

УТВЕРЖДЕНА

УТВЕРЖДАЮ

Приказом Росздравнадзора

от _____ 200 г. № _____



Директор ЗАО
«Медико-биологический Союз»

М.В.Лосев

2007 г.

ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов
«ХЛАМИ-IgG-ДС-Tr»

**Тест-система иммуноферментная для выявления
видоспецифических антител класса G к Chlamydia trachomatis**

Настоящая инструкция распространяется на набор реагентов «Хлами-IgG-ДС-Tr» – тест-систему иммуноферментную, предназначенную для выявления видоспецифических антител класса G к Chlamydia trachomatis методом непрямого иммуноферментного анализа (ИФА) на твердофазном носителе.

Состав набора: иммуносорбент – рекомбинантный антиген Chlamydia trachomatis, сорбированный в лунках полистироловых разборных планшетов; К+ – положительный контрольный образец – сыворотка крови человека, содержащая видоспецифические антитела класса G к Chlamydia trachomatis, не содержащая антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2, ВГС и HBs-антиген, инаktivированная прогреванием при температуре 56 °С в течение 3 ч, – прозрачная красного цвета жидкость; К- – отрицательный контрольный образец – сыворотка крови человека, не содержащая антитела к Chlamydia trachomatis, ВИЧ-1, ВИЧ-2, ВГС и HBs-антиген, инаktivированная прогреванием при температуре 56 °С в течение 3 ч, – прозрачная желтого цвета жидкость; Кг – конъюгат – моноклональные антитела мыши против IgG человека, конъюгированные с пероксидазой хрена, – прозрачная, вязкая, зеленого цвета жидкость; РБР-К – разводящий буферный раствор для конъюгата – прозрачная или опалесцирующая, зеленого цвета жидкость, допускается выпадение осадка, растворяющегося при тщательном взбалтывании; РК (вместо РБР-К и Кг) – раствор конъюгата – прозрачная или опалесцирующая, зеленого цвета жидкость; РБР-С – разводящий буферный раствор для сывороток – прозрачная или опалесцирующая, синего цвета жидкость, допускается выпадение осадка, растворяющегося при тщательном взбалтывании; БРС – буферный раствор для субстрата – прозрачная бесцветная жидкость; ТМБ – хромоген – прозрачная бесцветная или светло-желтого цвета жидкость; РХ (вместо БРС и ТМБ) – раствор хромогена – прозрачная бесцветная жидкость; ФСБ-Т(х25) – 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином – прозрачная или слегка опалесцирующая, бесцветная жидкость, допускается выпадение кристаллического осадка, растворяющегося при температуре 37 °С в течение 30 мин, допускается расслаивание компонентов; стоп-реагент – прозрачная бесцветная жидкость.

Набор «Хлами-IgG-ДС-Tr» рассчитан на проведение 96 определений, включая контрольные образцы.

Назначение

Выявление видоспецифических антител класса G к Chlamydia trachomatis в сыворотке (плазме) крови человека.

ИНСТРУКЦИЯ ВЗАМЕН УТВЕРЖДЕННОЙ МЗ РФ 01 МАРТА 2001 г.

Способ применения

Предупреждение! Несмотря на то, что тест-система «Хлами-IgG-ДС-Тг» является полностью биологически безопасной, при работе с ней следует выполнять следующие правила:

- работать в перчатках резиновых;
- все использованные материалы подвергать обработке раствором спирта этилового с объемной долей 70 % или раствором водорода перекиси с массовой долей 6 % с последующей выдержкой при температуре от 17 °С до 27 °С не менее 2 ч.

Внимание! При проведении анализа нельзя использовать реагенты из наборов разных серий или смешивать их в процессе приготовления растворов.

Окисляющие агенты, ионы металлов, моющие средства на посуде могут разлагать ТМБ. Во избежание получения ложных результатов необходимо тщательно отмывать посуду раствором кислоты серной 1 моль/л или кислоты соляной 1 моль/л с последующей отмывкой водой очищенной.

Для проведения анализа дополнительно требуются следующие материалы:

- вода очищенная при температуре от 17 °С до 27 °С;
- спирт этиловый с объемной долей 70 % и водорода перекись с массовой долей 6 %;
- перчатки резиновые.

1 Приготовление реагентов

Перед проведением анализа набор выдержать в течение 30 мин при температуре от 17 °С до 27 °С.

Все образцы сывороток и реагенты перед исследованием тщательно перемешать.

Для приготовления реагентов использовать автоматические пипетки с погрешностью измерения не более 3 %.

Т а б л и ц а – Расход реагентов тест-системы для постановки ИФА

	Количество используемых стрипов, шт.											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<i>Приготовление рабочего раствора ФСБ-Т</i>												
ФСБ-Т(х25), мл	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24
Вода очищенная, 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
<i>Приготовление рабочего раствора конъюгата</i>												
Кг	V/12	V/6	V/4	V/3	5/12V	V/2	7/12V	2/3V	3/4V	5/6V	11/12 V	V
РБР-К, мл	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	13,0
<i>Приготовление рабочего раствора субстрата</i>												
ТМБ	V/12	V/6	V/4	V/3	5/12V	V/2	7/12V	2/3V	3/4V	5/6V	11/12 V	V
БРС, мл	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	13,0

1.1 Приготовление рабочего раствора ФСБ-Т (для промывки планшетов)

При наличии во флаконе с ФСБ-Т(х25) осадка флакон с концентратом выдержать при температуре 37 °С до полного растворения солей.

Содержимое одного флакона с ФСБ-Т(х25) перенести в мерный цилиндр вместимостью 1 л и довести объем раствора до 650 мл водой очищенной.

В случае использования одного или нескольких стрипов планшета в мерный цилиндр внести ФСБ-Т(х25) из флакона и добавить воду очищенную в соответствии с таблицей.

Хранение: неиспользованный ФСБ-Т(х25) в закрытом флаконе в течение срока годности набора при температуре от 2 °С до 8 °С.

1.2 Подготовка РБР-К, РК, РБР-С, БРС и РХ

РБР-К, РК, РБР-С, БРС и РХ готовы к использованию.

В РБР-К и РБР-С возможно выпадение осадка. Перед использованием содержимое

флаконов тщательно перемешать.

Хранение: неиспользованные РБР-К, РК, РБР-С, БРС и РХ в закрытых флаконах в течение срока годности набора при температуре от 2 °С до 8 °С.

1.3 Подготовка контрольных образцов

К- и К+ – готовы к использованию.

Хранение: после вскрытия флакона не более 48 ч при температуре от 17 °С до 27 °С, остаток К- и К+ в закрытых флаконах в течение срока годности набора при температуре от 2 °С до 8 °С.

1.4 Приготовление рабочего раствора конъюгата

Рабочий раствор Кг готовить непосредственно перед использованием.

Из флакона с Кг отобрать указанный на этикетке объем (V) и перенести во флакон с РБР-К. Раствор тщательно перемешать, не допуская образования пены.

В случае использования одного или нескольких стрипов планшета в чистый флакон отобрать необходимое количество РБР-К и добавить конъюгат в соответствии с таблицей.

Хранение: рабочий раствор конъюгата не более 15 мин при температуре от 17 °С до 27 °С, остаток Кг в закрытом флаконе в течение срока годности набора при температуре от 2 °С до 8 °С.

1.5 Приготовление рабочего раствора субстрата

В случае кристаллизации ТМБ флакон с реагентом выдержать в течение 3-5 мин при температуре 37 °С до полного растворения ТМБ.

Рабочий раствор субстрата готовить непосредственно перед использованием в защищенном от света месте.

Из флакона с ТМБ отобрать указанный на этикетке объем (V) и перенести во флакон с БРС. Раствор осторожно перемешать.

В случае использования одного или нескольких стрипов планшета в чистый флакон отобрать необходимое количество БРС и добавить ТМБ в соответствии с таблицей.

Хранение: рабочий раствор субстрата не более 20 мин при температуре от 17 °С до 27 °С в защищенном от света месте, остаток ТМБ в закрытом флаконе в течение срока годности набора при температуре от 2 °С до 8 °С.

1.6 Подготовка стоп-реагента

Стоп-реагент готов к использованию.

Хранение: не ограничено.

2 Подготовка исследуемых образцов

2.1 Для проведения анализа использовать образцы сыворотки (плазмы) крови человека объемом не менее 40 мкл.

2.2 Для выявления видоспецифических антител класса G к *Chlamydia trachomatis* использовать сыворотку (плазму) крови человека как свежеприготовленную, так и хранившуюся не более 48 ч при температуре от 2 °С до 8 °С или не более трех месяцев при температуре минус 20 °С.

2.3 Для исключения ложноположительных результатов исследуемые сыворотки готовить и хранить в условиях, исключающих возможность бактериального пророста. Необходимо осветлять образцы сывороток, содержащие осадок и агрегаты, путем центрифугирования в течение 5-10 мин со скоростью вращения 3000 об/мин. Не использовать сыворотки с выраженным гемолизом, гиперлипидемией и бактериемией. Избегать повторных циклов замораживания-оттаивания образцов.

2.4 Каждый образец сыворотки или раствора отбирать новым наконечником.

3 Проведение ИФА

3.1 Планшет промыть один раз рабочим раствором ФСБ-Т. Для этого внести в каждую лунку планшета от 200 до 250 мкл раствора, а затем удалить содержимое лунок в емкость с

дезраствором. Остатки раствора удалить, активно постукивая планшетом по сложенной в несколько раз фильтровальной бумаге.

3.2 В любые две лунки планшета внести по 100 мкл K+, в три другие лунки планшета – по 100 мкл K-. В лунку, предназначенную для контроля конъюгата, внести 100 мкл РБР-С.

При постановке ИФА на одном стрипе допускается использовать для K- две лунки, для K+ – одну лунку, для контроля Kг – одну лунку.

В остальные лунки планшета внести по 60 мкл РБР-С, затем по 40 мкл исследуемых сывороток. Содержимое лунок перемешать с помощью пипетки, при этом цвет РБР-С должен измениться на зеленый.

Планшет накрыть крышкой или заклеить клейкой лентой и инкубировать в течение 30 мин при температуре 37 °С.

3.3 По окончании инкубации содержимое лунок удалить в емкость с дезраствором, планшет промыть пять раз рабочим раствором ФСБ-Т (см. 3.1).

3.4 Внести в каждую лунку планшета по 100 мкл рабочего раствора конъюгата (приготовление см. 1.4) или по 100 мкл РК.

Планшет накрыть крышкой или заклеить клейкой лентой и инкубировать в течение 30 мин при температуре 37 °С.

3.5 По окончании инкубации планшет промыть пять раз рабочим раствором ФСБ-Т, как описано в 3.1.

3.6 Внести в каждую лунку планшета по 100 мкл рабочего раствора субстрата (приготовление см.1.5) или по 100 мкл РХ.

Планшет накрыть крышкой или заклеить клейкой лентой и инкубировать в течение 15 мин при температуре 37 °С в защищенном от света месте.

3.7 Остановить реакцию внесением в каждую лунку планшета по 50 мкл стоп-реагента.

Учет результатов

Результаты ИФА регистрировать на спектрофотометре непосредственно после добавления в лунки планшета стоп-реагента.

Оптическую плотность (ОП) измерять при длине волны 450 нм. Нулевой уровень («бланк») задать по воздуху.

Результаты учитывать только в том случае, если значение ОП в лунке с контролем конъюгата (ОПКг) не превышает 0,15, в лунках с K- среднее значение ОП(ОПК-) не более 0,2, а в лунках с K+ среднее значение ОП(ОПК+) не менее 1,0. В случае несовпадения результатов, опыт следует повторить.

Результаты теста считать положительными, если ОП анализируемой сыворотки больше ОПКрит.

Рассчитать критическую оптическую плотность (ОПКрит.) по формуле

$$\text{ОПКрит.} = \text{ОПК-(ср.)} + 0,2, \quad (1)$$

где ОПК-(ср.) – среднее значение ОП (ОПК-) по трем (двум) лункам.

Форма выпуска

Тест-систему «Хлами-IgG-ДС-Tr» выпускают в виде набора, упакованного в пачку из картона, куда вкладывают инструкцию по применению.

Состав набора: планшет-иммуносорбент – 1 шт.; K+ 1,5 мл – 1 флакон; K- 3 мл – 1 флакон; Kг 0,6 мл – 1 флакон; РБР-К 13 мл – 1 флакон; РК (вместо РБР-К и Kг) 13 мл – 1 флакон; РБР-С 10 мл – 1 флакон; БРС 13 мл – 1 флакон; ТМБ 0,5 мл – 1 флакон; РХ (вместо БРС и ТМБ) 13 мл – 1 флакон; ФСБ-Т(х25) 26 мл – 1 флакон; стоп-реагент 6 мл – 1 флакон.

Срок годности, условия хранения и транспортирования

Срок годности набора 9 месяцев. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

Хранение и транспортирование в соответствии с СП 3.3.2.1248-03 при температуре от 2 °С до 8 °С. Замораживание не допускается.

Транспортирование наборов в соответствии с СП 3.3.2.1248-03 от 2 °С до 8 °С. Замораживание не допускается. Допускается транспортирование при температуре не выше 27 °С в течение 5 суток.

Для диагностики «in vitro». Для лечебно-профилактических и санитарно-профилактических учреждений. Хранить в недоступном для детей месте.

Рекламации на качество наборов направлять:

в ФГУН ГИСК им. Л.А.Тарасевича

по адресу: 119002, г. Москва, пер. Сивцев Вражек, 41; тел. 8-(495)-241-39-22;

и в адрес производителя ЗАО «МБС»

по адресу: 630117, г. Новосибирск-117, а/я-113;

тел./факс 8-(383)-339-94-43;

отдел продаж, тел./факс 8-(383)-332-81-38, 332-18-54, 339-91-97;

Зам. директора по производству

Мезенцев А.Н.Мезенцев

« 14 » июня 200 2 г.