

Набор реагентов для определения антител к *Treponema pallidum* в сыворотке и/или плазме крови человека с помощью РПГА (реакция пассивной гемагглютинации) –

ТРНА.

Исполнения:

ТРНА - 200 тестов



ТРНА - 500 тестов

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ



ТРНА

 200
 500

 72503
 72504

НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИТЕЛ К *TREPONEMA PALLIDUM* В СЫВОРОТКЕ И/ИЛИ ПЛАЗМЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА С ПОМОЩЬЮ РПГА (РЕАКЦИЯ ПАССИВНОЙ ГЕМАГГЛЮТИНАЦИИ)

 **CE**

 883683 - 2014/12

BIO-RAD

СОДЕРЖАНИЕ

1. НАЗНАЧЕНИЕ.....	3
2. ОБЗОР И ОБЪЯСНЕНИЕ МЕТОДА ИССЛЕДОВАНИЯ.....	3
3. ПРИНЦИПЫ МЕТОДИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	3
4. РЕАГЕНТЫ, ВХОДЯЩИЕ В СОСТАВ НАБОРА	4
5. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.....	4
6. ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ.....	5
7. ПРОЦЕДУРА ИССЛЕДОВАНИЯ.....	6
8. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА ИССЛЕДОВАНИЯ.....	9
9. ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ.....	10
10. БИБЛИОГРАФИЯ.....	11

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов ТРНА предназначен для качественного и/или полуколичественного определения антител к *Treponema pallidum* в сыворотке и/или плазме крови человека с помощью реакции пассивной гемагглютинации при обследовании доноров и пациентов на наличие сифилитической инфекции.

2. ОБЗОР И ОБЪЯСНЕНИЯ МЕТОДА ИССЛЕДОВАНИЯ

Сифилис – это хроническое инфекционное заболевание, которое в своем развитии проходит несколько четко различимых стадий: первичный, вторичный, третичный и четвертичный сифилис. На этих стадиях происходит развитие различных клинических симптомов, наиболее характерными из которых являются образование первичных язв, так называемых шанкров, затем – появление сифилитической сыпи, за которым следует продолжительный латентный период без каких-либо видимых клинических проявлений. Инфекция при отсутствии лечения может вызывать нарушения со стороны сердечно-сосудистой системы и нейросифилис.

Возбудителем данной инфекции является спирохета *Treponema pallidum*. Заражение обычно происходит при половом контакте, однако болезнь может передаваться и при переливании инфицированной крови. Кроме того, возможно развитие внутриутробной инфекции. Было установлено, что данный микроорганизм практически невозможно выращивать на искусственных питательных средах, и диагностика инфекции обычно основывается на выявлении антител в крови, которые появляются вскоре после первоначального заражения и могут персистировать в ней в течение многих лет.

Выделяют четыре категории исследований на наличие сифилиса: прямое микроскопическое исследование, трепонемные антительные тесты, нетрепонемные антительные тесты и прямые антигенные тесты. В связи с наличием продолжительных латентных периодов заболевания и ввиду неспецифической природы антител, выявляемых с помощью нетрепонемных тестов, при проведении скрининговых исследований все чаще используются тесты, основанные на определении специфических анти-трепонемных антител в образцах крови. Одним из таких тестов является ТРНА.

3. ПРИНЦИПЫ МЕТОДИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ

В наборах ТРНА использованы стабилизированные птичьи эритроциты, покрытые антигеном *T. pallidum* (штамм Николса), которые связывают специфические антитела, присутствующие в сыворотке или плазме крови пациента. Клетки представлены в виде суспензии в среде, которая содержит компоненты, способные устранять неспецифические реакции.

Положительные реакции характеризуются агглютинацией клеток, отрицательные реакции – осаждением клеток на дне лунки в виде пуговки или маленького кольца.

Несмотря на то, что данные наборы предназначены для проведения, прежде всего, качественного анализа, они могут быть использованы и для определения уровня антител посредством их титрования последовательным двукратным разведением.

Интерпретация картины агглютинации осуществляется на основании результатов визуальной оценки.

4. РЕАГЕНТЫ, ВХОДЯЩИЕ В СОСТАВ НАБОРА

4.1. Описание

Наименование реагента		Описание	Варианты исполнения	
			72503 200 тестов	72504 500 тестов
R1	Сенсибилизированные клетки (Test Cells)	Сенсибилизированные клетки Суспензия птичьих эритроцитов, покрытых антигенами <i>T. pallidum</i> , содержащая бычий сывороточный альбумин (БСА)	7,8 мл/флакон 2 шт	20 мл/флакон 2 шт
R2	Контрольные клетки (Control Cells)	Контрольные клетки Суспензия птичьих эритроцитов, содержащая БСА	7,8 мл/флакон 2 шт	20 мл/флакон 1 шт
R3	Раствор для разведения (Diluent)	Раствор для разведения Солевой раствор, содержащий кроличью сыворотку	20 мл/флакон 2 шт	125 мл/флакон 1 шт
R4	Положительный контрольный образец (Positive Control)	Положительный контрольный образец Человеческая сыворотка, содержащая антитела к <i>T. pallidum</i> , отрицательная по HBs антигену, анти-ВИЧ 1/2 и анти-ВГС антителам, разведенная в фосфатном буферном растворе	1 мл/флакон 1 шт	1 мл/флакон 1 шт
R5	Отрицательный контрольный образец (Negative Control)	Отрицательный контрольный образец Кроличья сыворотка, разведенная в фосфатном буферном растворе	1 мл/флакон 1 шт	1 мл/флакон 1 шт

4.2. Условия хранения и использования

Данный набор должен храниться при температуре +2-8°C. **Хранить флаконы в вертикальном положении.** Не замораживать.

Каждый компонент набора, хранящийся при температуре +2-8°C, может быть использован до окончания срока годности, указанного на упаковке. После вскрытия флаконов и в отсутствие контаминации реагенты R1, R2, R3, R4 и R5, хранящиеся при +2-8°C, могут быть использованы до окончания срока годности, указанного на этикетке.

5. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Только для диагностики *in vitro*. Предназначено для профессионального применения медицинскими работниками.

5.1. Меры по обеспечению безопасности и охраны здоровья:

- Данный набор реагентов предназначен для использования только квалифицированными специалистами, прошедшими специальное обучение в области проведения лабораторных исследований и осведомленными о связанных с ними потенциальных факторах риска. Следует использовать специальную защитную одежду, перчатки и средства для защиты глаз/лица и должным образом соблюдать соответствующие Принципы надлежащей лабораторной практики.

- Набор содержит компоненты, которые изготовлены на основе сыворотки крови человека. Все они прошли исследование на этапе забора крови у доноров и определены как отрицательные по наличию HBs антигена, анти-ВИЧ 1/2 и анти-ВГС антител. Однако методов, способных обеспечить полную гарантию отсутствия инфекционных агентов, не существует. Поэтому со всеми производными крови человека, реагентами и биологическими образцами, полученными от человека, следует обращаться как с потенциально способными к передаче инфекции, соблюдая универсальные меры безопасности в отношении гемотрансмиссивных патогенов, определенные в местных, региональных и национальных нормативных актах.
- Разлитый биологический материал человеческого происхождения должен быть обработан как потенциально инфицированный.

Если пролитый материал не содержит кислоты, необходимо незамедлительно провести обработку участка пролива, всех материалов, всех загрязненных поверхностей и оборудования соответствующим химическим дезинфицирующим средством, которое является эффективным в отношении потенциальной биологической опасности рассматриваемых образцов (как правило, гипохлорит натрия в разведении 1:10, 70-80 % этиловый или изопропиловый спирт, йодофор, например, 0,5 % Wescodyne Plus и т. д.), а затем вытереть насухо.

Разлитые материалы, содержащие кислоту, необходимо тщательно устранить при помощи впитывающего материала (вытереть) или нейтрализовать, участок разлива промыть водой и вытереть насухо. Сорбирующие материалы, использованные для удаления разлитой жидкости, следует утилизировать согласно требованиям к обращению с биологически опасными отходами. Затем этот участок необходимо обработать одним из химических дезинфицирующих средств.

Примечание: Не помещайте хлорсодержащие растворы в автоклав!

- Все образцы и материалы, использованные для проведения теста, должны быть утилизированы как вещества, потенциально содержащие возбудителей инфекции. Обращение с лабораторными, химическими и биологически опасными отходами, а также их утилизация, должны осуществляться с соблюдением всех местных, региональных и национальных нормативных требований.
- Паспорт безопасности материала представлен на интернет-сайте www.bio-rad.com

5.2. Предупреждения, касающиеся выполнения методики

5.2.1. Подготовка

Достоверность результатов обусловлена точным выполнением следующих правил Надлежащей лабораторной практики:

- При постановке теста не смешивать и не использовать совместно реактивы из различных партий.
- Не использовать реактивы с истекшим сроком годности.
- Перед использованием реактивы необходимо выдержать в течение 30 минут при комнатной температуре (18-30°C) для их стабилизации.

5.2.2. Процедура

- Не вносить изменений в процедуру исследования.
- Использовать новый наконечник для внесения каждой пробы.

6. ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Образцы сыворотки или плазмы (собранной с ЭДТА, цитратом натрия, гепарином или цитратным антикоагулянтом с декстрозой) не должны содержать клеточных элементов крови и не иметь явных признаков загрязнения микроорганизмами. Образцы могут храниться при температуре +2-

8°C в течение 7 дней перед проведением теста. Образцы, требующие более длительного хранения, следует замораживать при -20°C или более низкой температуре.

Перед тестированием замороженные образцы необходимо разморозить и хорошо перемешать. Не следует подвергать образцы процедуре замораживания-оттаивания более 5 раз. Образцы, подвергшиеся нагреванию при температуре 56 °C в течение 3 часов, пригодны для проведения исследования.

Содержание в образце до 100 мг/л билирубина, до 36 г/л триглицеридов и до 10 г/л гемоглобина не влияет на результат. Однако не рекомендуется использовать для исследования сильно гемолизированную сыворотку или плазму, а также сыворотку или плазму с очень высоким содержанием липидов.

Если образцы подлежат транспортировке, их необходимо упаковать в соответствии с действующими правилами транспортировки этиологических агентов, предпочтительно транспортировать в замороженном виде.

7. ПРОЦЕДУРА ИССЛЕДОВАНИЯ

ВНИМАНИЕ: Положительный и отрицательный контрольные образцы (R4 и R5), входящие в набор, должны использоваться в каждой постановке теста.

7.1. Необходимые материалы, не входящие в состав набора

- Дистиллированная вода
- Гипохлорит натрия и бикарбонат натрия
- Фильтровальная бумага
- Одноразовые перчатки
- Защитные очки
- Одноразовые пробирки
- Автоматические или полуавтоматические пипетки с варьируемым или постоянным объемом, либо многоканальные пипетки для отбора и внесения различных объемов жидкости (10 мкл, 25 мкл, 75 мкл и 190 мкл).
- Шейкер для микропланшетов
- Микропланшеты на 96 лунок с U-образным дном
- Контейнер для биологически опасных отходов

7.2. Методика проведения исследования (ручной метод)

7.2.1. Качественный анализ

Для каждого образца необходимо использовать три круглодонные лунки на микропланшете.

Набор ТРНА 500 (Кат.№ 72504) предназначен для скринингового исследования значительного количества образцов, но содержит лишь небольшой объем контрольных клеток. Предполагается, что при исследовании образцов в первой постановке должны использоваться только сенсibilизированные клетки, контрольные же клетки следует использовать при повторной постановке теста, которая осуществляется в случае получения положительных результатов первоначального теста.

а. Разведение образцов и контролей (1 к 20)

Внести 190 мкл раствора для разведения (R3) в лунку.

Добавить 10 мкл образца или положительного контрольного образца (R4) или отрицательного контрольного образца (R5) в ту же самую лунку.

Тщательно перемешать.

б. Выполнение теста

Перенести 25 мкл разведенного контрольного образца или разведенного образца из лунки для разведения в лунку для тестирования.

Перенести 25 мкл разведенного контрольного образца или разведенного образца из лунки для разведения в контрольную лунку.

Встряхивая флаконы, ресуспендировать сенсibilизированные клетки (R1) и контрольные клетки (R2). Убедиться, что клетки полностью ресуспендированы.

Внести 75 мкл сенсibilизированных клеток (R1) в лунку для тестирования и 75 мкл контрольных клеток (R2) в контрольную лунку.

Конечное разведение образца составляет 1: 80.

Тщательно перемешать содержимое лунок.

Инкубировать при комнатной температуре (15-30 °С) на поверхности, не подвергающейся воздействию вибрации, в течение минимум 45 минут.

Оценить картину клеточной агглютинации. Эта картина остается неизменной в течение, по меньшей мере, трех часов при условии, что микропланшет находится в состоянии покоя.

7.2.2. Полуколичественный анализ

Для каждого образца необходимо использовать 9 круглодонных лунок на микропланшете: одна лунка для разведения образца или контрольного образца и 8 лунок – для титрования.

Примечание: Положительный и отрицательный контрольные образцы (R4 и R5) должны быть включены в постановку каждой серии тестов с использованием описанной ниже процедуры.

а. Разведение образцов и контрольных образцов (1 к 20)

Внести 190 мкл раствора для разведения (R3) в лунку.

Добавить 10 мкл образца или отрицательного контрольного образца (R5) или положительного контрольного образца (R4) в ту же самую лунку.

Тщательно перемешать.

б. Титрование

Оставить первую лунку пустой, внести по 25 мкл раствора для разведения (R3) в каждую из оставшихся 7 лунок.

0	1	2	3	4	5	6	7	8
190 мкл (R3) + 10 мкл Образец или (R4) или (R5)		25 мкл R3	25 мкл R3	25 мкл R3	25 мкл R3	25 мкл R3	25 мкл R3	25 мкл R3
Разведения образцов и контрольных образцов	8 лунок для титрования							

Перенести 25 мкл разведенного контроля или образца в первую лунку и во вторую лунку, затем перемешать.

После чего осуществить серийные разведения во всей последовательности лунок, удалив из последней лунки лишние 25 мкл.

0	1	2	3	4	5	6	7	8
190 мкл (R3) + 10 мкл Образец или (R4) или (R5)	25 мкл разв. контр. образца	25 мкл R3 + 25 мкл разв.. контр. образца	25 мкл R3	25 мкл R3	25 мкл R3	25 мкл R3	25 мкл R3	25 мкл R3
Разведения образцов и контрольных образцов	8 лунок для титрования							

25мкл 25мкл 25мкл 25мкл 25мкл 25мкл

Удалить лишние 25 мкл

с. Выполнение теста

Аккуратно перемешать сенсibilизированные клетки (R1) для обеспечения полного ресуспендирования.

Добавить 75 мкл сенсibilизированных клеток (R1) в каждую лунку.

Конечное разведение образца после добавления клеток варьирует в диапазоне от 1:80 до 1:10240.

Тщательно перемешать.

0	1	2	3	4	5	6	7	8
190 мкл (R3) + 10 мкл Образец или (R4) или (R5)	25 мкл разв. контр. образца + 75 мкл R1	25 мкл разв. + 75 мкл R1	25 мкл разв. + 75 мкл R1	25 мкл разв. + 75 мкл R1	25 мкл разв. + 75 мкл R1	25 мкл разв. + 75 мкл R1	25 мкл разв. + 75 мкл R1	25 мкл разв. + 75 мкл R1
	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560	1:5120	1:10240
Разведения образцов и контр. образцов	8 лунок для титрования							

Инкубировать при комнатной температуре (15-30°C) на поверхности, не подвергающейся воздействию вибрации, в течение минимум 45 минут.

Оценить картину клеточной агглютинации. Эта картина остается неизменной в течение, по меньшей мере, трех часов при условии, что планшет находится в состоянии покоя.

Титром образца следует считать самое большое разведение, при котором происходит агглютинация.

7.3. Контроль качества

Исследование контрольных образцов в составе набора должно давать правильные результаты: отрицательный контрольный образец (R5) – отрицательная реакция, положительный контрольный образец (R4) – положительная.

Когда входящий в состав набора положительный контрольный образец (R4) раститрован, ожидаемое конечное разведение, дающее положительную реакцию, составляет 1:640 - 1:5120.

7.4. Интерпретация результатов и критерии оценки правильности выполнения теста



Положительный

Неопределенный

Отрицательный

Результат	Сенсibilизированные клетки	Контрольные клетки
Положительный: ярко выраженная реакция	Дно лунки покрыто гладким слоем клеток.	«Пуговка», соответствующая отрицательному результату
Слабо-положительный	Клетки покрывают около 1/3 поверхности дна лунки.	«Пуговка», соответствующая отрицательному результату
Неопределенный	Клетки сосредоточены ближе к центру в форме круга с широким центром.	«Пуговка», соответствующая отрицательному результату
Отрицательный	В центре рабочей ячейки формируется плотная пуговка из клеток, как правило, с очень маленьким отверстием в середине.	«Пуговка», соответствующая отрицательному результату
Неспецифическая реакция	Положительная реакция.	Положительная реакция

Если при исследовании образца в лунке с сенсibilизированными клетками не наблюдается реакции, то такой образец считается **отрицательным на наличие *T. pallidum***.

Реактивность меньше той, что указана как «неопределенная», свидетельствует об отрицательном результате теста.

Любой образец, результаты исследования которого можно оценить как неопределенные или положительные, должен рассматриваться как положительный и подвергнуться повторному исследованию в соответствии с описанным выше протоколом, но в двух повторах, при этом в одну серию ячеек необходимо добавить контрольные клетки (R2), а в другую – сенсibilизированные клетки (R1).

Если хотя бы в одной из лунок с сенсibilизированными клетками (R1) результат окажется неопределенным или положительным, образец должен считаться **положительным на наличие *T. pallidum***.

При наличии неспецифической реакции, картина агглютинации должна оцениваться следующим образом: если агглютинация более выражена у сенсibilизированных клеток (R1), чем у контрольных (R2), образец расценивается как положительный и должен быть подвергнут повторному исследованию.

Если же при исследовании такого образца наблюдается более выраженная или сопоставимая агглютинация у контрольных клеток (R2), образец необходимо абсорбировать, следуя нижеописанной методике.

7.5. Абсорбция неспецифических реакций

(Процедура проводится в том случае, когда наблюдается агглютинация и сенсibilизированных, и контрольных клеток).

1. Добавить 10 мкл образца к 190 мкл ресуспендированных контрольных клеток, хорошо перемешать и инкубировать при комнатной температуре в течение 30 минут.
2. Центрифугировать до осаждения клеток при минимум 1500g в течение 3 минут.
3. Внести по 25 мкл супернатанта, полученного в ходе выполнения этапа 2, в каждую из двух лунок.
4. Аккуратно перемешать сенсibilизированные и контрольные клетки для обеспечения достаточного ресуспендирования.
Добавить 75 мкл сенсibilизированных клеток в первую лунку.
Добавить 75 мкл контрольных клеток во вторую лунку.
5. Тщательно перемешать и инкубировать при комнатной температуре в течение минимум 45 минут.
6. Оценить и интерпретировать картину клеточной агглютинации, согласно описанной выше схеме.

8. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА ИССЛЕДОВАНИЯ

Отдельные тесты или точно определенные эталонные стандарты для каждой из стадий заболевания отсутствуют. Поэтому диагностика сифилиса опирается, преимущественно, на серологическое исследование, для чего требуются результаты как нетрепонемных, так и трепонемных тестов.

Ни один из диагностических тестов не может дать абсолютной гарантии, что в образце не содержатся антитела к *T. pallidum* в низкой концентрации, как, может, например, происходить на самой ранней стадии заболевания. Следовательно, отрицательный результат, полученный в какой-либо момент времени, не исключает вероятности заражения сифилисом.

Как правило, результаты всех трепонемных тестов остаются положительными и после проведения терапии трепонемной инфекции, поэтому эти тесты не могут быть использованы для оценки ответа на лечение. Поскольку реактивность сохраняется практически в течение всей жизни пациента, трепонемные тесты не являются достоверным методом выявления рецидива или повторного инфицирования у людей, ранее имевших положительные результаты такого исследования. В данном случае рекомендуется использовать другие методики анализа и соответствующие наборы: Syphilis Total Ab, Syphilis IgM EIA и RPR.

9. ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

9.1. Исследование воспроизводимости

Исследование воспроизводимости заключалось в проведении анализа 3 образцов (1 отрицательный, 1 слабоположительный и 1 положительный) в 10 повторах в одной и той же постановке теста (сходимость) и в 2 повторах в течение 5 дней, с применением реактивов из 2 различных партий и с привлечением 2 различных специалистов для оценки результатов (внутрилабораторная воспроизводимость).

Сходимость: при исследовании всех 3 образцов десять раз были получены идентичные результаты.

Внутрилабораторная воспроизводимость/ воспроизводимость между партиями: в ходе анализа всех 3 образцов, проводимого в различных условиях (40 раз), были получены идентичные результаты.

9.2. Клинические характеристики

Характеристики метода ТРНА определялись посредством оценки образцов, полученных у произвольно выбранных доноров крови, госпитализированных пациентов и пациентов, зараженных сифилисом, а также образцов, в которых были выявлены маркеры, не связанные с инфекцией *T. pallidum*.

Исследования проводились в 2 центрах донорской крови, а также в исследовательском центре Bio-Rad.

9.2.1. Специфичность

Всего было исследовано 5032 образца, полученных у доноров в 2 различных центрах в ходе проспективных исследований.

Среди образцов была как сыворотка (3626), так и плазма, собранная с ЭДТА К2 (539) или с литий-гепарином (867). Образцы исследовались в течение менее чем 7 дней, следующих за датой забора крови, и результаты сравнивали с результатами скринингового исследования, проводимого в лаборатории.

Таблица 1: Популяция доноров крови

Центр	Кол-во	Первично реактивные образцы (IR)	Повторно реактивные образцы (RR)	Специфичность (%)	95% Доверительный интервал (%)
Центр № 1	2519	18	7	99,72% (2512/ 2519)	99,43% – 99,89%
Центр № 2	2513*	20	7	99,72% (2505 / 2512)	99,43% – 99,89%
Всего	5032	38 (8 положительных, 30 неопределенных)	14 (3 положительных, 11 неопределенных)	99,72% (5017/5031)	99,53% – 99,85%

*:один образец (истинно положительный) был исключен из подсчета.

Общая специфичность по популяции банков крови, равна **99,72% (5017/5031)**, при этом 95% доверительный интервал составляет [99,53% –99,85%]. Из 14 ложноположительных образцов 11 оказались повторно неопределенными.

Также было проведено ретроспективное исследование 201 замороженного образца, полученного от пациентов с отрицательными результатами по сифилису Центра по изучению инфекций, передающихся половым путем, или частных лабораторий.

Специфичность этих образцов составила **99,5% (200/201)** с 95% доверительным интервалом [97,3%- 100,0%].

9.2.2. Чувствительность

Исследование чувствительности проводилось на 435 ретроспективно собранных и замороженных образцах сыворотки, полученных из лаборатории Центра по изучению инфекций, передающихся половым путем, или на замороженных образцах, полученных из частных лабораторий. Эти образцы были определены как положительные при проведении иммуноанализа, исследования с применением метода флуоресцирующих трепонемных антител, проведении RPR/VDRL-тестов или исследования РПГА, в соответствии с их источником.

Все образцы сначала были исследованы при помощи СЕ сертифицированного набора для постановки РПГА, а затем – при помощи набора ТРНА 500 (72504) производства Bio-Rad.

Чувствительность в этой популяции составила **100% (435/435)** с 95% доверительным интервалом [99,2%-100,0%].

9.3. Аналитическая чувствительность

Аналитическая чувствительность исследовалась в сравнении с установленным ВОЗ международным стандартом «Выявление IgG и IgM в плазме крови при наличии сифилиса», код 05/132 в системе NIBSC (Национальный институт биологических стандартов и контроля). При использовании протокола полуколичественного определения, чувствительность составила 0,05 МЕ/мл.

9.4. Аналитическая специфичность / Исследование перекрестной реактивности

210 образцов с потенциальной интерференцией, содержащих антитела к патогенам, которые могут привести к развитию инфекционного заболевания (цитомегаловирус, вирус Эпштейна-Барра, вирус ветряной оспы, вирус краснухи, вирус гепатита С, вирус гепатита В, ВИЧ 1/2, вирус HTLV 1/2, *Toxoplasma gondii*, возбудители лихорадки Денге, малярии, лептоспироза), образцов, полученных у беременных женщин и многократно рожавших женщин, или образцов, полученных у пациентов с заболеваниями иммунной системы (аутоиммунные антитела (СКВ), ревматоидный фактор), было исследовано при помощи ТРНА. Четыре (4) истинно положительных образца были исключены из подсчета.

Один образец оказался положительным и при повторном проведении исследования РПГА.

Специфичность в данной целевой выборке составила **99,5 % (205/206)**, что сопоставимо со специфичностью на клинических образцах.

9.5. Феномен прозоны (хук-эффект)

Вероятность существования феномена прозоны была исследована посредством тестирования 3 образцов с высокими титрами ($\geq 1:20480$) в различных разведениях. Идентичность результатов, полученных при тестировании неразведенных и разведенных образцов, свидетельствует об отсутствии феномена прозоны.

10. БИБЛИОГРАФИЯ

1. Dagué G.L. - Diagnostic Biologique de la Syphilis. Technique et Biologie, 1995; 120:5-30.
2. Houg H. - Syphilis: new diagnostic directions. Intern. J. STD and AIDS 1992; 3: 391- 413.8.
3. Larsen S.A., Hambie E.A., et coll., Specificity, sensitivity and reproducibility among the fluorescent treponemal antibody absorption test, the microhemagglutination assay for *Treponema pallidum* antibodies, and the hemagglutination treponemal test for syphilis. J. Clin. Microbiol., 1981; 14: 441 –445.
4. North M Let Guntz Ph. Serodiagnostic de la syphilis. La Revue Francaise des Laboratoires, 1997; 294: 51-58.
5. Paris Hamelin, A., Dreux P. et coll. – Treponematoses: aspects cliniques et biologiques. Feuille. Biol. 1991a; 23: 88-89.
6. Rathlev T. - Haemagglutination tests utilizing antigens from pathogenic and apathogenic *Treponema pallidum* WHO/VDT/RES 1965; 77: 65.

7. Rathlev T. - Haemagglutination test utilizing pathogenic *Treponema pallidum* for the serodiagnosis of syphilis. Br J Vener Dis 1967; 43: 181-5.
8. Sequeira P,J,L. Eldridge A,E. - Treponemal Haemagglutination test. Br J Vener Dis 1973; 49: 242-8.
9. Sluis J.J. Van Der. - Laboratory Techniques in the diagnosis of syphilis: a review. Genitourin Med. 1992; 68: 413-9.
10. Stability of selected serum proteins after long-term storage in the Janus Serum Bank. Clin Chem Lab Med. 2009. 47:596-606.
11. Tomizawa T, Kasamatsu S. - Haemagglutination tests for diagnosis of syphilis. A preliminary report. Japan. J. Med. Sci.Biol. 19, 305-308, 1966.
12. Tomizawa T. Kasamatsu S. Yamaya S. - Usefulness of the haemagglutination test using *Treponema pallidum* antigen (TPHA) for the serodiagnosis of syphilis. Jap J Med Sci Biol 1969; 22: 341-50.



Bio-Rad Био-Рад
3, boulevard Raymond Poincare
92430 Marnes-la-Coquette, France
Тел.: +33 (0)1 47 95 60 00
Факс: +33 (0)1 47 41 91 33
www.bio-rad.com



2014/12
883683

ПРИЛОЖЕНИЕ

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ОБРАЩЕНИЯ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ НА ТЕРРИТОРИИ РФ

Показания к применению медицинского изделия

Качественное и/или полуколичественное определение антител к *Treponema pallidum* в сыворотке и/или плазме крови человека с помощью реакции пассивной гемагглютинации при обследовании доноров и пациентов на наличие сифилитической инфекции.

Противопоказания

При строгом соблюдении инструкции по применению противопоказаний к применению данного медицинского изделия нет.

Побочные действия

Не применимо для данного МИ

Область применения

Только для диагностики *in vitro*.

Условия хранения и использования (Дополнение)

Данный набор должен храниться при температуре +2-8°C (в холодильнике, холодильной камере).

Хранить флаконы в вертикальном положении. Не замораживать.

Каждый компонент набора, хранящийся при температуре +2-8°C, может быть использован до окончания срока годности, указанного на упаковке. После вскрытия флаконов и в отсутствие контаминации реагенты R1, R2, R3, R4 и R5, хранящиеся при +2-8°C, могут быть использованы до окончания срока годности, указанного на этикетке.

Условия транспортирования

Изделие следует перевозить в оригинальной упаковке производителя, защищающей продукцию от внешних воздействий, на всех видах транспорта в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида.

Температурный режим: 2-8 °C

При проведении погрузочно-разгрузочных работ и транспортировании следует строго выполнять требования манипуляционных знаков, нанесенных на упаковке и транспортной таре.

При несоблюдении условий транспортирования медицинское изделие не подлежит использованию!

Предупреждения и меры предосторожности (Дополнение)

В состав некоторых реагентов входит азид натрия. Концентрация вещества менее 0,1%.

В директиве № 1272/2008 (CLP - классификация, маркировка и упаковка) не представлены токсикологические данные для смесей, содержащих азид натрия. Следовательно, в соответствии с рекомендациями CLP, оценка острой токсичности рассчитывается из токсичности ингредиентов. При используемых в смесях концентрациях вещества <0,1%, смеси не классифицируются как опасные.

Однако, азид натрия может вступать в химические реакции со свинцом или медью водопроводных труб, образуя чрезвычайно взрывоопасные азиды данных металлов. Для предотвращения накопления азидов, следует смывать удаляемые жидкости большим количеством воды.

Клинические характеристики (Дополнение)

В ходе клинических испытаний (в форме клинико-лабораторных испытаний медицинского изделия с целью регистрации МИ), проведенных ООО «Независимая лаборатория ИНВИТРО», проанализировано 300 образцов клинического материала от 68 женщин и 32 мужчин в возрасте от 10 до 87 лет (от каждого пациента были получены образцы сыворотки и плазмы с различными заявленными антикоагулянтами). 100 образцов сыворотки, 50 образцов плазмы с ЭДТА, 50 образцов плазмы с цитратом натрия, 50 образцов плазмы с гепарином натрия и 50 образцов плазмы с АСД были исследованы для оценки чувствительности и специфичности испытуемого медицинского изделия в сравнительных испытаниях с использованием зарегистрированного в РФ изделия сравнения.

Чувствительность для испытуемого МИ ИВД составила **100%** (доверительный интервал 97,57% - 100%, с доверительной вероятностью 95%), специфичность для испытуемого МИ ИВД составила **100%** (доверительный интервал 97,57% - 100%, с доверительной вероятностью 95%).

По результатам клинических испытаний установлена эффективность, качество и безопасность МИ Набор реагентов для определения антител к *Treponema pallidum* в сыворотке и/или плазме крови человека с помощью РПГА (реакция пассивной гемагглютинации) – ТРНА,, производства Bio-Rad (Био-Рад), Франция.

Утилизация

Утилизация изделия должна производиться в соответствии с требованиями локального, регионального и национального законодательства.

Все образцы и материалы, использующиеся и образующиеся при выполнении исследований, в том числе реагенты с истекшим сроком годности, следует утилизировать как потенциально эпидемиологически опасные отходы (класс Б).

Гарантии

Производитель гарантирует соответствие характеристик медицинского изделия заявленным в эксплуатационной документации при условии применения изделия в соответствии с инструкцией и по назначению, предусмотренному производителем.

По всем вопросам, для получения технической консультации и поддержки следует обращаться к уполномоченному представителю производителя на территории РФ:

ООО «Био-Рад Лаборатории»

Адрес: 105064, г. Москва, Нижний Сусальный переулок, дом 5, строение 5А.

Телефон: +7 (495) 721-14-04