

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»

М.Д. Хусаинов

2022 г.



ИНСТРУКЦИЯ

**по применению набора реагентов для иммуноферментного выявления
видоспецифических иммуноглобулинов класса А к
Chlamydia trachomatis
(ХламиБест С. *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 твердофазном 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 ре-

Инструкция составлена сотрудниками АО «Вектор-Бест»: директором по производству В.К. Ткачевым и начальником отделения ИФА бактериальных инфекций Т.Г. Дворянчиковой

жине: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – в диапазоне 620-655 нм. Допустима регистрация результатов только с фильтром 450 нм.

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

После измерения оптической плотности раствора в лунках на основании рассчитанных значений $ОП_{крим}$ 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 (K^+), инактивированный – 1 фл., 0,5 мл;

- отрицательный контрольный образец (K^-), инактивированный – 1 фл., 1,0 мл;

- конъюгат, концентрат – 1 фл., 1,5 мл или конъюгат, готовый к использованию – 1 фл., 13,0 мл;

- раствор для разведения конъюгата (РК) при комплектации набора концентратом конъюгата – 1 фл., 13,0 мл;

- раствор для разведения сывороток (РС) – 1 фл., 13,0 мл;

- 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 1 фл., 28,0 мл;

- раствор тетраметилбензидина (раствор ТМБ) – 1 фл., 13,0 мл;

- стоп-реагент – 1 фл., 12,0 мл.

Набор дополнительно комплектуется:

- пленкой для заклеивания планшета – 3 шт.;

- ванночками для реагентов – 2 шт.;

- наконечниками для пипетки на 4-200 мкл – 16 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

1. Чувствительность 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, содержащие иммуноглобулины класса А к *Chlamydia trachomatis*.

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 сыворо-

ток крови, не содержащие иммуноглобулины класса А к *Chlamydia trachomatis*.

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

4. Диагностическая специфичность выявления иммуноглобулинов класса А к *Chlamydia trachomatis*: клинические испытания, проведенные 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 с 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 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» и МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Спектрофотометр, позволяющий проводить измерения оптической плотности 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 объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 5 до 1000 мкл, аттестован-

ные 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 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 центрифугировать в течение 10-15 мин при 3000 об./мин.

Нельзя использовать проросшие, гемолизированные, 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 не менее 30 мин при температуре (18-25) °С.

Для приготовления растворов и проведения ИФА следует использовать чистую мерную посуду и автоматические пипетки с погрешностью измерения объемов 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 тетраметилбензидина.

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 емкости для промывочного раствора и соединительных шлангов: в них не должно быть «заростов». Раз в неделю желательно емкость 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 контрольными 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 тетраметилбензидаина, 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 тетраметилбензидаина 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.

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

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

7.1.2. Растворы конъюгата

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

При комплектовании набора концентратом конъюгата, перед приготовлением раствора конъюгата в рабочем разведении необходимо тщательно взболтать содержимое флакона. Затем в ванночку для реагентов отобрать необходимое количество (см. таблицу) концентрата конъюгата, добавить соответствующее количество РК, тщательно перемешать пипетированием до получения равномерного окрашивания.

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

При комплектовании набора конъюгатом, готовым к использованию, подготовительных работ не требуется. Непосредственно перед использованием отобрать в пластиковую ванночку только необходимое в соответствии с числом используемых стрипов количество конъюгата (см. таблицу). Остатки конъюгата из ванночки утилизировать (не сливать во флакон с конъюгатом).

Хранение: концентрат конъюгата/конъюгат, готовый к использованию – в течение всего срока годности набора при температуре (2-8) °С.

Таблица расхода реагентов

	Количество используемых стрипов											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Приготовление промывочного раствора												
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
Конъюгат, готовый к использованию												
Конъюгат, 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

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).

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

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 застежкой. 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 мин 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 тщательным перемешиванием (пипетирование не менее 4 раз).*

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

За 5 мин 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. В каждую лунку внести по 100 мкл раствора конъюгата в рабочем разведении или конъюгата, готового к использованию. Для внесения конъюгата использовать ванночку для реагентов и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

Стрипы заклеить липкой пленкой и инкубировать 30 мин при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$.

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 в каждую лунку 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 на 25 мин в защищенное от света место при температуре $(18-25)^\circ\text{C}$.

7.2.8. Остановить реакцию добавлением в лунки по 100 мкл стоп-реагента и через 2-3 минуты измерить оптическую плотность (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 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.

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

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

9.1. Результаты исследований учитывать только при соблюдении следующих условий:

– среднее значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом не более 0,20 ($\text{ОП}_{\text{срК}^-} \leq 0,20$).

– значение оптической плотности в лунке с положительным контрольным образцом не менее 0,60 ($\text{ОП}_{\text{К}^+} \geq 0,60$);

Вычислить критическое значение оптической плотности ($\text{ОП}_{\text{крит}}$) по формуле:

$$\text{ОП}_{\text{крит}} = \text{ОП}_{\text{срК}^-} + 0,2$$

где $ОП_{срK^-}$ – среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом.

Если $ОП K^-$ 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. Допускается 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, 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином, раствор для разведения сывороток, раствор для разведения конъюгата, раствор тетраметилбензидина и стоп-реагент после вскрытия флаконов хранить в плотно закрытых флаконах при температуре (2-8) °С в течение всего срока годности набора;
- при комплектовании набора концентратом конъюгата или конъюгатом, готовым к использованию, после вскрытия флаконов хранить в плотно закрытых флаконах 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 счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

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

630117, г. Новосибирск-117, а/я 492,

тел. (383) 252-51-62, 227-60-30; тел./факс (383) 252-51-81, 252-51-77.

E-mail: plkobtk@vector-best.ru

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 252-51-69.

Начальник отделения

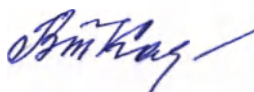
АО «Вектор-Бест»



Т.Г. Дворянчикова

Директор по производству

АО «Вектор-Бест»



В.К. Ткачев

Всего прошито, пронумеровано и
скреплено печатью 70 листов.
Директор по технологиям и качеству
АО "Вектор Тест"

" 04 " 20 22 г. Масяго А.В.

