

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ФБУН НИИ эпидемиологии

микробиологии имени Пастера

А.Б.Жебрун

2015 г.



## ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для выявления возбудителя хламидиоза  
иммунофлюоресцентным методом (ФлюХлами)

для диагностики *in vitro*

### 1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов для выявления возбудителя хламидиоза иммунофлюоресцентным методом (ФлюХлами) предназначен для выявления и идентификации прямым иммунофлюоресцентным методом (МФА) антигенов хламидий и хламидофил в инфицированных культурах клеток, соскобах слизистых урогенитального тракта и верхних дыхательных путей человека

### 2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

#### 2.1. ПРИНЦИП МЕТОДА

Принцип метода основан на иммунологической реакции взаимодействия антиген-антитело. Флюоресцирующий иммуноглобулин хламидийно-хламидофильный поливалентный (ФЛИГ) специфически соединяется с антигенами возбудителя. Комплекс антиген-антитело выявляется в цитоплазме пораженных хламидиями и (или) хламидофилами клеток при люминесцентной микроскопии в виде ретикулярных телец, а также их скоплений зеленого цвета. При отсутствии специфического антигена зеленое свечение отсутствует.

#### 2.2. СОСТАВ НАБОРА

В состав набора входит:

- флюоресцирующий иммуноглобулин хламидийно-хламидофильный поливалентный (ФЛИГ) - 10 флаконов;
- фосфатно-солевой буферный раствор (ФСБР) концентрат – 1 флакон, 15 мл;

Набор рассчитан на исследование 250 образцов.

### 3. ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Диагностические характеристики набора подтверждаются:

Диагностические характеристики набора подтверждаются:

- наличием яркого зеленого свечения в исследуемых образцах, содержащих антиген хламидий или хламидофил, не менее, чем на +++ (3 креста), на фоне тусклой желтовато-бурой или красноватой окраски цитоплазмы непораженных клеток;
- отсутствием зеленого свечения в исследуемых образцах, не содержащих антигенов хламидий и хламидофил.

#### 4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

Набор ФлюХлами предназначен только для *in vitro* диагностики. Входящие в состав набора компоненты безопасны, однако с исследуемыми биологическими образцами необходимо обращаться как с потенциально инфицированным материалом, строго выполняя требования СП 1.3.2322-08 и СанПин 2.1.7.2790-10.

#### 5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- камера влажная для инкубации;
- термостат на  $37 \pm 1^{\circ} \text{C}$ ;
- дозатор автоматический объемом 20 мкл;
- микроскоп люминесцентный для лабораторных исследований со светофильтрами ЖС-18, СС-15-4, ФС-1-1, окуляром  $\times 10$  и иммерсионным объективом  $\times 90$ ;
- вода дистиллированная;
- спирт этиловый 95 %;
- мерная посуда для приготовления растворов;
- вода водопроводная.

#### 6. ОТБОР ОБРАЗЦОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

Исследуемые образцы - соскобы слизистых урогенитального тракта и верхних дыхательных путей человека, обязательно содержащие эпителиальные клетки; препараты из инфицированных культур клеток, неинфицированная культура клеток (как отрицательный контроль). Стекла с мазками должны быть высушены на воздухе при температуре 18-25 °С и доставлены в лабораторию в этот же день. В лаборатории все препараты фиксировать 20-30 мин 95 % спиртом этиловым. При необходимости фиксированные препараты можно хранить в герметичной упаковке при температуре 18-25 °С не более 1 месяца.

#### 7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Приготовление рабочего раствора ФЛИГ.

Во флакон с ФЛИ добавить 0,5 мл воды дистиллированной при температуре 18-25 °С, растворить в течение 1-2 минут при перемешивании.

Регидратированный ФЛИГ может храниться при температуре не выше минус 20 °С в течение 1 года.

## 7.2. Приготовление рабочего ФСБР.

Для приготовления 500 мл рабочего раствора ФСБР к 15 мл концентрата ФСБР прибавить 485 мл воды дистиллированной. Перемешать.

## 7.3. Проведение анализа.

На фиксированные в соответствии с п.6 препараты нанести автоматическим дозатором 20 мкл рабочего раствора ФЛИГ (7.1.) и равномерно тонким слоем распределить по поверхности. Препараты поместить на 30 мин во влажную камеру при температуре 37 °С. Затем препараты промыть проточной водой и на 10 мин погрузить в рабочий ФСБР (7.2) при температуре 18-25 °С. Далее препараты снова промыть водопроводной водой и высушить при температуре 18-25 °С. Высушенные препараты просматривать с помощью люминесцентного микроскопа, используя систему светофильтров, сине-фиолетовую часть спектра («запирающий» - ЖС-18, возбуждающие – СС-15-4 и ФС-1-1), окуляр х10 и иммерсионный объектив х90.

## 8. УЧЕТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов проводить визуально при наличии в мазке не менее 100 эпителиальных клеток. При наличии меньшего количества клеток требуется повторное взятие биологического материала.

При учете результатов необходимо руководствоваться следующими положениями:

- антиген локализуется только в цитоплазме пораженных клеток. Он имеет вид гомогенной массы зеленого цвета, ядра пораженных клеток темно-бурые, антигена не содержат;
- интенсивность специфического зеленого свечения оценивать по четырехкрестовой шкале:
  - ++++ (4+) - интенсивное изумрудно-зеленое свечение,
  - +++ (3+) - яркое зеленое свечение,
  - ++ (2+) - достаточно отчетливое зеленое свечение,
  - + (1+) - тусклое зеленовато-серое свечение,
  - 0 - зеленое свечение отсутствует.

За положительный результат принимают наличие в исследуемых препаратах яркого зеленого свечения, не менее чем на 3+ не менее чем в 10 эпителиальных клетках.

За отрицательный – отсутствие в исследуемых препаратах зеленого свечения.

## 9. УТИЛИЗАЦИЯ

## 10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

Хранение набора должно производиться при температуре 2-8 °С в течение всего срока годности. Допускается кратковременное хранение набора при температуре до 25 °С не более 10 суток.

Срок годности реагента – 3 года.

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

По вопросам, касающимся качества набора ФлюХлами, следует обращаться в ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера по адресу:

2197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14. Тел/ факс (812) 233 44 62

Директор ФБУН НИИ эпидемиологии  
и микробиологии имени Пастера

А.Б.Жебрун

ФГБУ «СЗФМИЦ им. В.А.Алмазова»

Минздрава России

Прошито и пронумеровано 13

Дима уцагъ лист 06

Зам. Ген. Директора по НР

А.О.Конради

