УТВЕРЖДАЮ
Заместитель Министра
здравоохранения
Республики Беларусь

_____ В.Е.Шевчук
"08" 08 2011 г.

# ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ВИДОСПЕЦИФИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ КЛАССА G К CHLAMYDIA TRACHOMATIS В СЫВОРОТКЕ ИЛИ ПЛАЗМЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА МЕТОДОМ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

«ИФА-Хлами-IgG-Tr»
Комплект 1

СОГЛАСОВАНО
Зам директора
РУП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»
_____ С.И. Зинченко
"05" 08 2011 г.

СП ООО «Фармлэнд»
Генеральный директор
_____ В.В. Сенчук
"10" 08 2011 г.

2011

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

## 1 Назначение набора

**1.1** Набор предназначен для выявления видоспецифических антител класса G к Chlamydia trachomatis в сыворотке или плазме крови человека "in vitro" методом непрямого твердофазного иммуноферментного анализа.

## 2 Характеристика и принцип работы набора

**2.1** Состав набора:

| Наименование компонента | Количество |
|---|---|
| Иммуносорбент | 1 планшет |
| Положительный контрольный образец (**К$^+$**) | 1 флакон, 1,5 мл |
| Отрицательный контрольный образец (**К$^-$**) | 1 флакон, 3,0 мл |
| Конъюгат (**Кг**) | 1 флакон, 0,6 мл |
| Раствор для разведения сывороток (**РР-С**) | 1 флакон, 10,0 мл |
| Раствор для разведения конъюгата (**РР-К**) | 1 флакон, 13,0 мл |
| Раствор конъюгата (**РК**) – ***вместо РР-К и Кг!*** | 1 флакон, 12,0 мл |
| Буферный раствор для субстрата (**БРС**) | 1 флакон, 13,0 мл |
| Хромоген ТМБ | 1 флакон, 0,5 мл |
| Раствор хромогена (**РХ**) – ***вместо БРС и хромогена ТМБ!*** | 1 флакон, 13,0 мл |
| 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (**ФСБ-Т×25**) | 1 флакон, 28,0 мл |
| Стоп-реагент | 1 флакон, 6,0 мл |
| Комплект ванночек для реагентов с наконечниками для многоканальных пипеток | 1 комплект |
| Клейкая пленка | 3 штуки |

**2.2** Основные компоненты набора «ИФА-Хлами-IgG-Tr» – иммуносорбент и конъюгат (раствор конъюгата).

**Иммуносорбент** представляет собой разборный полистироловый планшет, в лунках которого сорбирован рекомбинантный антиген (С-концевой фрагмент основного белка наружной мембраны MOMP) Chlamydia trachomatis.

**Конъюгат** (раствор конъюгата) представляет собой моноклональные антитела мыши к IgG человека, конъюгированные с пероксидазой хрена.

**Положительный контрольный образец** – сыворотка крови человека, содержащая видоспецифические антитела класса G к Chlamydia trachomatis и не содержащая антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2, вирусу гепатита С и Treponema pallidum и HBs-антиген, инактивированная прогреванием при температуре 56 °С в течение 3 ч.

**Отрицательный контрольный образец** – сыворотка крови человека, не содержащая антитела к Chlamydia trachomatis, ВИЧ-1, ВИЧ-2, вирусу гепатита С, Treponema pallidum и HBs-антиген, инактивированная прогреванием при температуре 56 °С в течение 3 ч.

**Принцип работы набора.** При внесении в лунки планшета образцов сыворотки (плазмы) инфицированной крови человека видоспецифические антитела к Chlamydia trachomatis связываются с антигеном Chlamydia trachomatis, сорбированном на поверхности лунок планшета иммуносорбента, образуя иммунные комплексы «антиген–антитело». Образовавшиеся комплексы выявляют при помощи иммуноферментного конъюгата. После отмывания несвязавшихся компонентов комплекс «антиген–антитело класса G–конъюгат» выявляют, добавляя в лунки планшета раствор субстрата пероксидазы (перекись водорода) и хромогена (ТМБ). При этом в лунках, содержащих видоспецифические антитела к Chlamydia trachomatis, происходит изменение окраски раствора. В лунках, не содержащих видоспецифические антитела к Chlamydia trachomatis, изменение окраски раствора не произойдет.

Пероксидазную реакцию останавливают, добавляя стоп-реагент (0,9 М раствор серной кислоты). Интенсивность окрашивания раствора в лунках измеряют на спектрофотометре как величину оптической плотности (ОП), ОЕ, при длине волны 450 нм.



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Величина ОП прямо пропорциональна концентрации видоспецифических антител, содержащихся в образце сыворотки (плазмы) крови человека. Чем выше содержание видоспецифических антител класса G к Chlamydia trachomatis в образце, тем выше интенсивность окрашивания раствора.

**2.3** Набор рассчитан на проведение **12 постановок** ИФА: 1 постановка – 1 стрип (8 лунок). Всего – **96 определений**, включая контрольные образцы.

Продолжительность анализа составляет **1 ч 15 мин**.

## 3 Меры предосторожности при работе с набором

**3.1** Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными. Однако работа со всеми исследуемыми образцами сыворотки (плазмы) крови человека, которые следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции, с отработанными растворами и жидкостями, различным оборудованием, которое может быть загрязнено в процессе анализа, требует определенных мер безопасности при использовании набора:

- работу необходимо проводить в специально оборудованном помещении;
- работать необходимо с применением средств индивидуальной защиты и с соблюдением мер предосторожности в соответствии с требованиями [1], [2], и [3].

**3.2** Стоп-реагент, содержащий серную кислоту, обладает раздражающим действием. При попадании на кожу и слизистые немедленно промыть большим количеством воды.

**3.3** При работе с набором рабочие места должны быть обеспечены приточно-вытяжной вентиляцией.

**3.4** Все лица, работающие в лаборатории с наборами, должны проходить обязательный медицинский осмотр в соответствии с требованиями [4].

**3.5** Утилизация медицинских отходов и/или неиспользованных наборов с истекшим сроком годности должна производиться в соответствии с требованиями [5].

## 4 Правила работы с набором

**4.1** Для исключения ложных результатов исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови человека необходимо готовить и хранить в условиях, предотвращающих бактериальный пророст. Необходимо осветлять образцы сыворотки крови человека, содержащие агрегированные компоненты сыворотки или осадок, при помощи центрифугирования в течение 15 мин при скорости вращения 3000 об/мин.. Образцы сыворотки крови человека можно хранить при температуре (2-8) °С не более 48 ч. Замороженные образцы (желательно до температуры минус 20 °С и ниже) можно хранить не более 3 месяцев. Необходимо избегать повторных циклов замораживания-оттаивания образцов.

Необходимо помнить, что образцы с гемолизом, гиперлипидемией, бактериальным ростом, а также длительно хранившиеся без замораживания не пригодны для анализа.

Надежность результатов зависит от выполнения следующих правил:

- не допускается использование набора после окончания срока годности, а также смешивание компонентов наборов разных серий;
- для приготовления каждого реагента должна использоваться отдельная емкость;
- всю используемую для приготовления реагентов посуду нельзя обрабатывать дезрастворами и моющими средствами. В случае необходимости промыть водой питьевой проточной, а затем пять раз ополоснуть дистиллированной водой;
- для работы с хромогеном ТМБ и РХ необходимо использовать отдельные емкости для растворов и наконечники для пипеток;
- необходимо обратить внимание на тщательное перемешивание реагентов;
- время между заполнением и опорожнением лунок планшета растворами и реагентами должно быть не менее 30 с. Не допускается подсыхание лунок на всех этапах постановки ИФА;



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- при использовании промывателя необходимо следить за состоянием емкости для раствора для промывания планшета и соединительных шлангов: в них не должно быть признаков бактериального или грибкового роста;

- необходимо использовать пипетки автоматические со сменными наконечниками, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (погрешность не более 3 %);

- дозаторы и рабочие поверхности обрабатывать раствором с объемной долей спирта этилового 70 %. Не использовать хлорамин и другие хлорсодержащие вещества;

- для работы с образцами исследуемой сыворотки (плазмы) крови человека и контрольными образцами рекомендуется использовать одноразовые наконечники для пипеток. Каждый образец сыворотки (плазмы) крови человека, а также реагенты набора необходимо отбирать отдельным наконечником;

- при внесении в лунки раствора Кг в рабочем разведении (РК) нельзя касаться наконечником пипетки поверхности планшета;

- во время проведения анализа следует избегать попадания прямых солнечных лучей на рабочую поверхность.

## 5 Оборудование и материалы, необходимые для проведения анализа

**5.1** Спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках планшета при длине волны 450 нм;

- полу- или автоматическое устройство для промывания планшетов (вошер);

- суховоздушный термостат типа ТС-80 М2, поддерживающий температуру (37±1) °С, или аналогичный ему по характеристикам;

- пипетки одноканальные автоматические со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 0,01 до 5,0 мл;

- пипетки 8-ми канальные автоматические со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости до 0,5 мл;

- мерный цилиндр вместимостью 1000 мл;

- флаконы стеклянные вместимостью 20 мл;

- ванночки для реагентов или чашки Петри (диаметр 100 мм);

- вата медицинская гигроскопическая;

- бумага фильтровальная;

- перчатки резиновые хирургические;

- раствор с объемной долей этилового спирта 70 %;

- раствор с массовой долей перекиси водорода 6 %;

- вода деионизированная или дистиллированная;

- контейнер для сбора твердых отходов;

- контейнер для слива жидких отходов.

## 6 Подготовка к проведению анализа

**6.1** Набор реагентов перед проведением анализа извлечь из холодильника, открыть крышку коробки и выдержать компоненты набора при температуре **(18-25) °С в течение 30 мин.**

Все образцы сыворотки (плазмы) крови человека и реагенты набора перед проведением анализа необходимо тщательно перемешать.

Расход реагентов набора для постановки анализа, который определяется количеством используемых стрипов, приведен в таблице А.1 Приложения А.

### 6.2 Приготовление раствора для промывания планшета

Если флакон с ФСБ-Т×25 содержит осадок, его необходимо прогреть перед использованием при температуре (37±1) °С до полного растворения осадка.

Для приготовления раствора для промывания планшета содержимое флакона с ФСБ-Т×25 необходимо разбавить в **25 раз** водой очищенной. Для этого в мерный цилиндр вместимостью



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

1000 мл внести содержимое флакона с ФСБ-Т×25, затем добавить дистиллированной (деионизированной) воды до метки **700 мл** и аккуратно перемешать раствор, избегая образования пены.

В случае использования одного или несколько стрипов содержимое флакона с ФСБ-Т×25 интенсивно встряхнуть в течение (20-30) с, отобрать необходимый объем раствора (таблица А.1 Приложения А) в мерный стакан или цилиндр, добавить необходимое количество дистиллированной (деионизированной) воды и перемешать раствор.

Неиспользованный ФСБ-Т×25 можно хранить в закрытом флаконе при температуре (2-8) °С в течение срока годности набора.

**6.3 Подготовка иммуносорбента**

Иммуносорбент готов к использованию.

Открыть пакет и установить на рамку необходимое количество стрипов. Неиспользованные стрипы хранить в плотно закрытом пакете с влагопоглотителем при температуре (2-8) °С не более 3 месяцев.

**6.4 Подготовка $К^+$, $К^-$, РР-С, РР-К, РК, БРС, РХ и стоп-реагента**

Иммуносорбент, $К^+$, $К^-$, РР-С, РР-К, РК, БРС, РХ и стоп-реагент готовы к использованию.

***Внимание!*** Во флаконах с РР-С, РР-К и РК возможно выпадение осадка. Перед использованием содержимое флаконов тщательно перемешать, не допуская образования пены.

***Внимание!*** Необходимо исключить воздействие прямого солнечного света на флакон с РХ!

Неиспользованные РР-С, РР-К, РК, БРС, РХ и стоп-реагент после вскрытия флаконов можно хранить в закрытых флаконах при температуре (2-8) °С в течение срока годности набора.

Остаток $К^+$ и $К^-$ после вскрытия флаконов можно хранить в закрытых флаконах при температуре (2-8) °С в течение срока годности набора.

**6.5 Приготовление раствора Кг в рабочем разведении**

Из флакона с Кг отобрать указанный в таблице А.1 Приложения А объем и перенести во флакон с РР-К. Содержимое флакона тщательно перемешать, не допуская образования пены.

В случае использования одного или несколько стрипов в **чистый** флакон отобрать необходимое количество РР-К, добавить Кг в соответствии с таблицей А.1 Приложения А и перемешать раствор, не допуская образования пены.

***Внимание!*** Раствор Кг в рабочем разведении готовить непосредственно перед использованием! Раствор Кг в рабочем разведении можно хранить не более 15 мин при температуре (18-25) °С. Необходимо использовать только новую ванночку для реагентов и новые наконечники!

Остаток Кг можно хранить в закрытом флаконе при температуре (2-8) °С в течение срока годности набора.

**6.6 Приготовление рабочего раствора субстрата**

Если флакон с хромогеном ТМБ содержит кристаллы, его необходимо прогреть перед использованием в течение (3-5) мин при температуре (37±1) °С до полного растворения кристаллов.

Из флакона с хромогеном ТМБ отобрать указанный в таблице А.1 Приложения А объем и перенести во флакон с БРС. Содержимое флакона осторожно перемешать.

В случае использования одного или несколько стрипов в **чистый** флакон отобрать необходимое количество БРС, добавить хромоген ТМБ в соответствии с таблицей А.1 Приложения А и осторожно перемешать раствор.

***Внимание!*** Рабочий раствор субстрата готовить непосредственно перед использованием в защищенном от света месте! Раствор можно хранить не более 20 мин при температуре (18-25) °С в защищенном от света месте.

Раствор необходимо предохранять от попадания света и контакта с металлами или ионами металлов. Перед использованием раствор субстрата должен быть бесцветным. Посуду, которая будет в ходе реакции контактировать с раствором субстрата, отмывать без применения синтетических моющих средств. Необходимо использовать только новую ванночку для реагентов и новые наконечники.

Остаток хромогена ТМБ можно хранить в закрытом флаконе при температуре (2-8) °С в течение срока годности набора.



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

**7 Требования к промыванию планшета**

**7.1** Для промывания планшета рекомендуется использовать автоматический или полуавтоматический промыватель – вошер; в случае отсутствия вошера можно промывать лунки 8-канальной пипеткой;

- на всех этапах промывания необходимо контролировать заполнение всех лунок и полное удаление (аспирацию) жидкости из них;
- необходимо при каждом промывании все лунки заполнить раствором до краев (0,30-0,35 мл в лунку), без переполнения и перетекания жидкости из соседних лунок;
- необходимо выдерживать лунки, заполненными раствором для промывания планшета, в течение 30 с;
- при каждой аспирации тщательно удалять остатки жидкости из лунок постукиванием рамкой со стрипами в перевернутом положении по сложенной в несколько раз фильтровальной бумаге, положенной на лист полиэтилена;
- некачественное промывание планшета приводит к получению некорректных результатов.

**8 Проведение анализа**

**8.1** Промыть лунки иммуносорбента раствором для промывания планшета (п 6.2) **один раз.** Для этого необходимо внести во все лунки по (0,30-0,35) мл раствора, а затем удалить содержимое лунок иммуносорбента в емкость с дезраствором. По окончании промывания тщательно удалить остатки жидкости из лунок, постукивая планшетом иммуносорбента в перевернутом положении (лунками вниз) по сложенной в несколько раз фильтровальной бумаге, положенной на лист полиэтилена.

**8.2** В лунки иммуносорбента внести контрольные образцы. Схема внесения контрольных образцов в лунки иммуносорбента при постановке анализа:

**а)** при постановке ИФА **на полном планшете иммуносорбента** или на **двух и более стрипах:** в любые **две** лунки иммуносорбента внести по **0,1 мл (100 мкл)** $К^+$, в **три** другие лунки иммуносорбента внести по **0,1 мл (100 мкл)** $К^-$, в **одну** лунку иммуносорбента внести **0,1 мл (100 мкл)** РР-С для контроля конъюгата (ККг);

**б)** при постановке ИФА на **одном стрипе** в любую **одну** лунку иммуносорбента внести **0,1 мл (100 мкл)** $К^+$, в **две** другие лунки иммуносорбента внести по **0,1 мл (100 мкл)** $К^-$, в **одну** лунку иммуносорбента внести **0,1 мл (100 мкл)** РР-С для контроля конъюгата (ККг);

**8.3** В остальные лунки иммуносорбента внести по **0,06 мл (60 мкл)** РР-С, затем внести по **0,04 мл (40 мкл)** образцов исследуемой сыворотки (плазмы) крови человека. Раствор в каждой лунке перемешать **пять раз** пипетированием, при этом во время пипетирования цвет РР-С должен измениться!

***Внимание!*** Общее время внесения в лунки иммуносорбента контрольных и исследуемых образцов не должно превышать (5-10) мин! Каждый образец необходимо отбирать одноразовым наконечником!

**8.4** Планшет иммуносорбента заклеить пленкой или закрыть крышкой и инкубировать в термостате при температуре **(37±1) °С в течение 30 мин.**

**8.5** Удалить содержимое лунок иммуносорбента с помощью промывателя, затем промыть лунки иммуносорбента раствором для промывания планшета (п 6.2) **пять раз.**

**8.6** Во все лунки иммуносорбента внести **по 0,1 мл (100 мкл)** раствора Кг в рабочем разведении (п 6.5) или РК в зависимости от комплектации набора. Раствор Кг в рабочем разведении (РК) перед внесением в лунки иммуносорбента перелить из флакона в прилагаемую к набору пластиковую ванночку.

***Внимание!*** Раствор Кг в рабочем разведении (РК) необходимо вносить в лунки иммуносорбента с использованием одноразовых наконечников, прилагаемых к набору!

**8.7** Планшет иммуносорбента заклеить пленкой или закрыть крышкой и инкубировать в термостате при температуре **(37±1) °С в течение 30 мин.**

**8.8** Удалить содержимое лунок иммуносорбента с помощью промывателя, затем промыть лунки иммуносорбента раствором для промывания планшета (п 6.2) **пять раз.**



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

**8.9** Во все лунки иммуносорбента внести **по 0,1 мл (100 мкл)** рабочего раствора субстрата (п 6.6) или РХ в зависимости от комплектации набора. Рабочий раствор субстрата (РХ) перед внесением в лунки иммуносорбента перелить из флакона в прилагаемую к набору пластиковую ванночку.

***Внимание!*** Рабочий раствор субстрата (РХ) необходимо вносить в лунки иммуносорбента с использованием одноразовых наконечников, прилагаемых к набору!

**8.10** Планшет иммуносорбента заклеить пленкой или закрыть крышкой и инкубировать при температуре **(37±1) °С в защищенном от света месте в течение 15 мин.**

***Внимание!*** По окончании инкубации в лунках иммуносорбента с образцами сывороток, содержащими видоспецифические антитела класса G к Chlamydia trachomatis, произойдет изменение окраски раствора различной интенсивности в зависимости от концентрации антител: от бесцветной до голубой (при использовании рабочего раствора субстрата) или от розовой до синей (при использовании РХ).

**8.11** Остановить пероксидазную реакцию путем внесения во все лунки иммуносорбента по **0,05 мл (50 мкл)** стоп-реагента.

***Внимание!*** В лунках иммуносорбента с образцами сывороток, содержащими видоспецифические антитела класса G к Chlamydia trachomatis, произойдет изменение окраски раствора различной интенсивности в зависимости от концентрации антител с голубой (синей) на желтую.

**8.12** Не позже чем через (1-2) мин после остановки реакции определить значение ОП, ОЕ, в лунках иммуносорбента в одноволновом режиме при длине волны **450 нм.**

## 9 Обработка результатов анализа

**9.1** Рассчитать среднее значение ОП для лунок с $К^-$ (**ОПср $К^-$**), ОЕ, и для лунок с $К^+$ (**ОПср $К^+$**), ОЕ.

**9.2** Результаты учитывать только в том случае если:

- значение ОПср $К^-$ – **менее 0,200 ОЕ**;
- значение ОПср $К^+$ – **более 1,000 ОЕ**;
- значение ОП в лунке с ККг **(ОП ККг) – менее 0,150 ОЕ**;

### 9.3 Качественное определение антител класса G к Chlamydia trachomatis

**9.3.1** При соблюдении выше перечисленных условий вычислить критическое значение (**ОПкрит.**), ОЕ, по формуле (1):

$$ОПкрит. = ОПср\ К^- + 0{,}20 \quad (1).$$

**9.3.2** Рассчитать интервал области неопределенных значений **(«серая зона»).** «Серая зона» – зона значений ОП, которая находится в интервале от **ОПкрит×0,9** до **ОПкрит×1,2**.

Результат анализа на данном наборе реагентов считать **отрицательным**, если значение ОП исследуемого образца сыворотки (плазмы) крови человека, ОЕ, **меньше** значения **ОПкрит×0,9.**

Результат анализа на данном наборе реагентов считать **положительным**, если значение ОП исследуемого образца сыворотки (плазмы) крови человека, ОЕ, **больше** значения **ОПкрит×1,2.**

Остальные результаты анализа на данном наборе реагентов считать **сомнительными**.

**9.3.3** Соответствие величин отношения значения ОП образца к значению ОПкрит. (коэффициент реактивности) титрам видоспецифических антител класса G к Chlamydia trachomatis в исследуемом образце сыворотки (плазмы) крови человека показано в таблице 1.

**Таблица 1**

| **ОП образца/ ОПкрит.** | **Титр IgG** | **Интерпретация результата** |
|---|---|---|
| Меньше 0,9 | Меньше 1:2,5 | **Отрицательный результат**. Указывает на то, что анализируемый образец сыворотки (плазмы) крови человека либо не содержит IgG к Chlamydia trachomatis, либо уровень уровень IgG к Chlamydia trachomatis ниже порога чувствительности набора |



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

| ОП образца/ ОПкрит. | Титр IgG | | Интерпретация результата |
|---|---|---|---|
| От 0,9 до 1,2 включительно | От 1:2,5 до 1:3,0 | | **Сомнительный результат**. Следует провести повторное исследование образца. Отрицательный результат повторного исследования указывает на то, что анализируемый образец сыворотки (плазмы) крови человека либо не содержит IgG к Chlamydia trachomatis. |
| От 1,2 до 5,0 | Больше 1,2 | Больше 1:3,0 | **Слабоположительный результат**. Указывает на постинфекционный период, либо на раннюю стадию сероконверсии. Рекомендуется провести повторное обследование пациента через (2-3) недели |
| | 2,0 | 1:5,5 | |
| | 3,0 | 1:8,0 | |
| | 4,0 | 1:11,0 | |
| | Меньше 5,0 | Меньше 1:14,0 | |
| От 5,0 до 7,5 | Больше 5,0 | Больше 1:14,0 | **Положительный результат** |
| | 6,0 | 1:16,5 | |
| | 7,0 | 1:20,0 | |
| | Меньше 7,5 | Меньше 1:21,0 | |
| Больше 7,5 | Больше 7,5 | Больше 1:21,0 | **Сильноположительный результат** |
| | 8,0 | 1:22,0 | |
| | 9,0 | 1:25,0 | |
| | 10,0 | 1:28,0 | |
| | Больше 10,0 | Больше 1:28,0 | |

**9.4 Полуколичественное определение содержание видоспецифических антител класса G к Chlamydia trachomatis**

**9.4.1** Для образцов сыворотки (плазмы) крови человека, давших **положительный результат**, и значения ОП которых **не превышают 2,000 ОЕ**, рассчитать титр антител класса G к Chlamydia trachomatis (**Т**) по формуле (2):

$$Т = Кразб. \times 2,75 \times \frac{ОП\ обр.}{ОПкрит.} \quad (2),$$

где ОП обр. – значение ОП исследуемого образца сыворотки (плазмы) крови человека;

Кразб. – коэффициент предварительного разбавления образца сыворотки (плазмы) крови человека; для неразбавленного образца Кразб. равен **1**.

***Внимание!*** Если значения ОП образцов сыворотки (плазмы) крови человека, давших положительный результат **превышают 2,000 ОЕ**, то для вычисления титра антител класса G к Chlamydia trachomatis, образцы необходимо исследовать в более высоких конечных разведениях. Для этого перед проведением анализа образцы сыворотки (плазмы) крови человека необходимо **предварительно развести РР-С** в 2 или 4, или 8 раз.

***Пример расчета титр антител класса G к Chlamydia trachomatis.***

**1)** Расчет титра антител класса G к Chlamydia trachomatis в неразбавленном образце:

Кразб. = 1,0; ОП обр. = 1,186 ОЕ; ОПкрит. = 0,264 ОЕ.



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

$$T = 1{,}0 \times 2{,}75 \times \frac{1{,}186}{0{,}264}$$, таким образом, T = 12,35.

2) Расчет титра антител класса А к Chlamydia trachomatis в предварительно разбавленном образце:

Образец сыворотки (плазмы) крови человека со значением ОП = 2,602 ОЕ разбавляем в 4 раза; при проведении последующего ИФА получаем ОП обр. = 1,127 ОЕ.

Кразб. = 4,0; ОП обр. = 1,127 ОЕ; ОПкрит. = 0,271 ОЕ.

$$T = 4{,}0 \times 2{,}75 \times \frac{1{,}127}{0{,}271}$$ , таким образом, T = 45,75.

*Примечания*

1 Титры, рассчитанные по формуле (2), близки к истинным значениям титров, но иногда могут не совпадать из-за индивидуальных особенностей исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови человека.

2 Для удобства регистрации результатов рекомендуется округление значений титров, например:

T = 42,7 соответствует титру сыворотки 1:40;

T = 147,5 соответствует титру сыворотки 1:150.

Достоверные критерии серологического диагноза формы хламидийной инфекции (острая, хроническая, перенесенная) для проведения успешной терапии получают при исследовании «парных сывороток» (желательно, чтобы повторно взятый образец был проанализирован одновременно с предыдущим, что позволяет с большей достоверностью оценить динамику специфических антител).

Такими критериями являются:

- трех-четырехкратное повышение или понижение титра IgG;
- двукратное повышение или понижение титра IgA;
- двукратное повышение или понижение титра IgA в комбинации двух-трехкратным повышением или понижением титра IgG;
- сероконверсия одного из классов антител.

## 10 Форма выпуска набора

**10.1** Набор поставляется в двух вариантах комплектации:

1 **комплект 1** – для проведения анализа **ручным способом**. Набор рассчитан на проведение **12 постановок** ИФА **на разборном планшете**: 1 постановка – 1 стрип (8 лунок). Всего – **96 определений**, включая контрольные образцы;

2 комплект 2 – для проведения анализа на автоматическом анализаторе. Набор рассчитан на проведение 12 постановок ИФА на разборном планшете: 1 постановка – 1 стрип (8 лунок). Всего – 96 определений, включая контрольные образцы.

## 11 Условия хранения и применения набора

**11.1** Хранение набора должно производиться в чистом, защищенном от влаги и света помещении при температуре **(2-8) °С** в течение всего срока годности.

Запрещается замораживать компоненты набора.

**11.2** Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

**11.3** Срок годности набора – **12 месяцев**.



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

## Приложение А

**Таблица А.1 – Расход реагентов набора для постановки ИФА**

| Объем реагента, мл | Количество используемых стрипов, шт. | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
| *Приготовление раствора для промывания планшета* | | | | | | | | | | | | |
| **ФСБ-Т×25** | 2,0 | 4,0 | 6,0 | 8,0 | 10,0 | 12,0 | 14,0 | 16,0 | 18,0 | 20,0 | 22,0 | 28,0 |
| **Дистиллиров. вода** | до 50 | до 100 | до 150 | до 200 | до 250 | до 300 | до 350 | до 400 | до 450 | до 500 | до 550 | до 700 |
| *Приготовление раствора Кг в рабочем разведении* | | | | | | | | | | | | |
| **РР-К** | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 13 |
| **Кг** | 1/13a* | 2/13a* | 3/13a* | 4/13a* | 5/13a* | 6/13a* | 7/13a* | 8/13a* | 9/13a* | 10/13a* | 11/13a* | a* |
| *Приготовление рабочего раствора субстрата* | | | | | | | | | | | | |
| **БРС** | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 13 |
| **Хромоген ТМБ** | 1/13b* | 2/13b* | 3/13b* | 4/13b* | 5/13b* | 6/13b* | 7/13b* | 8/13b* | 9/13b* | 10/13b* | 11/13b* | b* |

* a = 0,5 мл (величина переменная, определяется для каждой серии набора).
* b = 0,4 мл (величина переменная, определяется для каждой серии набора).

## Библиография


[1] Санитарные правила
СП 17-69 РБ 98 «Общие требования по профилактике инфекционных и паразитарных заболеваний», утвержденные постановлением Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь от 29.04.1998 № 18

[2] Приказ Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 16.12.1998 г. № 351
О пересмотре ведомственных нормативных актов, регламентирующих вопросы по проблеме ВИЧ/СПИД

[3] Приказ Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 25.11.2002 г. № 165
О проведении дезинфекции и стерилизации учреждениями здравоохранения

[4] Постановление Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 28.04.2010 г. № 47
Об утверждении Инструкции о порядке проведения обязательных медицинских осмотров работающих и признании утратившими силу некоторых постановлений Министерства здравоохранения Республики Беларусь

[5] Санитарные нормы и правила
СанПиН № 2.1.7.14-20-2005 Правила обращения с медицинскими отходами



Инструкция составлена
сотрудниками СП ООО «Фармлэнд»:

Начальник отдела изделий
медицинского назначения
СП ООО «Фармлэнд» Ю.В.Сенчук

Ведущий технолог
СП ООО «Фармлэнд» Е.И.Лаврецкая

Ведущий специалист отдела изделий
медицинского назначения
СП ООО «Фармлэнд» И.М.Богдановская




Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru