

ВЕКТОР



Набор реагентов
для иммуноферментного
выявления видоспецифических
иммуноглобулинов класса М
к *Chlamydia trachomatis*

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

НАБОР РЕАГЕНТОВ

D-1966

ХламиБесм С. trachomatis – IgM

Набор реагентов «ХламиБест *C. trachomatis* – IgM» представляет собой набор, основным реагентом которого является очищенные рекомбинантные антигены *Chlamydia trachomatis*, иммобилизованные на поверхности лунок разборного полистиролового планшета.

Один набор рассчитан на проведение 96 анализов, включая контроли. Возможны 12 независимых постановок ИФА, при каждой из которых 3 лунки используют для постановки контролей.

Набор комплектуют всеми необходимыми реагентами, кроме дистиллированной воды.

Набор не содержит материалов, которые могут инфицировать персонал в процессе анализа.

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов предназначен для выявления видоспецифических иммуноглобулинов класса М (*IgM*) к антигенам *Chlamydia trachomatis* в сыворотке (*плазме*) крови человека и может быть использован в клинических и эпидемиологических исследованиях.

2. СОСТАВ НАБОРА

- планшет разборный с иммобилизованными рекомбинантными антигенами *C. trachomatis* – 1 шт.;
- положительный контрольный образец, инактивированный (K⁺) – 1 фл., 0,5 мл;
- отрицательный контрольный образец, инактивированный (K⁻) – 1 фл., 1 мл;
- конъюгат (*антитела к IgM человека, меченные пероксидазой хрена*) – 1 фл.;
- раствор для предварительного разведения (РПР) – 1 фл., 3 мл;
- раствор для разведения сывороток (*РС, жидкость жёлто-красного цвета*) – 2 фл. по 13 мл;
- раствор для разведения конъюгата (РК) – 1 фл., 13 мл;
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 1 фл., 28 мл;
- раствор тетраметилбензидаина (ТМБ) – 1 фл., 13 мл;
- стоп-реагент – 1 фл., 12 мл;
- плёнка для заклеивания планшета – 3 шт.;
- ванночка для реагентов – 2 шт.;
- наконечники для пипеток – 16 шт.;
- планшет для предварительного разведения – 1 шт.

3. СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

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 и МУ-287-113.

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

- Для приготовления растворов и проведения ИФА следует использовать чистую мерную посуду и автоматические пипетки с погрешностью измерения объёмов не более 5%.
- Желательно использовать свежееотобранные образцы сыворотки (*плазмы*) крови. Допускается использование образцов, хранившихся при (2-8)°С не более 5 суток, либо при минус (20±3)°С, если необходимо более длительное хранение.
- Сыворотки, содержащие взвешенные частицы, могут дать неправильный результат. Такие образцы перед использованием следует центрифугировать 10-15 мин при 3000 об/мин.

- Нельзя использовать проросшие, гемолизованные, гиперлипидные сыворотки или подвергавшиеся многократному замораживанию и оттаиванию.
- Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать при комнатной температуре (18-25)°С не менее 30 мин.
- Лиофилизированные компоненты должны быть восстановлены, как минимум, за 15 минут до их использования.
- 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 (2-8)°С.
- Раствор конъюгата в рабочем разведении готовить непосредственно перед использованием.
- **Раствор ТМБ готов для использования.** Необходимо исключить воздействие прямого света на раствор ТМБ.
- При промывке лунки (*стрипа, планшета*) заполнять полностью, не допуская переливания промывочного раствора через края лунок, и не касаясь лунок наконечником пипетки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек.
- 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 стрипов 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, раствор ТМБ, стоп-реагент*), которые взаимозаменяемы во всех наборах ЗАО «Вектор-Бест».
- Запрещается повторное использование планшета для предварительного разведения сывороток.
- При приготовлении растворов и проведении ИФА следует использовать одноразовые наконечники для дозаторов.
- Посуду (*ванночки*), используемую 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 промыть 50% раствором этилового спирта, а затем дистиллированной водой.

- Для дезинфекции посуды и материалов, контактирующих 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.
- Пипетки и рабочие поверхности обрабатывать только 70% раствором этилового спирта. Не использовать во время проведения ИФА перекись водорода, хлорамин и т.д.

3.1. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

3.1.1. Промывочный раствор

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

В соответствии с числом используемых стрипов отобрать необходимое количество ФСБ-Т×25 (*см. таблицу, стр. 11*) и развести его дистиллированной водой до указанного в таблице объёма.

Хранение: при (2-8)°С до 5 суток.

3.1.2. Растворы конъюгатов

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

Приготовить **концентрированный раствор конъюгата** путём растворения содержимого флакона с конъюгатом в 1 мл РПР (*при этом получается раствор насыщенного пурпурно-фиолетового цвета*).

Хранение: концентрированный раствор конъюгата – при (2-8)°С до 1 месяца.

Внимание! Раствор конъюгата в рабочем разведении готовить непосредственно перед использованием!

Раствор для разведения конъюгата (РК) тщательно взболтать.

В пластиковую ванночку отобрать необходимое количество концентрированного раствора конъюгата, добавить соответствующее количество РК (см. таблицу), тщательно перемешать пипетированием до получения равномерного окрашивания.

3.1.3. Раствор ТМБ

Внимание! Раствор ТМБ готов к применению.

Необходимо исключить воздействие прямого света на раствор 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: при (2-8)°С в течение всего срока годности набора.

Таблица расхода реагентов

	Количество используемых стрипов											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Промывочный раствор											
ФСБ-Тх25, 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
	Раствор конъюгата в рабочем разведении											
Конъюгат (концентрат), мкл	α*	2хα	3хα	4хα	5хα	6хα	7хα	8хα	9хα	10хα	11хα	12хα
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

* α = ▲▲▲ мкл

3.2. ПРОВЕДЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

3.2.1. Подготовить необходимое количество стрипов к работе. 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 (2-8)°С до 1 месяца.

Приготовить промывочный раствор (п. 3.1.1) и концентрированный раствор конъюгата (п. 3.1.2).

Перед постановкой ИФА лунки стрипов 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 перевёрнутыми стрипами по сложенной в несколько слоев фильтровальной бумаге. *Не допускать высыхания лунок стрипов между отдельными операциями при постановке реакции.*

3.2.2. Непосредственно перед использованием испытуемые сыворотки (плазму) развести в 10 раз РС во вспомогательном ряду пробирок или лунках чистого микротитровального планшета (**10 мкл сыворотки + 90 мкл РС**).

3.2.3. Во все лунки стрипов внести по **90 мкл РС**, в любые 2 лунки внести по **10 мкл К⁻**, в 1 лунку – **10 мкл К⁺**.

Во все остальные лунки внести по **10 мкл предварительно разведённых сывороток**, получая, таким образом, разведение 1:100. *Внесение сывороток должно сопровождаться тщательным перемешиванием (пипетирование не менее 4 раз).*

Лунки заклеить клейкой плёнкой и инкубировать при 37°С **30 мин**.

За 5 мин до окончания инкубации приготовить раствор конъюгата в рабочем разведении (п. 3.1.2).

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

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

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

Внимание! Для внесения раствора конъюгата использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

Лунки заклеить клейкой плёнкой и инкубировать при 37°C **30 мин.**

3.2.6. По окончании инкубации содержимое лунок собрать в сосуд с дезинфицирующим раствором, промыть лунки стрипов 5 раз промыточным раствором и удалить влагу, как описано выше.

3.2.7. Во все лунки внести по **100 мкл раствора ТМБ**.

Внимание! Для внесения раствора ТМБ использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

Стрипы поместить в защищённое от света место при (18-25)°C на **25 мин.**

3.2.8. Реакцию остановить добавлением во все лунки по **100 мкл стоп-реагента** и немедленно измерить оптическую плотность (ОП).

Внимание! Следует избегать попадания стоп-реагента (0,5 М H₂SO₄) на одежду и открытые участки тела. При попадании – промыть большим количеством воды.

4. РЕГИСТРАЦИЯ И ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты ИФА регистрировать с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – в диапазоне 620-650 нм. Допустима регистрация результатов только с фильтром 450 нм. Выведение спектрофотометра на нулевой уровень («бланк») осуществлять по воздуху.

Результаты исследований учитывать только при соблюдении следующих условий:

– среднее значение ОП в лунках с отрицательным контрольным образцом (ОП_{ср} К⁻) не более 0,25;

– значение ОП в лунке с положительным контрольным образцом (ОП_{ср} К⁺) не менее 0,6.

По результатам ИФА рассчитать ОП критическую (ОП_{крит}) по формуле:

$$\text{ОП}_{\text{крит}} = \text{ОП}_{\text{ср}} \text{К}^- + 0,25.$$

Если ОП К⁻ имеет отрицательное значение, при расчёте считать её равной нулю.

4.1. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Оптическая плотность сыворотки	Результат	Титр IgM
от 0 до ($OP_{крит} - 0,05$)	отрицательный	–
от ($OP_{крит} - 0,05$) до ($OP_{крит} + 0,05$)	сомнительный	–
от ($OP_{крит} + 0,05$) до $2 \times OP_{крит}$	слабоположительный	1:100
от $2 \times OP_{крит}$ до $3 \times OP_{крит}$	положительный	1:200
от $3 \times OP_{крит}$ до $4 \times OP_{крит}$	сильноположительный	1:400
от $4 \times OP_{крит}$ до $5 \times OP_{крит}$	сильноположительный	1:800
от $5 \times OP_{крит}$ до $6 \times OP_{крит}$	сильноположительный	1:1600
от $6 \times OP_{крит}$ до $7 \times OP_{крит}$	сильноположительный	1:3200

При динамическом наблюдении пациента с целью получения результатов, адекватно отражающих изменение концентрации маркера в крови, необходимо использовать наборы реагентов одного наименования (одного предприятия-изготовителя).

Рекомендуем повторное исследование сомнительных сывороток. Для мониторинга им-

мунного профиля пациента сравнивают образцы сыворотки в острой и конвалесцентной стадиях заболевания.

Простой серологический тест не может быть использован для постановки диагноза. Все клинические и лабораторные данные должны быть рассмотрены в совокупности.

Проросшие и гиперлипидные сыворотки могут давать ошибочные результаты.

5. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Набор хранить и транспортировать при (2-8)°С. Допускается транспортирование при температуре до 25°С не более 10 суток.

Не допускать замораживания!

Срок годности набора – 9 месяцев со дня выпуска.

По вопросам, касающимся качества набора, обращаться в

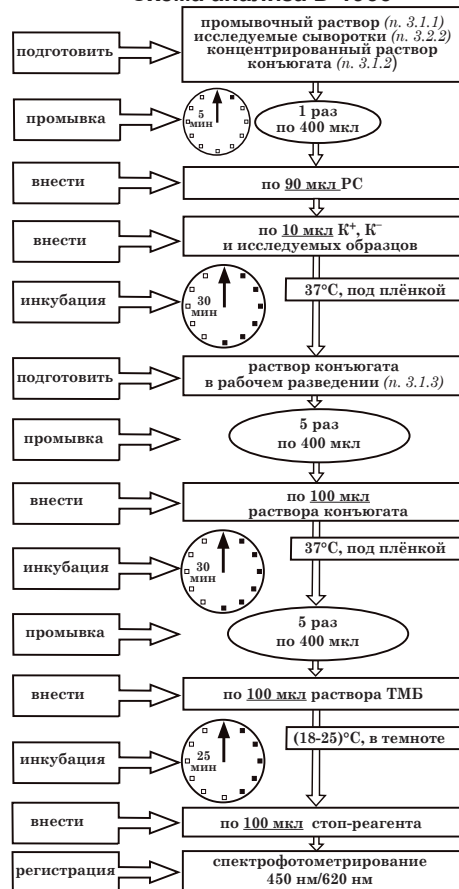
ЗАО «Вектор-Бест» по адресу:

630128, г. Новосибирск-128, а/я 102,
тел.: (383) 332-92-49, 227-60-30;
тел./факс: (383) 332-94-47, 332-94-44;
E-mail: plkobtk@vector-best.ru

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

05.10.10

Схема анализа D-1966



**ЗАКРЫТОЕ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
«ВЕКТОР-БЕСТ»**

Федеральная лицензия № 99-04-000086
на производство, хранение и реализацию
лекарственных средств

**КРУПНЕЙШИЙ В РОССИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЬ
ИММУНОФЕРМЕНТНЫХ
ДИАГНОСТИКУМОВ**

Вирусные гепатиты А, В, С, D
Инфекции, передаваемые
половым путём
ВИЧ-инфекция
TORCH-инфекции
Клещевой энцефалит
Паразитарные болезни
Диагностика беременности
Лабораторное оборудование

***Стабильное качество
и точный результат
для Вашей лаборатории!***

Наш адрес: 630117, Новосибирск-117, а/я 492

Тел.: (383) 332-37-58, 332-37-10, 332-36-34,
332-67-49, 332-67-52

Тел./факс: (383) 227-73-60 (многоканальный)

E-mail: vbmarket@online.nsk.su

Internet: www.vector-best.ru