

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор ЗАО "ЭКОлаб"

В.Ю.Борисов

2018 г.



ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов
"Антипаллидум-Флюороген-IgM/IgG "

Диагностикум для выявления антител классов М и G к *Treponema pallidum*
в реакции иммунофлюоресценции

Регистрационное удостоверение № РЗН 2013/247 от "23" июля 2018 г.

НАЗНАЧЕНИЕ

Выявление в реакции иммунофлюоресценции (РИФ) антител классов М и G к *Treponema pallidum* в сыворотке (плазме) крови (модификации РИФ_{abc} и РИФ₂₀₀) и спинномозговой жидкости человека (модификация РИФ_ц). Рекомендуется для подтверждения результатов отборочных тестов и специфической серодиагностики сифилиса.

СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

Набор выпускается в двух базовых вариантах комплектации:

комплект № 1:

"Антипаллидум-Флюороген IgM", Диагностикум для выявления антител класса М к *Treponema pallidum* в реакции иммунофлюоресценции,

комплект № 2:

"Антипаллидум-Флюороген IgG", Диагностикум для выявления антител класса G к *Treponema pallidum* в реакции иммунофлюоресценции.

		КОМПЛ. № 1	КОМПЛ. № 2
Антиген <i>Treponema pallidum</i> на стекле предметном	инактивированные <i>Treponema pallidum</i> (штамм Nicols), фиксированные в лунках предметных стекол	10 шт.	10 шт.
ФИТЦ-конъюгат-IgM	козьи антитела к IgM человека, меченные флюоресцеин-5-изотиоционатом (ФИТЦ); прозрачная жидкость с желтоватым оттенком или пористая аморфная масса белого или желтоватого цвета, после восстановления - прозрачная жидкость с желтоватым оттенком	2,8 мл в 1 фл или по 1,4 мл в 2 фл.	-
ФИТЦ-конъюгат-IgG	козьи антитела к IgG человека, меченные флюоресцеин-5-изотиоционатом (ФИТЦ); прозрачная жидкость с желтоватым оттенком или пористая аморфная масса белого или желтоватого цвета, после восстановления - прозрачная жидкость с желтоватым оттенком	-	2,8 мл в 1 фл или по 1,4 мл в 2 фл.
Контрольный положительный образец (K⁺)	сыворотка крови человека, содержащая антитела класса М к <i>Treponema pallidum</i> , инактивированная; прозрачная бесцветная или слабо желтого цвета жидкость	0,3 мл в 1 фл.	

КОПИЯ

БОРИСОВ В. Ю.
ГЕН. ДИРЕКТОР



	сыворотка крови человека, содержащая антитела класса G к <i>Treponema pallidum</i> , инактивированная; прозрачная бесцветная или слабо желтого цвета жидкость	-	0,5 мл в 1 фл.
Контрольный слабоположительный образец (K⁺_{слаб})	сыворотка крови человека, содержащая антитела класса G к <i>Treponema pallidum</i> в более низком титре, инактивированная; прозрачная бесцветная или слабо желтого цвета жидкость	-	0,5 мл в 1 фл.
Контрольный отрицательный образец (K⁻)	сыворотка крови человека, не содержащая антитела к <i>Treponema pallidum</i> , инактивированная; прозрачная бесцветная или слабо желтого цвета жидкость	0,3 мл в 1 фл.	-
Контрольный неспецифический образец (K_{несп})	сыворотка крови человека, не содержащая антитела к <i>Treponema pallidum</i> , но содержащая антитела к непатогенным трепонемам (штамм Рейтера и др.), инактивированная; прозрачная бесцветная или слабо желтого цвета жидкость	-	0,5 мл в 1 фл.
РФ-сорбент	козьи антитела к IgG человека - прозрачная жидкость с желтоватым оттенком или пористая аморфная масса белого или желтоватого цвета, после восстановления – мутная, бесцветная жидкость	5,5 мл в 1 фл. или по 2,8 мл в 2 фл.	-
Ультрасорбент	лиофилизированный солевой экстракт из культуральных бледных трепонем (штаммы V, VII, VIII, IX и Рейтера), дезинтегрированных ультразвуком; пористая аморфная масса светло-серого цвета, после восстановления – мутная бесцветная жидкость	10 мл в 1 фл.	5,0 мл в 1 фл.
Разводящий буферный раствор (РБР)	прозрачная бесцветная жидкость	12,0 мл в 1 фл	20 мл в 1 фл.
Монтирующая жидкость	прозрачная бесцветная вязкая жидкость	2,0 мл в 1 фл.	2,0 мл в 1 фл.
Концентрат отмывающего раствора [(ОР)к]	прозрачная, слегка опалесцирующая жидкость, возможно выпадение осадка солей белого цвета, растворяющегося при температуре 37 °С в течение 30 мин	80 мл в 1 фл. или по 40 мл в 2 фл.	80 мл в 1 фл. или по 40 мл в 2 фл.

Комплект №1 может быть дополнительно укомплектован вспомогательным планшетом для предварительного разведения образцов (1 шт).

Компоненты набора упакованы в коробку, в коробку вложена инструкция по применению (отдельная для каждого комплекта).

Запрещается использование предметных стекол с антигеном, контрольных образцов, ФИТЦ- конъюгата, ультрасорбента, РФ-сорбента из разных серий наборов. Остальные реагенты могут быть использованы для всех постановок РИФ.

По желанию потребителя базовая комплектация набора (число индивидуальных упаковок с реагентами и их объемы) может быть изменена.

ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Все базовые варианты комплектации рассчитаны на исследование 100 образцов, включая контрольные (на контрольные образцы используется 2 лунки для комплекта № 1

КОПИЯ ВЕРНА

БОРИСОВ В. Ю.
ГЕН. ДИРЕКТОР ЗАО «ЭКОЛАБ»



или 4 лунки – для комплекта № 2). Возможно проведение отдельных исследований с использованием необходимого количества предметных стекол:

Комплект № 1

Число предметных стекол	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Число иссл. обр.	1-8	9-18	19-28	29-38	39-48	49-58	59-68	69-78	79-88	89-98

Комплект № 2

Число предметных стекол	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Число иссл. обр.	1-6	7-16	17-26	27-36	37-46	47-56	57-66	67-76	77-86	87-96

ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

Используется метод непрямого иммунофлюоресцентного анализа.

При выявлении антител класса М к *Treponema pallidum* в модификации РИФ_{abc} исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови предварительно обрабатываются ультрасорбентом (для удаления из образца групповых антител к непатогенным трепонемам и исключения ложноположительного результата за счет неспецифической перекрестной реакции).

Далее исследуемые образцы обрабатываются РФ-сорбентом для предотвращения возможного влияния ревматоидного фактора класса М и исключения вытеснения специфических антител класса М антителами класса G, что может привести к получению ложноположительного и соответственно ложноотрицательного результатов.

При выявлении антител класса G к *Treponema pallidum* в модификации РИФ_{abc} исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови предварительно обрабатываются ультрасорбентом (для удаления из образца групповых антител к непатогенным трепонемам и исключения ложноположительного результата за счет неспецифической перекрестной реакции).

При наличии в предварительно исследуемых образцах антител к *Treponema pallidum* они связываются с антигеном на предметном стекле. После введения в реакционную смесь ФИТЦ-конъюгата образуются комплексы "антиген-антитело к *Treponema pallidum*-антитело конъюгата", наличие которых определяется по флюоресценции (желто-зеленое свечение *Treponema pallidum*) при просмотре стекол в люминесцентном микроскопе.

ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Исследуется сыворотка (плазма) крови человека и спинно-мозговая жидкость) человека.

Не допускается исследование образцов с признаками липемии, гемолиза и желтухи, образцов с микробной контаминацией, образцов, подвергшихся многократному замораживанию и оттаиванию, поскольку могут возникнуть неспецифичные результаты.

Допускается исследование гепаринизированных образцов и образцов с ЭДТА.

Допускается исследование сыворотки (плазмы) крови, инактивированной прогреванием при 56°C в течение 30 минут. Образцы СМЖ не инактивируют.

Образцы, содержащие взвешенные частицы, могут дать некорректный результат. Такие образцы перед использованием следует центрифугировать 10-15 мин при 3000 об/мин.

Перед исследованием образцы могут храниться до 7 сут при температуре от 2 до 8 °С и до 3 мес при температуре минус 20 °С.

При исследовании на антитела класса М разведенные образцы могут храниться при температуре от 2 до 8 °С не более 8 ч. При исследовании на антитела класса G разведенные образцы могут храниться при температуре от 2 до 8 °С не более 1 сут.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диагностическая специфичность при определении на образцах сывороток доноров крови, не содержащих иммуноглобулины классов М и G к *Treponema pallidum* -100%.



КОПИЯ

Диагностическая чувствительность при определении на клинических образцах сыровоток больных сифилисом, содержащих иммуноглобулины класса М и G к *Treponema pallidum* 95 % и 100% соответственно.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И ОСНОВНЫЕ ПРАВИЛА РАБОТЫ С НАБОРОМ

Набор биологически безопасен, однако с исследуемыми образцами необходимо обращаться как с потенциально инфицированным материалом.

СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

Оборудование и материалы

Цилиндр мерный.

Емкость Коплина или аналогичная для отмывки предметных стекол.

Микропробирки для разведения проб.

Покровные стекла (24x60 мм).

Микропипетки (10-1000мкм) с наконечниками.

Таймер.

Влажная камера (емкость с крышкой и с фильтровальной бумагой или марлей, смоченной водой, на дне).

Емкость полиэтиленовая для промывания с канюлей.

Термостат на 37°C

Микроскоп люминесцентный с ртутно-кварцевой лампой и иммерсионной системой, фильтрами СЗС-7 или СЗС-14, ФС-1, БС-8 и ЖС-18.

Вода очищенная (дистиллированная или деионизированная).

Спирт этиловый ректификованный (96 %).

Подготовка реагентов и материалов

Перед работой извлечь набор из холодильника, вскрыть упаковку и выдержать все реагенты перед проведением анализа не менее 30 мин при температуре от 20 до 25 °С.

Приготовление отмывающего раствора (ОР)

(ОР)_к интенсивно перемешать (в случае выпадения осадка – прогреть при температуре 37 °С в течение 30 мин до полного растворения солей).

80 мл (ОР)_к растворить в 1,92 л воды очищенной.

При дробном использовании набора развести концентрат водой очищенной в 25 раз, используя объемы концентрата и воды, указанные в табл. 1 для заданного числа предметных стекол.

Таблица 1

Число предм. стекол	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
(ОР) _к , мл	8	16	24	32	40	48	56	64	72	80
Вода очищ. мл	до 200	до 400	до 600	до 800	до 1000	до 1200	до 1400	до 1600	до 1800	до 2000

Допускается хранение раствора в течение 14 сут при температуре от 2 до 8 °С и до 7 сут при температуре от 18 до 25 °С.

Растворение сухого РФ-сорбента (для комплекта № 1)

Содержимое флакона с лиофильно-высушенным РФ-сорбентом растворить в 2,8 мл воды очищенной.

Допускается хранение раствора в течение 1 мес при температуре от 2 до 8 °С.

Приготовление раствора ультрасорбента

Для комплекта № 1: Содержимое флакона растворить в 10,0 мл РБР.

Для комплекта № 2: Содержимое флакона растворить в 5,0 мл РБР

Допускается хранение раствора в течение 1 мес при температуре от 2 до 8 °С.



Растворение сухих конъюгатов

Сухие ФИТЦ-конъюгаты-IgG/M растворить, добавив во флаконы по 1,4 мл воды очищенной.

Допускается хранение раствора в течение 1 мес при температуре от 2 до 8 °С.

Подготовка контрольных и исследуемых образцов**Комплект № 1**

Развести исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови раствором ультрасорбента в соотношении 1:5 (10 мкл образца внести в 40 мкл раствора ультрасорбента). При комплектации набора планшетом для предварительного разведения рекомендуется разводить образцы в нем. Инкубировать 10-15 мин при комнатной температуре.

К полученному объему разведенного образца добавить 50 мкл РФ-сорбента и тщательно перемешать. Инкубировать в течение 15 мин при комнатной температуре. Для анализа использовать надосадочную жидкость (супернатант).

Комплект № 2

Развести:

исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови раствором ультрасорбента в 5 раз (15 мкл образца внести в 60 мкл раствора ультрасорбента);

контрольный положительный образец (K^+) в 5 раз РБР (15 мкл контрольного образца внести в 60 мкл РБР);

контрольный слабоположительный образец ($K^+_{\text{слаб}}$) раствором ультрасорбента в 5 раз (15 мкл контрольного образца внести в 60 мкл раствора ультрасорбента);

контрольный неспецифический образец ($K_{\text{несп}}$) в 5 раз РБР (15 мкл контрольного образца внести в 60 мкл РБР);

контрольный неспецифический образец ($K_{\text{несп}}$) раствором ультрасорбента в 5 раз (15 мкл контрольного образца внести в 60 мкл раствора ультрасорбента);

Внимание! Образцы СМЖ (ликворы) не требуют разведения.

Подготовка других реагентов**Комплект № 1**

Контрольные образцы, РБР, монтирующая жидкость, жидкие конъюгат и РФ-сорбент готовы к применению.

Комплект № 2

РБР, жидкий конъюгат и монтирующая жидкость готовы к применению.

Проведение анализа**Внимание!**

Во время работы со стеклами допускается держать их только за маркированный участок или края. Не допускайте прикосновения к лункам!

Непосредственно перед постановкой проверить целостность вакуумной упаковки (использование стекол с нарушенной вакуумной упаковкой не допускается!), извлечь необходимое число стекол и промаркировать их.

1. Выявление антител класса М (Комплект № 1)**Рекомендуемая схема постановки.**

1 лунка – K^+
2 лунка – K^-
3-10 лунки – исследуемые образцы сыворотки (плазмы), обработанные ультрасорбентом и РФ-сорбентом.

КОПИЯ ВЕРНА

БОРИСОВ В. Ю.
Ген. директор

1.1. Осторожно внести по 25 мкл контрольных и подготовленных исследуемых образцов в соответствующие лунки (полностью покрывая поверхность лунки и не касаясь кончиком пипетки поверхности стекла). Поместить предметные стекла во влажную камеру.

Инкубировать 45 мин при температуре 37°С.

Внимание! Не допускать пересыхания лунок во время инкубаций!

1.2. Осторожно, пользуясь емкостью для промывания с канюлей, один раз промыть предметное стекло ОР. Для предупреждения перекрестной контаминации избегайте промывания одной лунки через другую, промывайте, направляя струю ОР от средней линии предметного стекла последовательно вдоль обоих рядов и не фокусируя ее непосредственно на лунках.

После этого 3 раза промыть предметное стекло ОР в емкости Коплина или аналогичной, предназначенной для отмывки предметных стекол, выдерживая их в ОР при каждой промывке 5 мин и меняя ОР после каждой промывки. Предметное стекло при промывке должно быть полностью погружено в раствор.

Стряхнуть избыток ОР с предметного стекла, нижнюю сторону его осторожно протереть фильтровальной бумагой для удаления влаги.

1.3. На препараты нанести по 25 мкл ФИТЦ-конъюгата-IgM и вновь поместить стекло во влажную камеру.

Инкубировать 30 мин при температуре 37°C в темноте.

1.4. Промыть стекло, как указано в п. 1.2. Нанести на предметное стекло по средней линии (между лунками) монтирующую жидкость, затем сверху осторожно положить покровное стекло, избегая возникновения под ним пузырьков воздуха и убрать излишки монтирующей жидкости фильтровальной бумагой. Провести микроскопию препарата под люминесцентным микроскопом при общем увеличении 400х-1000х.

2. Выявление антител класса G (Комплект № 2)

Рекомендуемая схема постановки

1 лунка – K^+ , разведенный в РБР (1:5)
 2 лунка – K^+ слаб, разведенный в ультрасорбенте (1:5)
 3 лунка – $K_{несп}$, разведенный в РБР (1:5)
 4 лунка – $K_{несп}$, разведенный в ультрасорбенте (1:5)
 5-10 лунки – исследуемые образцы сыворотки(плазмы), разведенные в ультрасорбенте (1:5)

2.1. Осторожно внести по 25 мкл подготовленных контрольных и исследуемых образцов в соответствующие лунки (полностью покрывая поверхность лунки и не касаясь кончиком пипетки поверхности стекла). Поместить предметное стекло во влажную камеру.

Инкубировать 30 мин при температуре 37°C.

Внимание! Не допускать пересыхания лунок во время инкубаций!

2.2. Осторожно, пользуясь емкостью для промывания с канюлей, один раз промыть предметное стекло ОР. Для предупреждения перекрестной контаминации избегайте промывания одной лунки через другую, промывайте, направляя струю ОР от средней линии предметного стекла последовательно вдоль обоих рядов и не фокусируя ее непосредственно на лунках.

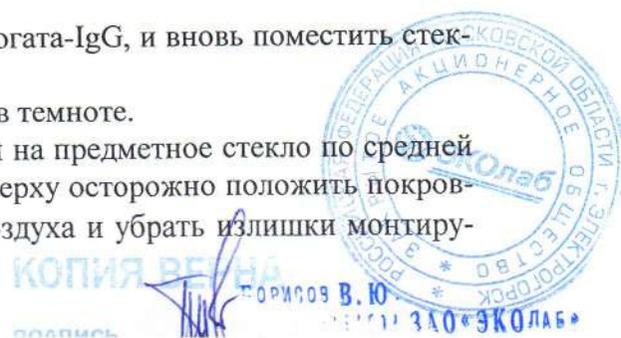
После этого 3 раза промыть предметное стекло ОР в емкости Коплина или аналогичной, предназначенной для отмывки предметных стекол, выдерживая их в ОР при каждой промывке 5 мин и меняя ОР после каждой промывки. Предметное стекло при промывке должно быть полностью погружено в раствор.

Стряхнуть избыток ОР с предметного стекла, нижнюю сторону его осторожно протереть фильтровальной бумагой для удаления влаги.

2.3. На препараты нанести по 25 мкл ФИТЦ-конъюгата-IgG, и вновь поместить стекло во влажную камеру.

Инкубировать 30 мин при температуре 18 – 25 °C в темноте.

2.4. Промыть стекло, как указано в п. 2.2. Нанести на предметное стекло по средней линии (между лунками) монтирующую жидкость, затем сверху осторожно положить покровное стекло, избегая возникновения под ним пузырьков воздуха и убрать излишки монтиру-



ющей жидкости фильтровальной бумагой. Провести микроскопию препарата под люминесцентным микроскопом при общем увеличении 400х-1000х

Учет результатов

Результаты учитывать по наличию и интенсивности желто-зеленого свечения клеток *Treponema pallidum* в поле зрения микроскопа, используя шкалу интенсивности, приведенную в табл. 2.

Таблица 2

Шкала интенсивности свечения

Характер свечения	Запись результата
Блестящее зелено-желтое свечение	(4+)
Яркое свечение	(3+)
Слабое свечение	(2+)
Трепонемы в препарате окрашены интенсивнее фона	(1+)
Полное отсутствие свечения	(-)

Примечание: Различные оптические системы могут давать различия в интенсивности свечения до 1+ и более, поэтому интенсивность свечения следует рассматривать только как ориентировочный показатель титра.

Наличие и интенсивность свечения в лунках с исследуемыми образцами можно оценивать только при соблюдении следующих условий:

При использовании комплекта № 1:

Свечение в лунке с K^+ интенсивностью от 2+ до 4+ и полное отсутствие свечения в лунке с K^- .

При использовании комплекта № 2:

Свечение в лунке с K^+ интенсивностью от 3+ до 4+ (положительная реакция), в лунке с K^+ _{слаб} интенсивностью 2+ (специфическая положительная реакция);

свечение в лунке с $K_{несп}$, разведенным в РБР, интенсивностью от 1+ до 3+ (неспецифическая положительная реакция);

полное отсутствие свечения в лунке с абсорбированным $K_{несп}$ (отрицательная реакция)

В противном случае исследование необходимо повторить.

Интерпретация результатов:

Комплект № 1	Комплект № 2	Результат
Интенсивность свечения равна или выше 1+	Интенсивность свечения равна или выше 2+	Положительный (образец содержит соответствующие антитела к <i>Treponema pallidum</i>)
Полное отсутствие свечения	Интенсивность свечения равна 1+ или полностью отсутствует	Отрицательный (образец не содержит соответствующие антитела к <i>Treponema pallidum</i>)

При использовании комплекта № 1 при более слабом свечении трепонем, которое не может быть идентифицировано по шкале интенсивности как 1+, результат следует считать сомнительным, и соответствующие образцы должны быть исследованы повторно.

При использовании комплекта № 2 при свечении трепонем, которое не может быть идентифицировано по шкале интенсивности как 2+, но более интенсивном, чем 1+, результат следует считать сомнительным, и соответствующие образцы должны быть исследованы повторно.

При повторном получении сомнительных результатов рекомендуется мониторинг антителообразования у пациента, чтобы исключить возможные неспецифические или перекрестные реакции.

подпись _____

БОРИСОВ В. Ю.
ГЕН. ДИРЕКТОР ЗАО «ЭКОЛАБ»



Проведение РИФ₂₀₀

При выявлении антител класса G в сыворотке (плазме) крови при необходимости параллельно с РИФ_{abc} можно провести РИФ₂₀₀. В этом случае набор позволяет исследовать 40 образцов, включая контрольные.

Для постановки РИФ₂₀₀ исследуемые и контрольные образцы (K+ и K_{несп.}) необходимо развести в 200 раз в ОР. Это удобнее делать в два этапа: сначала развести образец в 10 раз (например: к 90 мкл ОР добавить 10 мкл образца и тщательно перемешать пипетированием), а затем еще в 20 раз (например: к 190 мкл ОР добавить 10 мкл предыдущего разведения образца).

Далее провести анализ, как описано выше для комплекта № 2.

В том случае, когда клиницистов интересует титр антител в сыворотке крови больного, РИФ-abc и РИФ-200 следует ставить с последовательными разведениями испытуемых сывороток крови и титром антител считать то наибольшее разведение, которое еще дает положительный результат реакции. Обозначать титр принято числом, характеризующим степень разведения испытуемой сыворотки крови, например, 5, 10, 20, 40 и т.д. (РИФ-abc) или 200, 400, 800 и т.д. (РИФ-200).

СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности 1 год. Набор с истекшим сроком годности использованию не подлежит.

ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ

Хранение

В упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8 °С. Замораживание не допускается.

После вскрытия упаковки неиспользованные реагенты хранить в плотно закупоренной таре при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности набора.

Транспортирование

При температуре от 2 до 8 °С. Замораживание не допускается. Допускается транспортирование при температуре от 9 до 20 °С в течение 10 сут.

УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для учреждений здравоохранения.

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться по адресу 142530 Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1, ЗАО "ЭКОлаб"; тел. (49643) 3-23-11, факс (49643) 3-30-93 – отдел сбыта, (49643) 3-37-30 – ОБТК и в учреждение, уполномоченное Росздравнадзором на проведение государственного контроля качества указанной продукции

Директор ЗАО "ЭКОлаб" по научной работе  С.Г.Марданлы



КРАТКАЯ СХЕМА ПОСТАНОВКИ РИФ

Комплект № 1
(Антипаллидум-Флюороген-IgM)

Подготовка образцов	Восстановление сухого ультрасорбента в 10 мл РБР Восстановление сухого РФ-сорбента в 2,8 мл воды очищенной Разведение образцов ультрасорбентом в 5 раз. Экспозиция 10-15 мин при комнатной температуре Разведение образцов РФ-сорбентом в 2 раза. Экспозиция 15 мин при комнатной температуре
Нанести	На лунки по 25 мкл супернатанта образцов и контрольных образцов.
Инкубация	45 мин, 37 0С, во влажной камере
Промыть	1 раз ОР с помощью емкости для промывания с канюлей, далее 3 раза по 5 мин в ОР в емкости Коплина;
Нанести	На каждую лунку по 25 мкл ФИТЦ-конъюгата
Инкубация	30 мин, 37 0С, во влажной камере, в темноте
Промыть	1 раз ОР с помощью емкости для промывания с канюлей, далее 3 раза по 5 мин в ОР в емкости Коплина;
Нанести	Монтирующую жидкость, покровное стекло
Провести люминесцентную микроскопию (400х-1000х).	

Комплект № 2
(Антипаллидум-Флюороген-IgG)

Подготовка образцов	об- Развести ультрасорбент в 5 мл. РБР. Исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови и контрольные образцы К+слаб и Кнесп развести в 5 раз ультрасорбентом. Кнесп и К+ развести в 5 раз РБР. Образцы СМЖ использовать без разведения.
Нанести	На лунки предметного стекла с фиксированным антигеном по 25 мкл подготовленных исследуемых и контрольных образцов или цельного ликвора.
Инкубация	30 мин, 37 0С, во влажной камере
Промыть	1 раз ОР с помощью емкости для промывания с канюлей, далее 3 раза по 5 мин в ОР в емкости Коплина;
Нанести	На каждую лунку по 25 мкл ФИТЦ-конъюгата
Инкубация	30 мин, 18-25 0С, во влажной камере, в темноте
Промыть	1 раз ОР с помощью емкости для промывания с канюлей, далее 3 раза по 5 мин в ОР в емкости Коплина;
Нанести	Монтирующую жидкость, покровное стекло
Провести люминесцентную микроскопию (400х-1000х).	

КОПИЯ ВЕРНА
подпись _____БОРИСОВ В. Ю.
Ген. директор ЗАО «ЭКОЛАБ»