

ВЕКТОР



Набор реагентов  
для иммуноферментного  
выявления антигена  
*Chlamydia trachomatis*

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

---

---

**ВектоХлами – антиген**

НАБОР РЕАГЕНТОВ

**D-1960**

**«ВектоХлами – антиген»** представляет собой набор реагентов для выявления возбудителя хламидиоза *Chlamydia trachomatis* методом иммуноферментного анализа (ИФА).

Набор комплектуется всеми необходимыми для проведения ИФА реагентами. Один набор рассчитан на проведение 96 анализов, включая контрольные образцы. Для исследования небольшой партии проб возможны 12 независимых постановок ИФА по 8 анализов каждая, включая контрольные образцы.

### **1. НАЗНАЧЕНИЕ**

Набор реагентов предназначен для выявления возбудителя хламидиоза *Chlamydia trachomatis* в соскобах со слизистых человека (уретры и цервикального канала), в моче, слезной жидкости и может быть использован для подтверждения диагноза «хламидиоз», поставленного на основе обнаружения специфических антител против хламидий в сыворотке крови человека.

## 2. СОСТАВ НАБОРА

- планшет разборный с иммобилизованными моноклональными антителами против хламидий – 1 шт.;
- положительный контрольный образец, инактивированный ( $K^+$ , содержит хламидийный антиген; жидкость красного цвета) – 1 фл., 1,5 мл;
- отрицательный контрольный образец, инактивированный ( $K^-$ , не содержит хламидийный антиген; бесцветная или бледно-жёлтая жидкость) – 1 фл., 3 мл;
- конъюгат (антитела к IgG человека, меченные пероксидазой хрена; жидкость синего цвета) – 1 фл., 1,5 мл;
- раствор для разведения исследуемых образцов (РРО) – 3 фл. по 13 мл;
- раствор для разведения конъюгата (РРК) – 1 фл., 13 мл;
- индикатор (содержит специфические IgG человека к хламидийному антигену, жидкость красного цвета) – 1 фл., 13 мл;
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 2 фл. по 28 мл;
- раствор тетраметилбензидаина (ТМБ) – 1 фл., 13 мл;
- стоп-реагент – 1 фл., 12 мл;
- плёнка для заклеивания планшета – 3 шт.;
- пластиковая ёмкость – 2 шт.;
- одноразовые наконечники – 16 шт.

## 3. СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Забор материала для обследования на наличие хламидий:

- Соскоб производят специальными приспособлениями (*ложка Фолькмана и т.п.*) со слизистых, мест обитания возбудителя, по возможности без примесей крови. Соскоб переносят в предварительно приготовленный флакон, содержащий **0,3 мл РРО**. При хорошо выполненном заборе материала жидкость во флаконе становится слегка мутноватой.
- У мужчин достаточно информативным является также исследование осадка первой порции утренней мочи: мочу (*первая утренняя порция*) объёмом до 10 мл центрифугируют при 5000 об/мин в течение 10 мин, надосадочную жидкость аккуратно отбирают пипеткой, а осадок ресуспендируют в объёме 0,5 мл и используют для анализа.
- Свежие образцы могут храниться при (2-8)°C в течение одной недели при условии отсутствия микробной контаминации. Образцы могут подвергаться замораживанию/оттаиванию только однократно, т.к. повторное замораживание/оттаивание приводит к неправильным результатам. После размораживания образцы тщательно перемешать. Предпочтительно,

чтобы образцы хранились замороженными при температуре минус 20°C или ниже.

#### 4. СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

При работе с исследуемыми 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%.
- Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать не менее 30 мин при комнатной температуре (18-25)°С.
- 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.
- 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».

- 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.

## 5. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

### 5.1.1. Промывочный раствор

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

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

Хранение: при (2-8)°С до 5 суток.

### 5.1.2. Раствор конъюгата

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

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

Раствор для разведения конъюгата (**РРК**) тщательно взболтать.

В пластиковую ванночку отобрать необходимое количество конъюгата, добавить соответствующее количество **РРК** (*см. таблицу*), тщательно перемешать пипетированием.

### 5.1.3. Раствор ТМБ

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

Рекомендуем выделить наконечники для пипеток, которые использовать только для работы с 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
	<b>Промывочный раствор</b>											
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
	<b>Раствор конъюгата в рабочем разведении</b>											
Конъюгат, 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
РРК, 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
	<b>Раствор ТМБ</b>											
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

## 5.2. ПРОВЕДЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

5.2.1. 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 застежкой. Упакованные таким образом стрипы хранить при (2-8)°С до 1 месяца.

Для нанесения контрольных образцов рекомендуется следующая схема:

при использовании 1 стрипа – 1 лунка К<sup>+</sup> и 2 – К<sup>-</sup>  
2 стрипов – 2 лунки К<sup>+</sup> и 2 – К<sup>-</sup>  
3 и более – 2 лунки К<sup>+</sup> и 3 – К<sup>-</sup>.

Контрольные образцы К<sup>+</sup> и К<sup>-</sup> внести по **100 мкл** в лунки стрипа согласно схеме.

5.2.2. В любую другую лунку внести **100 мкл РРО**. Эта лунка будет являться контролем поглощения без конъюгата (*фон СБР*). Во все остальные лунки внести по **100 мкл** исследуемых образцов. При исследовании мочи и слезной жидкости в лунки внести по **50 мкл РРО** и по **50 мкл** исследуемых образцов, перемешать пипетированием.

Лунки заклеить плёнкой и инкубировать 2 часа при 37°С.

5.2.3. По окончании инкубации содержимое лунок слить в сосуд с дезинфицирующим раствором, промыть лунки стрипов 5 раз промы-

вочным 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.

5.2.4. В каждую лунку стрипов внести по **100 мкл** индикатора. Лунки заклеить плёнкой и инкубировать 40 мин при 37°С.

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

5.2.5. Во все лунки, кроме лунки контроля поглощения без конъюгата, внести по **100 мкл** раствора конъюгата (*п. 5.1.2*). В эту лунку внести **100 мкл РРО**.

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

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

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

5.2.6. 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 на 25 мин в защищённое от света место при (18-25)°С.

5.2.7. Реакцию остановить добавлением во все лунки по **100 мкл стоп-реагента** и через 2-3 мин измерить оптическую плотность (ОП).

**Внимание!** Следует избегать попадания стоп-реагента (0,5 М H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) на одежду и открытые участки тела. При попадании – промыть большим количеством воды.

## 6. 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.

Качество набора считать удовлетворительным, если:

- 1) значение оптической плотности контроля поглощения без конъюгата (ОП<sub>фон</sub>) не превышает 0,1 о.е.;
- 2) среднее значение оптической плотности отрицательного контрольного образца (ОП<sub>ср</sub> К<sup>-</sup>) не более 0,25 о.е.;
- 3) среднее значение оптической плотности положительного контрольного образца не менее чем в 3 раза превышает ОП<sub>ср</sub> К<sup>-</sup>.

Положительными считать пробы с оптической плотностью равной или превышающей значение ОП<sub>крит</sub>, которое вычислить по формуле:

$$\text{ОП}_{\text{крит}} = \text{ОП}_{\text{ср}} \text{К}^- + 0,3.$$

Если ОП К<sup>-</sup> имеет отрицательное значение, при расчёте считать её равной нулю.

## 7. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

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

Не допускать замораживания!

Срок годности набора – 6 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;

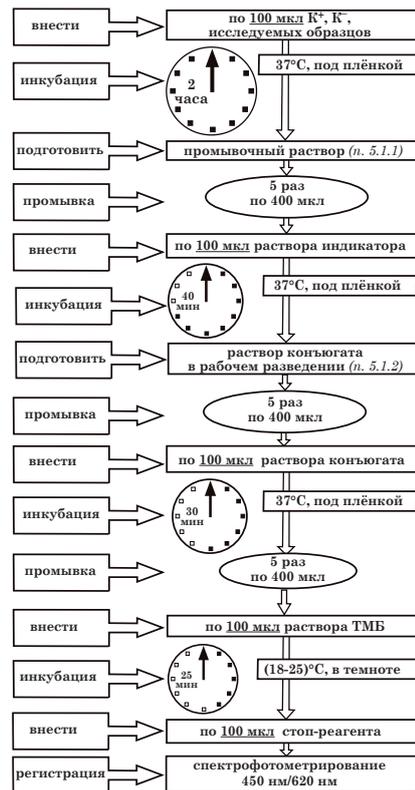
тел./факс: (383) 332-94-47, 332-94-44;

E-mail: [plkobtk@vector-best.ru](mailto:plkobtk@vector-best.ru)

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

11.03.10

## Схема анализа D-1960



**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 путем  
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](mailto:vbmarket@online.nsk.su)

Internet: [www.vector-best.ru](http://www.vector-best.ru)