

УТВЕРЖДАЮ
Заместитель Министра
здравоохранения
Республики Беларусь



В.Е.Шевчук

2011 г.

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

«ИФА-Хлами-IgA-Tr»
Комплект 1

СОГЛАСОВАНО
Зам директора
РУП «Центр экспертиз и
испытаний в здравоохранении»

С.И. Зинченко
"05" 2011 г.



СП ООО «Фармлэнд»
Генеральный директор



В.В. Сенчук
2011 г.

2011

Handwritten signature

1 Назначение набора

1.1 Набор предназначен для выявления видоспецифических антител класса А 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 (K^+)	1 флакон, 1,5 мл
Отрицательный контрольный образец (K^-)	1 флакон, 3,0 мл
Конъюгат ($K\Gamma$)	1 флакон, 0,6 мл
Раствор для разведения сывороток (PP-C)	1 флакон, 10,0 мл
Раствор для разведения конъюгата (PP-K)	1 флакон, 13,0 мл
Раствор конъюгата (PK) – вместо PP-K и $K\Gamma$!	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-IgA-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 МОМР) *Chlamydia trachomatis*.

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

Положительный контрольный образец – сыворотка крови человека, содержащая видоспецифические антитела класса А 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 А–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), ОП, при длине волны 450 нм.

Величина ОП прямо пропорциональна концентрации видоспецифических антител, содержащихся в образце сыворотки (плазмы) крови человека. Чем выше содержание видоспецифических антител класса А 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 проростом, 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;

- 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 $(37 \pm 1)^\circ \text{C}$, 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 $(18-25)^\circ \text{C}$ 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 $(37 \pm 1)^\circ \text{C}$ 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

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 K^+ , K^- , РР-С, РР-К, РК, БРС, РХ и стоп-реагента

Иммуносорбент, K^+ , K^- , 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 K^+ и K^- 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.

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) K^+ , в три другие лунки иммуносорбента внести по 0,1 мл (100 мкл) K^- , 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) K^+ , в две другие лунки иммуносорбента внести по 0,1 мл (100 мкл) K^- , 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 $(37 \pm 1)^\circ C$ **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 $(37 \pm 1)^\circ C$ **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**.

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 А 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 А 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 значения 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 K^- (ОПср K^-), ОЕ, и для лунок с K^+ (ОПср K^+), ОЕ.

9.2 Результаты учитывать только в том случае если:

- значение ОПср K^- – менее **0,200 ОЕ**;
- значение ОПср K^+ – более **0,500 ОЕ**;
- значение ОП в лунке с ККг (ОП ККг) – менее **0,150 ОЕ**;

9.3 Качественное определение антител класса А к *Chlamydia trachomatis*

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

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

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 А к *Chlamydia trachomatis* в исследуемом образце сыворотки (плазмы) крови человека показано в таблице 1.

Таблица 1

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

ОП образца/ ОП _{крит.}	Титр IgA		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 IgA к <i>Chlamydia trachomatis</i> .
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 1:24,0	
Больше 7,5	Больше 7,5	Больше 1:24,0	Сильноположительный результат
	8,0	1:28,0	
	9,0	1:32,0	
	10,0	1:40,0	
	Больше 10,0	Больше 1:40,0	

9.4 Полуколичественное определение содержания видоспецифических антител класса А к *Chlamydia trachomatis*

9.4.1 Для образцов сыворотки (плазмы) крови человека, давших **положительный результат**, и значения ОП которого **не превышают 1,700 ОЕ**, рассчитать титр антител класса А к *Chlamydia trachomatis* (Т) по формуле (2):

$$T = \text{Кразб.} \times 2,75 \times \frac{\text{ОП обр.}}{\text{ОП}_{\text{крит.}}} \quad (2),$$

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 1,700 ОЕ**, то для вычисления титра антител класса А 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 А к *Chlamydia trachomatis*.

1) Расчет титра антител класса А к *Chlamydia trachomatis* в неразбавленном образце:
Кразб. = 1,0; ОП обр. = 1,186 ОЕ; ОП_{крит.} = 0,264 ОЕ.

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

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.

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

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).

Таковыми критериями являются:

- трех-четырёхкратное 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.

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
<i>Приготовление раствора для промывания планшета</i>												
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
<i>Приготовление раствора Кг в рабочем разведении</i>												
РР-К	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	13
Кг	1/13а*	2/13а*	3/13а*	4/13а*	5/13а*	6/13а*	7/13а*	8/13а*	9/13а*	10/13а*	11/13а*	а*
<i>Приготовление рабочего раствора субстрата</i>												
БРС	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	13
Хромоген ТМБ	1/13б*	2/13б*	3/13б*	4/13б*	5/13б*	6/13б*	7/13б*	8/13б*	9/13б*	10/13б*	11/13б*	б*
* а = 0,5 мл (величина переменная, определяется для каждой серии набора).												
* б = 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»

Ведущий технолог
СП ООО «Фармлэнд»

Ведущий специалист отдела изделий
медицинского назначения
СП ООО «Фармлэнд»

Ю.В.Сенчук

Е.И.Лаврецкая

И.М.Богдановская