«УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный директор
АО «Вектор-Бест»
_____ М.Д. Хусаинов
«13» _____ 2022 г.
м.п.

ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов
для иммуноферментного выявления видоспецифических
иммуноглобулинов класса А к *Chlamydia trachomatis*
(ХламиБест C. trachomatis – IgA)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор предназначен для выявления видоспецифических иммуноглобулинов класса А к *Chlamydia trachomatis* в сыворотке *(плазме)* крови человека методом иммуноферментного анализа и может быть использован в клинических и эпидемиологических исследованиях.

1.2. Набор рассчитан на проведение 96 анализов, включая контроли. Возможны 12 независимых постановок ИФА по 8 анализов каждая, включая контроли.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия.

Метод определения основан на твёрдофазном иммуноферментном анализе.

Во время первой инкубации происходит связывание специфических IgA к *Chlamydia trachomatis,* содержащихся в исследуемых образцах сывороток крови, с иммобилизованным на поверхности лунок стрипов рекомбинантным антигеном *Chlamydia trachomatis*. На втором этапе моноклональные антитела к IgA человека, конъюгированные с пероксидазой хрена *(конъюгат)*, связываются с комплексом «антиген-антитело».

Во время третьей инкубации с раствором тетраметилбензидина происходит окрашивание раствора в лунках, содержащих комплексы «антиген-антитело».

Реакцию останавливают добавлением стоп-реагента. Результаты ИФА регистрируют с помощью спектрофотометра, **измеряя оптическую плотность (ОП)** в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – в диапазоне 620–655 нм. Допустима регистрация результатов только с фильтром 450 нм.

Интенсивность жёлтого окрашивания пропорциональна количеству содержащихся в исследуемом образце IgA к *Chlamydia trachomatis*.

После измерения ОП раствора в лунках на основании рассчитанных значений $ОП_{крит}$ и КП анализируемые образцы оцениваются как положительные, отрицательные или сомнительные.

2.2. Состав набора.

- планшет разборный с иммобилизованным рекомбинантным антигеном *C. trachomatis* – 1 шт.;
- положительный контрольный образец ($К^+$), инактивированный – 1 фл., 0,5 мл;
- отрицательный контрольный образец ($К^-$), инактивированный – 1 фл., 1 мл;
- конъюгат, концентрат – 1 фл., 1,5 мл;
- раствор для разведения конъюгата (РК) – 1 фл., 13 мл;
- раствор для разведения сывороток (РС) – 1 фл., 13 мл;
- 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 1 фл., 28 мл;
- раствор тетраметилбензидина *(раствор ТМБ)* – 1 фл., 13 мл;

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

- стоп-реагент – 1 фл., 12 мл.

Набор дополнительно комплектуется:

- плёнкой для заклеивания планшета – 3 шт.;
- ванночками для реагентов – 2 шт.;
- наконечниками для пипетки на 4–200 мкл – 16 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Чувствительность по иммуно-глобулинам класса А к *Chlamydia trachomatis* – соответствие требованиям инструкции по применению стандартной панели предприятия *(рег. № 05-2-300),* аттестованной ОБТК АО «Вектор-Бест», включающей образцы сывороток крови, содержащие иммуноглобулины класса А к *Chlamydia trachomatis*.

3.2. Специфичность по иммуноглобулинам класса А к *Chlamydia trachomatis* – соответствие требованиям инструкции по применению стандартной панели предприятия *(рег. № 05-2-300),* аттестованной ОБТК АО «Вектор-Бест», включающей образцы сывороток крови, не содержащие иммуноглобулины класса А к *Chlamydia trachomatis*.

3.3. Диагностическая чувствительность выявления иммуноглобулинов класса А к *Chlamydia trachomatis:* клинические испытания, проведённые на 53 положительных образцах сывороток *(плазм)*, показали 100% чувствительность *(интервал 95%–100%).*

3.4. Диагностическая специфичность выявления иммуноглобулинов класса А к *Chlamydia trachomatis:* клинические испытания, проведённые на 131 отрицательном образце сывороток *(плазм)*, показали 100% специфичность *(интервал 98%–100%).*

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2б *(Приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).*

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

- ❖ работать в резиновых перчатках;
- ❖ не пипетировать растворы ртом;
- ❖ все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями СП 1.3.2322-08 от 01.05.08 и МУ-287-113 от 30.12.98;
- ❖ утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Спектрофотометр, позволяющий проводить измерения ОП растворов в лунках планшета при длине волны 450 нм и/или в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–655 нм;
- термостат, поддерживающий температуру (37±1) °С;
- холодильник бытовой, поддерживающий температуру (2–8) °С;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным объёмом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 5 до 1000 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования *(погрешность не более 5%);*
- пипетки полуавтоматические многоканальные с переменным объёмом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкостей от 5 мкл до 350 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования *(погрешность не более 5%);*
- промывочное устройство для планшетов;
- перчатки медицинские диагностические **одноразовые** *(ГОСТ Р 52239-2004);*
- бумага фильтровальная лабораторная;
- цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- дезинфицирующие средства, разрешенные к применению в соответствии с указанием СП

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

1.3.2322-08 и МУ-287-113.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Допускается использование образцов, хранившихся при температуре (2–8) °С не более 5 суток, либо при температуре минус (20±4) °С, если необходимо более длительное хранение.

Сыворотки, содержащие взвешенные частицы, могут дать неправильный результат. Такие образцы перед использованием следует центрифуговать при 3000 об/мин 10–15 минут.

Нельзя использовать проросшие, гемо-лизированные, гиперлипидные сыворотки или подвергавшиеся многократному замораживанию и оттаиванию.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

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

- Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать при температуре (18–25) °С.
- Для приготовления растворов и проведения ИФА следует использовать чистую мерную посуду и автоматические пипетки с погрешностью измерения объёмов не более 5%.
- После отбора необходимого количества стрипов оставшиеся сразу упаковать в пакет с осушителем. Упакованные стрипы, плотно закрытые флаконы с исходными компонентами сразу после постановки реакции поместить в холодильник при температуре (2–8) °С.
- Раствор конъюгата в рабочем разведении готовить непосредственно перед использованием.
- Необходимо исключить воздействие прямого света на раствор ТМБ.
- При промывке лунки *(стрипа, планшета)* заполнять полностью, не допуская переливания промывочного раствора через край лунок, и не касаясь лунок наконечником пипетки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 с.
- При использовании автоматического или ручного промывателя необходимо следить за состоянием ёмкости для промывочного раствора и соединительных шлангов: в них не должно быть «заростов». Раз в неделю желательно ёмкость для промывочного раствора и шланги промывать 70% спиртом.
- Не допускать высыхания лунок планшета между отдельными операциями.
- При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов *(ФСБ Т×25, стоп-реагент, раствор ТМБ),* которые взаимозаменяемы в наборах АО «Вектор-Бест».
- Наконечники для пипеток *(автоматических дозаторов)* следует использовать **однократно**.
- Для дезинфекции посуды и материалов, контактировавших с исследуемыми и кон-трольными образцами, рекомендуем использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС *(четвертичных аммониевых соединений),* спиртов, третичных аминов *(МУ-231-113 от 29.10.98)*.
- Посуду *(ванночки),* используемые для работы с растворами конъюгата и ТМБ, не обрабатывать дезинфицирующими растворами и моющими средствами.
- В случае повторного использования посуду *(ванночки)* для раствора конъюгата промыть проточной водой и тщательно ополоснуть дистиллированной водой, посуду *(ванночки)* для раствора ТМБ сразу после работы необходимо промыть 50% раствором этилового спирта, а затем дистиллированной водой.
- Пипетки и рабочие поверхности обрабатывать только 70% раствором этилового спирта. Не использовать перекись водорода, хлорамин и т.д.

7.1. Приготовление реагентов.

7.1.1. Промывочный раствор.

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

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

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

Хранение: при температуре (2–8) °С до 5 суток.

7.1.2. Раствор конъюгата.

Внимание! *Для работы с конъюгатом рекомендуем использовать* ***одноразовые*** *наконечники для пипеток.*

Перед приготовлением раствора конъюгата в рабочем разведении необходимо аккуратно перемешать, не допуская вспенивания, содержимое флаконов с концентратом конъюгата и с РК. В пластиковую ванночку отобрать необходимое количество *(см. таблицу)* концентрированного раствора конъюгата, добавить соответствующее количество РК и аккуратно перемешать пипетированием до получения равномерного окрашивания.

Таблица расхода реагентов

	Количество используемых стрипов											
	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**
Промывочный раствор												
ФСБ-Т×25, мл	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24
Дистиллированная вода, мл	до 50	до 100	до 150	до 200	до 250	до 300	до 350	до 400	до 450	до 500	до 550	до 600
Приготовление раствора конъюгата в рабочем разведении из концентрата												
Концентрат конъюгата (мл)	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0	1,1	1,2
РК, мл	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0
Раствор ТМБ												
Раствор ТМБ, мл	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0

Внимание! *Раствор конъюгата в рабочем разведении готовить в пластиковой ванночке, входящей в состав набора, непосредственно перед использованием!*

Хранение: концентрат конъюгата – при температуре (2–8) °С в течение всего срока годности набора.

7.1.3. Раствор ТМБ.

Внимание! *Раствор ТМБ готов к использованию. Необходимо исключить воздействие света на раствор ТМБ.*

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

Непосредственно перед использованием отобрать в пластиковую ванночку только необходимое в соответствии с числом используемых стрипов количество раствора ТМБ *(см. таблицу)*. Остатки раствора ТМБ из ванночки утилизировать *(не сливать во флакон с исходным раствором ТМБ)*.

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

Хранение: *при температуре (2–8) °С в течение всего срока годности набора.*

7.2. Проведение анализа.

7.2.1. Подготовить к работе необходимое количество стрипов планшета с иммобилизованным рекомбинантным антигеном *C. trachomatis*. Оставшиеся – сразу упаковать во избежание губительного воздействия влаги. Для этого стрипы поместить в цефленовый пакет с влагопоглотителем, тщательно закрыть пакет пластиковой застёжкой. Упакованные таким образом стрипы хранить при температуре (2–8) °С до конца срока годности набора.

Приготовить промывочный раствор *(п. 7.1.1).*

7.2.2. Перед постановкой ИФА лунки стрипов с иммобилизованным рекомбинантным антигеном *C. trachomatis* промыть 1 раз промывочным раствором, заливая в каждую лунку по 400 мкл промывочного раствора. По истечении 5 минут раствор аккуратно удалить в сосуд с дезинфицирующим раствором.

По окончании промывки необходимо тщательно удалить влагу из лунок, постукивая перевернутыми стрипами по сложенной в несколько слоёв фильтровальной бумаге. Не допускать высыхания лунок стрипов между отдельными операциями при постановке реакции.

7.2.3. Во все лунки стрипов с иммобилизованным рекомбинантным антигеном *C. trachomatis* внести по **80 мкл РС**, в любые 2 лунки внести по **20 мкл К$^-$**, в 1 лунку – **20 мкл К$^+$**. Во все остальные лунки внести по **20 мкл сывороток**, получая, таким образом, разведение 1:5. Внесение сывороток должно сопровождаться аккуратным перемешиванием (*пипетирование не менее 4 раз).* Не допускать вспенивания и касания наконечником дна и стенок лунки.

Лунки заклеить плёнкой и инкубировать при температуре (37±1) °С **30 мин**.

За 5 минут до окончания инкубации приготовить раствор конъюгата в рабочем разведении *(п. 7.1.2).*

7.2.4. По окончании инкубации содержимое лунок собрать в сосуд с дезинфицирующим раствором, промыть лунки 5 раз промывочным раствором и тщательно удалить влагу.

Внимание! *Каждую лунку при промывке необходимо заполнять полностью (**400 мкл рабочего промывочного раствора**). Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого их заполнения. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек.*

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

*Для внесения конъюгата использовать ванночку для реагентов и **одноразовые** наконечники, входящие в состав набора.*

Стрипы заклеить липкой плёнкой и инкубировать при температуре (37±1) °С **30 мин**.

7.2.6. По окончании инкубации содержимое лунок собрать в сосуд с дезинфицирующим раствором и промыть 5 раз промывочным раствором, удалить влагу как описано выше.

7.2.7. Внести во все лунки по **100 мкл раствора ТМБ** *(п. 7.1.3).*

Внимание! *Для внесения раствора ТМБ использовать пластиковую ванночку и **одноразовые** наконечники, прилагаемые к набору.*

Стрипы поместить при температуре (18–25) °С в защищённое от света место на **25 мин**.

7.2.8. Остановить реакцию добавлением во все лунки по **100 мкл стоп-реагента** и через 2–3 минуты измерить ОП.

Следует избегать попадания стоп-реагента на одежду и открытые участки тела. При попадании – промыть большим количеством воды.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты ИФА регистрировать с помощью спектрофотометра, измеряя ОП в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – в диапазоне 620–655 нм. Допустима регистрация результатов только с фильтром 450 нм.

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

9. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

9.1. Результаты исследований учитывать только при соблюдении следующих условий:

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

– среднее значение ОП в лунках с отрицательным контрольным образцом не более 0,20 *($ОП_{ср}К^- \leq 0,20$)*.

– значение ОП в лунке с положительным контрольным образцом не менее 0,60 *($ОПК^+ \geq 0,60$)*;

Вычислить **критическое значение ОП ($ОП_{крит}$)** по формуле:

$$ОП_{крит} = ОП_{ср}К^- + 0,2,$$

где $ОП_{ср}К^-$ – среднее арифметическое значение ОП в лунках с отрицательным контрольным образцом.

Если ОП $К^-$ имеет отрицательное значение, считать её равной нулю.

Для интерпретации результатов исследования сывороток использовать **коэффициент позитивности (КП)**:

$$КП = ОП_{иссл.\ сыв.}/ОП_{крит.}$$

Исследуемый образец оценивать как:

– **положительный**, т.е. содержащий антитела класса А к *Chlamydia trachomatis*, если значение КП $\geq 1,1$;

– **отрицательный**, т.е. не содержащий антитела класса А к *Chlamydia trachomatis*, если значение КП $\leq 0,9$;

– **сомнительный**, если $0,9 < КП < 1,1$ *(«серая зона»: $ОП_{крит} \pm 10\%$)*. При получении сомнительного результата требуется повторно исследовать этот образец для исключения ошибки на аналитическом этапе. При повторном получении сомнительного результата необходимо обследовать пациента в динамике.

Результаты анализа нескольких образцов, последовательно полученных от одного пациента, допускается сравнивать между собой только в том случае, если все образцы были исследованы в одной постановке.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Транспортирование набора должно проводиться при температуре (2−8) °С. До-пускается транспортирование при температуре до 25 °С не более 10 сут.

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре (2−8) °С.

10.3. Срок годности набора реагентов – 12 месяцев со дня выпуска.

10.4. Дробное использование набора может быть реализовано в течение всего срока годности. В случае дробного использования набора:

неиспользованные стрипы хранить в плотно закрытом пакете при температуре (2−8) °С в течение всего срока годности набора;

контрольные образцы, ФСБ-Т×25, РС, РК, раствор ТМБ и стоп-реагент после вскрытия флаконов хранить в плотно закрытых флаконах при температуре (2−8) °С в течение всего срока годности набора;

концентрат конъюгата после вскрытия флакона хранить в плотно закрытом флаконе при температуре (2−8) °С в течение всего срока годности набора;

промывочный раствор хранить при температуре (2−8) °С до 5 суток с момента приготовления.

11. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

11.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

11.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

11.3. Производитель обязуется за свой счёт заменить изделие, технические и функци-ональные характеристики *(потребительские свойства)* которого не соответствуют нормативной и технической

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

документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

По вопросам, касающимся качества набора ***«ХламиБест C. trachomatis – IgA»****, обращаться в* ***АО «Вектор-Бест»*** *по адресу:*

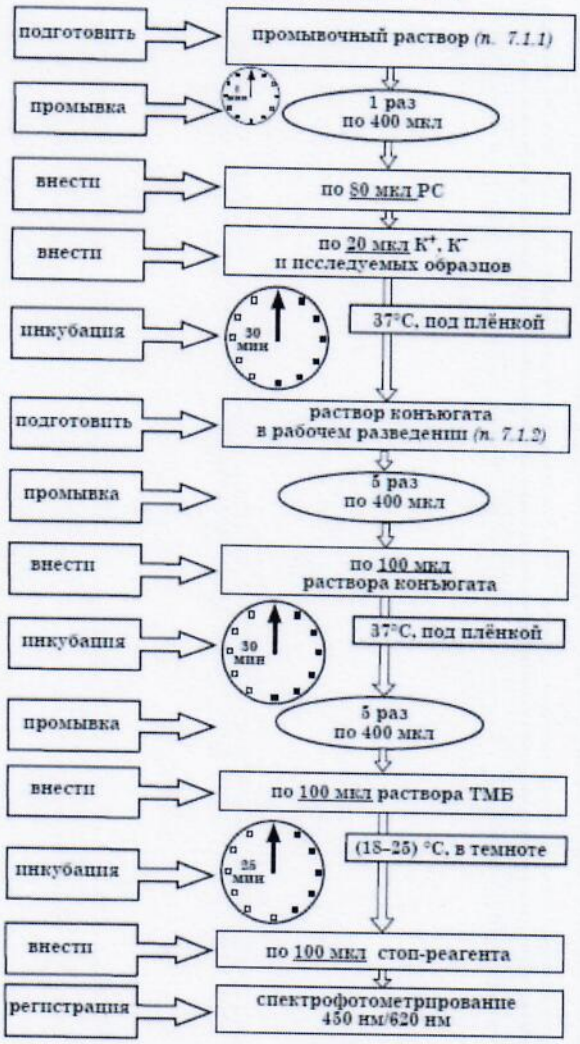
630117, г. Новосибирск-117, а/я 492,
тел.: (383) 332-92-49, 227-60-30;
тел./факс: (383) 332-94-47, 332-94-44;
E-mail: plkobtk@vector-best.ru

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ:

- Набор реагентов предназначен для профессионального применения и должен использоваться обученным персоналом;
- При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются *(утилизируются)* в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами». Дезинфекцию наборов следует проводить по МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения»;
- Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007;
- Не применять набор реагентов по назначению после окончания срока годности;
- Транспортирование должно проводиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида.
- Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

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

Схема анализа D-1968



ГРАФИЧЕСКИЕ СИМВОЛЫ

REF	Номер по каталогу	IVD	Медицинское изделие для диагностики *in vitro*
Σ n	Содержимого достаточно для проведения n количества тестов	NON STERILE	Не стерильно
LOT	Код партии		Температурный диапазон
	Дата изготовления: XXXX-XX-XX Формат даты: год-месяц-число		Изготовитель
	Использовать до: XXXX-XX-XX Формат даты: год-месяц-число		Обратитесь к Инструкции по применению
	Осторожно! Обратитесь к Инструкции по применению		

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: *(383) 332-81-44.*

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