежееотобранные образцы сыворотки (*плазмы*) крови. Допускается использование образцов, хранившихся при (2-8)°С не более 5 суток, либо при минус (20±3)°С, если необходимо более длительное хранение.
- Сыворотки, содержащие взвешенные частицы, могут дать неправильный результат. Такие образцы перед использованием следует центрифугировать 10-15 мин при 3000 об/мин.

- Нельзя использовать проросшие, гемолизированные, гиперлипидные сыворотки или подвергавшиеся многократному замораживанию и оттаиванию.
- Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать при комнатной температуре (18-25)°С не менее 30 мин.
- Лиофилизированные компоненты должны быть восстановлены, как минимум, за 15 минут до их использования.
- После отбора необходимого количества стрипов оставшиеся сразу упаковать в пакет с осушителем. Упакованные стрипы, плотно закрытые флаконы с исходными компонентами сразу после постановки реакции поместить в холодильник (2-8)°С.
- Растворы ТМБ и конъюгата в рабочем разведении готовить непосредственно перед использованием. **Необходимо исключить воздействие прямого света на раствор ТМБ.**
- При промывке лунки (*стрипа, планшета*) заполнять полностью, не допуская переливания промывочного раствора через края лунок, и не касаясь лунок наконечником пипетки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек.

- При использовании автоматического или ручного промывателя необходимо следить за состоянием ёмкости для промывочного раствора и соединительных шлангов: в них не должно быть «заростов». Раз в неделю желательно ёмкость для промывочного раствора и шланги промывать 70% спиртом.
- Не допускать высыхания лунок стрипов между отдельными операциями.
- При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (*ФСБ-Т×25, СБР, концентрат ТМБ, стоп-реагент*), которые взаимозаменяемы во всех наборах ЗАО «Вектор-Бест».
- Запрещается повторное использование планшета для предварительного нанесения сыворток.
- При приготовлении растворов и проведении ИФА следует использовать одноразовые наконечники для дозаторов.
- Посуду (*ванночки*), используемые для работы с растворами конъюгата и ТМБ, не обрабатывать дезинфицирующими растворами и моющими средствами.
- В случае повторного использования посуду (*ванночки*) для раствора конъюгата промыть проточной водой и тщательно ополоснуть дистиллированной водой; посуду (*ванночки*) для раствора ТМБ сразу после работы промыть 50% раствором этилового спирта, а затем дистиллированной водой.
- Для дезинфекции посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, рекомендуем использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС (*четвертичных аммониевых соединений*), спиртов, третичных аминов.
- Пипетки и рабочие поверхности обрабатывать только 70% раствором этилового спирта. Не использовать во время проведения ИФА перекись водорода, хлорамин и т.д.

Таблица расхода реагентов

Количество используемых стрипов												
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
Промывочный раствор												
ФСБ-Т×25, мл	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24
Дистиллированная вода, мл	до 50	до 100	до 150	до 200	до 250	до 300	до 350	до 400	до 450	до 500	до 550	до 600
Раствор конъюгата в рабочем разведении												
Конъюгат, мкл	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000	1100	1200
РК, 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
Раствор ТМБ в рабочем разведении												
ТМБ (концентрат), мкл	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500	550	600
СБР, 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

3.1. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

3.1.1. Промывочный раствор

Взболтать содержимое флакона с ФСБ-Т×25. При выпадении осадка солей в концентрате прогреть его перед разведением до полного растворения осадка.

В соответствии с числом используемых стрипов отобрать необходимое количество концентрата ФСБ-Т×25 (см. таблицу, стр. 10) и развести его дистиллированной водой до указанного в таблице объёма или содержимое 1 флакона – до **700 мл**.

Хранение: при (2-8)°С до 5 суток.

3.1.2. Раствор конъюгата

Внимание! Раствор конъюгата в рабочем разведении готовить в пластиковой ванночке непосредственно перед использованием!

Для работы с конъюгатом рекомендуем использовать одноразовые наконечники.

Тщательно взболтать содержимое флаконов с конъюгатом и с раствором для разведения конъюгата (**РК**).

В пластиковую ванночку отобрать необходимое количество раствора конъюгата (см. та-

блицу), добавить соответствующее количество **РК**, тщательно перемешать пипетированием до получения равномерного окрашивания.

Конъюгат в рабочем разведении хранению не подлежит.

3.1.3. Раствор ТМБ в рабочем разведении

Внимание! Раствор ТМБ готовить в пластиковой ванночке, входящей в состав набора, непосредственно перед использованием.

Рекомендуем выделить наконечники для пипеток, которые использовать только для работы с ТМБ.

В пластиковую ванночку отобрать необходимое количество концентрата **ТМБ** (см. таблицу), добавить соответствующее количество **СБР**, тщательно перемешать пипетированием.

Внимание! Допустимо голубое окрашивание раствора ТМБ в рабочем разведении, которое не оказывает влияния на результаты анализа.

Раствор стабилен в защищённом от света месте при (18-25)°С до 3-х ч.

3.2. ПРОВЕДЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

3.2.1. Подготовить необходимое количество стрипов к работе. Оставшиеся – сразу упаковать во избежание губительного воздействия влаги. Для этого стрипы необходимо снять с рамки, поместить в цефленовый пакет с влагопоглотителем, тщательно закрыть пакет пластиковой застёжкой. Упакованные таким образом стрипы хранить при (2-8)°С до 1 месяца.

Приготовить промывочный раствор (п. 3.1.1). Раствор должен быть комнатной температуры (18-25)°С.

3.2.2. Во все лунки стрипов внести по **90 мкл** раствора для разведения сывороток (**РС**). В 1 лунку внести **10 мкл** положительного контрольного образца (**К⁺**), в 2 лунки – по **10 мкл** отрицательного контрольного образца (**К⁻**), в 1 лунку – **10 мкл РС** (контроль конъюгата), в остальные лунки – по **10 мкл цельных испытуемых сывороток**. Внесение сывороток должно сопровождаться тщательным перемешиванием с помощью пипетирования (*не менее 4 раз*).

Стрипы заклеить плёнкой и инкубировать при 37°С **30 мин.**

За 5-10 мин до окончания инкубации приготовить раствор конъюгата в рабочем разведении (п. 3.1.2).

3.2.3. По окончании инкубации содержимое лунок собрать в сосуд с дезинфицирующим раствором, промыть лунки стрипов 5 раз промывочным раствором. *Каждую лунку необходимо заполнять полностью (вносить 400 мкл промывочного раствора)*. Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого их заполнения. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. По окончании промывки из лунок необходимо тщательно удалить влагу, постукивая перевернутыми стрипами по сложенной в несколько слоёв фильтровальной бумаге.

3.2.4. Во все лунки внести по **100 мкл раствора конъюгата в рабочем разведении**.

***Внимание!** Для внесения раствора конъюгата использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.*

Стрипы заклеить плёнкой и инкубировать при 37°C **30 мин**.

3.2.5. По окончании инкубации промыть лунки стрипов 5 раз промывочным раствором и удалить влагу из лунок как описано выше (п. 3.2.3).

3.2.6. Приготовить раствор ТМБ в рабочем разведении (п. 3.1.3).

Во все лунки внести по **100 мкл раствора ТМБ в рабочем разведении**.

***Внимание!** Для внесения раствора ТМБ использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.*

Стрипы инкубировать в защищённом от света месте при (18-25)°C **25 мин**.

3.2.7. Остановить реакцию добавлением во все лунки по **100 мкл стоп-реагента** и через 2-3 мин измерить оптическую плотность (ОП).

***Внимание!** Следует избегать попадания стоп-реагента (0,5 М H₂SO₄) на одежду и открытые участки тела. При попадании – промыть большим количеством воды.*

4. РЕГИСТРАЦИЯ И ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты ИФА регистрировать с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность (ОП) в двухволновом режиме: основной фильтр — 450 нм, референс-фильтр — в диапазоне 620-650 нм. Допустима регистрация результатов только с фильтром 450 нм.

Выведение спектрофотометра на нулевой уровень («*бланк*») осуществлять по воздуху.

Результаты исследований учитывать только при соблюдении следующих условий:

- значение ОП в лунках с K^+ не менее 0,8;
- значение ОП в лунках с контролем конъюгата и K^- не более 0,2

Исследуемую сыворотку расценивать **как положительную**, если соответствующее ей значение ОП равно или превышает величину $ОП_{крит}$, которую рассчитать по формуле:

$$ОП_{крит} = ОП_{cp} (K^-) + 0,2,$$

где $ОП_{cp} (K^-)$ – среднее значение ОП для отрицательного контрольного образца.

Если ОП K^- имеет отрицательное значение, при расчёте считать её равной нулю.

5. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТИТРА АНТИТЕЛ В ВЫЯВЛЕННОМ ПОЛОЖИТЕЛЬНОМ ОБРАЗЦЕ

Если необходимо определить титр антител в выявленном положительном образце, проводят его титрование. Параллельно на отдельном стрипе (*контрольный стрип*) поставить K^+ , K^- в разведении 1:10 и контроль конъюгата (*n. 3.2.2*).

В верхнюю лунку стрипа внести **180 мкл РС**, в остальные лунки стрипа – по **100 мкл РС**. Затем в верхнюю лунку стрипа внести **20 мкл целевой сыворотки или плазмы**. Тщательно перемешать раствор пипетированием, после чего перенести **100 мкл** во вторую лунку, перемешать пипетированием и перенести **100 мкл** в третью лунку и т.д. до последней лунки стрипа. Из последней лунки отобрать **100 мкл** раствора и слить его в дезинфицирующий раствор.

Таким образом, получают последовательные 2-кратные разведения образца от 1:10 до 1:1280.

Стрипы заклеить плёнкой и инкубировать 30 мин при 37°C. Далее все операции, а также регистрацию результатов проводить в соответствии с настоящей Инструкцией (*разделы 3.2; 4*).

За титр антител к *Treponema pallidum* в образце принимать максимальное разведение образца, при котором регистрируется положительный результат, т.е. ОП образца равно или превышает $ОП_{крит}$ (*см. стр. 16*).

В целях снижения стоимости анализа возможно определение титра при помощи коэффициента позитивности (КП).

Сыворотку, в которой необходимо определить титр антител, следует проанализировать в двух разведениях: 1:10 и 1:100.

Для этого в две лунки стрипа внести по **90 мкл РС**. Затем в первую лунку внести **10 мкл исследуемого образца сыворотки**, перемешать пипетированием 3-4 раза (*получили разведение 1:10*). Отобрать из лунки **10 мкл** разведённой сыворотки и перенести во вторую лунку, получив разведение 1:100.

Параллельно поставить K^+ в разведениях 1:10 и 1:100 и K^- в разведении 1:10.

Нанеся таким образом исследуемые сыворотки, заклеить стрипы плёнкой и инкубировать 30 мин при 37°C. Далее все операции проводить в соответствии с разделом 3.2 настоящей инструкции.

Образцы сывороток, давшие в разведении 1:10 оптическую плотность ниже 0,6, имеют титр 1:10.

Для определения титра антител в образце, давшем в разведении 1:10 ОП выше 0,6, использовать значение ОП в разведении 1:100.

Вычислить коэффициент позитивности по формуле:

$$КП_{1:100} = ОП_{обр. (1:100)} / ОП_{крит.}$$

Соответствие между $КП_{1:100}$ и титром определить по таблице 1.

Таблица 1

Значения $КП_{1:100}$	до 0,3	0,31-0,6	0,61-1,2	1,21-2,4
Титр антител	1:20	1:40	1:80	1:160

Значения $КП_{1:100}$	2,41-4,8	4,81-9,6	9,61-11,0	> 11,0
Титр антител	1:320	1:640	1:1280	> 1:1280

Если в исследуемом образце титр антител превышает 1:1280 ($КП_{1:100} > 11,0$) и есть необходимость определить титр антител более точно, такой образец следует проанализировать в разведениях 1:10, 1:100, 1:1000. Для этого:

- в 3 лунки планшета внести по **90 мкл РС**;
- в 1-ую лунку внести **10 мкл исследуемого образца**, тщательно перемешать пипетированием, **10 мкл разведённого 1:10 образца** перенести во 2-ую лунку;
- тщательно перемешать пипетированием, отобрать из 2-ой лунки **10 мкл разведённого 1:100 образца** и перенести в 3-тью лунку, тщательно перемешать. Получили разведение 1:1000.

Заклеить стрипы плёнкой и инкубировать при 37°C **30 мин**.

Далее все операции проводить в соответствии с разделом 3.2 настоящей инструкции.

Коэффициент позитивности для сыворотки в разведении 1:1000 ($KП_{1:1000}$) вычислить по формуле:

$$KП_{1:1000} = ОП_{обр (1:1000)} / ОП_{крит.}$$

Соответствие между $KП_{1:1000}$ и титром определить по таблице 2.

Таблица 2

Значения $KП_{1:1000}$	1,0-2,0	2,1-4,0	4,1-8,0	> 8,0
Титр антител	1:1280	1:2560	1:5120	1:10240 и выше

Результаты определения титра антител в образцах действительны только в случае, если полученный титр K^+ совпадает или отличается не более чем на одно разведение от паспортного значения титра K^+ (индивидуально для каждой серии наборов).

$$\text{Титр } K^+_{назн.} = \blacktriangle \blacktriangle \blacktriangle.$$

При наблюдении больного в динамике достоверным считать изменение титра антител не менее чем в 4 раза.

При динамическом наблюдении пациента с целью получения результатов, адекватно отражающих изменение концентрации маркера в

крови, необходимо использовать наборы реагентов одного наименования (одного предприятия-изготовителя).

6. ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИКВОРА

Исследование ликвора можно осуществлять одновременно с исследованием сывороток. В этом случае в лунку внести **50 мкл РС** и добавить **50 мкл исследуемого образца** ликвора (разведение ликвора 1:1).

Для анализа ликвора требуется взять конъюгат в разведении в 2 раза выше рабочего разведения конъюгата, используемого для анализа сывороток (включая контрольные).

Например: если для анализа сывороток требуется взять **100 мкл** конъюгата и смешать с **1 мл РК** (см. п. 3.1.2), то для анализа ликвора следует взять **200 мкл** конъюгата и смешать с **1 мл РК**. Для исследования до 10 образцов ликвора достаточно приготовить **1 мл** рабочего разведения конъюгата.

Все последующие операции выполнять в соответствии с разделом 3.2 настоящей Инструкции. Учёт результатов осуществлять в соответствии с разделом 4 настоящей Инструкции.

7. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Наборы хранить и транспортировать при (2-8)°С. Допускается транспортирование при температуре до 25°С не более 10 суток.

Не допускать замораживания!

Срок годности набора – 12 месяцев со дня выпуска.

По вопросам, касающимся качества набора, обращаться

в ЗАО «Вектор-Бест» по адресу:

630128, г. Новосибирск-128, а/я 102,

тел.: (383) 332-92-49, 227-60-30;

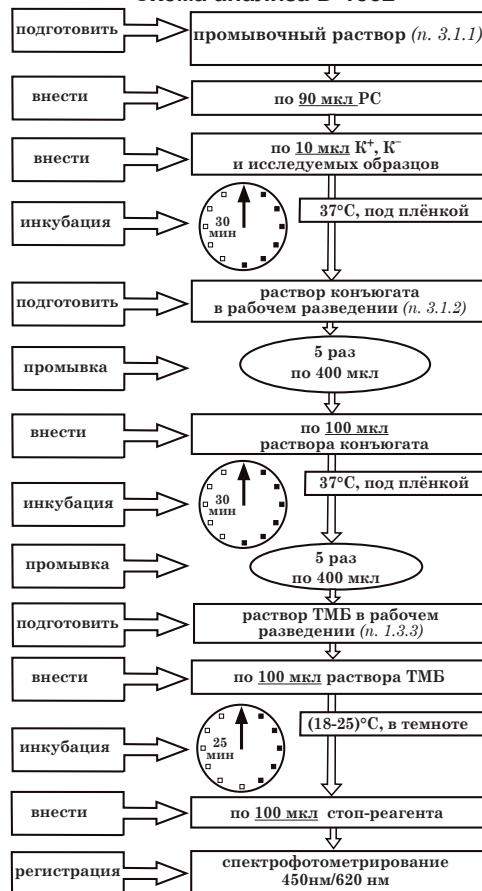
тел./факс: (383) 332-94-47, 332-94-44;

E-mail: plkobtk@vector-best.ru

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 332-24-48.

22.04.11

Схема анализа D-1852



**ЗАКРЫТОЕ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
«ВЕКТОР-БЕСТ»**

Международные сертификаты
ISO 9001 и ISO 13485

**КРУПНЕЙШИЙ В РОССИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЬ
ИММУНОФЕРМЕНТНЫХ НАБОРОВ
РЕАГЕНТОВ**

Вирусные гепатиты А, В, С, D, Е, G;
ВИЧ-инфекция, TORCH-инфекции,
ИППП, клещевые инфекции,
паразитарные, аутоиммунные
и системные заболевания, беременность,
опухолевые и кардиомаркеры, гормоны,
гуморальный иммунный статус,
цитокины, аллергены и др.

***Точная диагностика –
эффективное лечение!***

Наш адрес: 630117, Новосибирск-117, а/я 492
Тел.: (383) 332-37-58, 332-37-10, 332-36-34,
332-67-49, 332-67-52
Тел./факс: (383) 227-73-60 (многоканальный)
E-mail: vbmarket@vector-best.ru
Internet: www.vector-best.ru