



АНТИТІЛА IGM ДО CHLAMYDIA TRACHOMATIS

Кат. №: **LUA-EIA.СТМ.96**
Кількість тестів: **96**

Дата випуску інструкції: **03-2020**
Версія: **3**

Імуноферментний аналіз (ІФА) для якісного визначення антитіл IgM до Chlamydia trachomatis у плазмі та сироватці людини

- тільки для діагностичного використання «in vitro» -

А. ПРИЗНАЧЕННЯ ВИКОРИСТАННЯ

Імуноферментний аналіз (ІФА) для визначення антитіл класу IgM до Chlamydia Trachomatis у плазмі та сироватці людини. Тільки для діагностики «in vitro».

В. ВСТУП

Chlamydia trachomatis - бактеріоподібний облигатний внутрішньоклітинний організм, який налічує щонайменше 15 визнаних серотипів. C.trachomatis - один з трьох різних видів роду Chlamydia (trachomatis, psittaci та pneumoniae).

Інфекція C.trachomatis у дорослих є причиною більшості статевих уретритів у чоловіків, слизово-гнійного цервіциту у жінок, запальних захворювань таза, венозної лімфогранульоми, більшості гострих уретральних синдромів, очних інфекцій, проктоколіту та епідидиміту. У немовлят організм відповідає за пневмонію та кон'юнктивіт.

Інфекції, спричинені C.trachomatis, стимулюють пацієнта виробляти сильну імунологічну відповідь як на IgG, що триває тривалий час, так і на IgA, чия присутність більше корелює з триваючою інфекцією або нещодавньою подією.

Визначення видоспецифічних IgG, IgA та IgM є корисним інструментом для клініциста для ідентифікації збудника інфекції та призначення правильної терапії.

С. ПРИНЦИП ТЕСТУ

Мікропланшети покриті видоспецифічним поліпептидом, отриманим з основного зовнішнього мембранного антигену Chlamydia trachomatis.

Під час 1-ї інкубації твердої фази обробляють розведеними зразками, а анти-C.trachomatis IgM захоплюються, якщо вони присутні, твердою фазою.

Після вимивання всіх інших компонентів зразка, у 2-й інкубації зв'язані анти-C.trachomatis IgM виявляються шляхом додавання антитіл анти-IgM, мічених пероксидазою (HRP).

Фермент, захоплений на твердій фазі, діє на суміш субстрат/хромоген, генерує оптичний сигнал, пропорційний кількості анти-C.trachomatis IgM, присутніх у зразку.

Тому наявність IgM у зразку можна визначити за допомогою значення cut-off, здатного розрізнити негативні та позитивні зразки.

Нейтралізація анти-C.trachomatis IgG, проведена безпосередньо в лунці, проводиться в аналізі з метою блокування інтерференцій, обумовлених цим класом антитіл, при визначенні IgM.

Д. КОМПОНЕНТИ

Кожен набір містить достатньо реагентів для проведення 96 тестів.

1. Мікропланшет MICROPLATE

12 смужок по 8 мікролунок, покритих СТ-специфічними імунодомінуючими природними антигенами у присутності бичачих білків. Пластини запечатані в пакет з осушувачем.

Дайте мікропланшету досягти кімнатної температури перед відкриттям; закрийте невикористані смужки в пакеті з осушувачем і зберігайте при температурі 4 °C (°C).

2. Негативний контроль CONTROL -

1x4.0 мл (мл)/флакони. Готовий до використання контроль. Містить людські антитіла IgM, негативні до СТ, 2% казеїну, 10 мМ (mM) Na-цитратного буфера pH 6.0 +/- 0.1, 0.1% Твін 20, 0.09% азиду натрію та 0.045% ProClin 300 як консерванти.

Негативний Контроль кодується блідо-жовтим кольором.

3. Позитивний контроль CONTROL +

1x4.0 мл (мл)/флакони. Готовий до використання контроль. Містить антитіла людського IgM високого титру, позитивні до СТ, 2% казеїну, 10 мМ (mM) Na-цитратного буфера pH 6.0 +/- 0.1, 0.1% Твін 20, 0.09% азиду натрію та 0.045% ProClin 300 як консерванти. Позитивний контроль кодується зелено-жовтим кольором.

4. Концентрат Промивного буфера WASHBUF 20X

1x60 мл (мл)/пляшка. 20-кратний концентрований розчин. Після розведення промивний розчин містить 10 мМ (mM) фосфатного буфера pH 7.0 +/- 0.2, 0.05% Твін 20 та 0.045% ProClin 300.

5. Ферментний кон'югат CONJ

1x16 мл (мл)/флакони. Готовий до використання та кодований червоним кольором. Містить кон'юговані з Пероксидазою хрому козячі поліклональні антитіла до людського IgM, 5% BSA, 10 мМ (mM) Трис-буфер pH 6.8 +/- 0.1, 0.045% ProClin 300 та 0.02 мг/мл (mg/ml) сульфату гентаміцину як консерванти.

6. Хромоген/Субстрат SUBS TMB

1x16 мл (мл)/флакони. Містить 50 мМ (mM) цитратно-фосфатного буфера, pH 3.5-3.8, 0.03% тетра-метил-бензидину (TMB), 0.02% перекису водню (H₂O₂) та 4% диметилсульфоксиду.

Примітка: Зберігати захищеним від світла, чутливий до сильного освітлення.

7. Сірчана кислота H₂SO₄ 0.3 M

1x15 мл (мл)/пляшка. Містить 0.3 M (M) розчину H₂SO₄. Увага: Подразнююча речовина (H315; H319; P280; P302+P352; P332+P313; P305+P351+P338; P337+P313; P362+P363).

8. Розчинник для зразків DILSPE

2x60 мл (мл)/флакони. Містить 2% казеїну, 10 мМ (mM) Na-цитратного буфера pH 6.0 +/- 0.1, 0.1% Твін 20, 0.09% азиду натрію та 0.045% ProClin 300 як консерванти. Використовується для розведення зразка.

9. Нейтралізуючий реагент: SOLN NEUT

1x8 мл (мл)/флакони. Він містить анти-IgG кози, 2% казеїну, 10 мМ (mM) Na-цитратний буфер pH 6.0 +/- 0.1, 0.09% Na-азид і 0.045% ProClin 300 як консерванти.

10. Ущільнювальна фольга для планшета x 2 шт.

11. Вкладиш інструкції x 1 шт.

Е. МАТЕРІАЛИ, НЕОБХІДНІ, АЛЕ НЕ ПОСТАЧАЮТЬСЯ З НАБОРОМ

- Калібровані мікропіпетки (1000 мкл (μl), 100 мкл (μl) і 10 мкл (μl)) та одноразові пластикові наконечники.
- Вода класу ЕІА (бідистильована або деіонізована, оброблена деревним вугіллям, для видалення окислювальних хімікатів, що використовуються як дезінфікуючі засоби).
- Таймер з діапазоном 60 хвилин або вище.
- Абсорбуючі паперові серветки.
- Калібрований мікропланшетний термостатичний інкубатор ІФА (сухий або вологий), здатний забезпечити температуру +37 °C (°C) (допуск +/- 0.5 °C (°C)).
- Калібрований мікропланшетний зчитувач ІФА з фільтрами 450 нм (nm) (зчитування) та 620-630 нм (nm) (бланкування).
- Калібрований мікропланшетний вошер ІФА.
- Вортекс або подібні змішувальні інструменти.

Ф. ПОПЕРЕДЖЕННЯ ТА ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

- Набором повинен користуватися лише кваліфікований та належним чином підготовлений технічний персонал під наглядом лікаря, відповідального за лабораторію.
- Весь персонал, який бере участь у проведенні аналізу, повинен носити захисний лабораторний одяг, рукавички без тальку та окуляри. Слід уникати використання будь-яких гострих (голки) або ріжучих (лез) пристроїв. Весь залучений персонал повинен бути навчений процедурам біобезпеки, як рекомендовано Центром контролю захворювань, Атланта, США, а також повідомляється в публікації Національного інституту охорони здоров'я: «Біобезпека в мікробіологічних та біомедичних лабораторіях», вид. 1984 рік.
- Весь персонал, який займається обробкою зразків, повинен бути вакцинований проти ВГВ та ВГА, для яких вакцини доступні, безпечні та ефективні.

- Лабораторне середовище слід контролювати таким чином, щоб уникнути забруднень, таких як пил або мікроорганізми, що утворюються в повітрі, при відкритті флаконів з наборів та мікропланшетів та при проведенні тесту. Не піддавайте Хромоген (ТМБ) дії сильного світла та уникайте вібрації поверхні стенду, де проводиться випробування.
- Отримавши набір, зберігайте його при температурі 2...8 °C (°C) у холодильнику з контролем температури або в холодній кімнаті.
- Не обмінюйте компоненти між різними партіями наборів. Рекоменується, щоб компоненти між двома наборами однієї партії не мінялися місцями.
- Переконайтеся, що реагенти прозорі та не містять видимих важких частинок або скупчень. Якщо ні, порекомендуйте керівнику лабораторії розпочати необхідні процедури із заміни набору.
- Уникайте перехресного забруднення між зразками сироватки/плазми, використовуючи одноразові наконечники та змінюючи їх після кожного зразка. Не використовуйте одноразові наконечники повторно.
- Уникайте перехресного забруднення між реагентами, використовуючи одноразові наконечники та змінюючи їх між використанням кожного з них. Не використовуйте одноразові наконечники повторно.
- Не використовуйте набір після закінчення терміну придатності, зазначеного на зовнішньому контейнері та внутрішніх етикетках (флаконах). Дослідження, проведене на відкритому наборі, не вказує на будь-яку істотну втрату активності до шести використань пристрою та до 3 місяців.
- Розглядайте всі зразки як потенційно інфекційні. З усіма зразками сироватки людини слід поводитися на рівні 2 біобезпеки, як це рекомендує Центр контролю за захворюваннями, Атланта, США, відповідно до публікацій Інституту охорони здоров'я: «Біобезпека в мікробіологічних та біомедичних лабораторіях», вид. 1984 рік.
- Використовувати одноразовий пластиковий посуд рекомендується для приготування рідких компонентів або для перенесення компонентів на автоматизовані робочі місця, щоб уникнути перехресного забруднення.
- Відходи, що утворилися під час використання набору, слід утилізувати відповідно до національних директив та законів, що стосуються лабораторних відходів хімічних та біологічних речовин. Зокрема, рідкі відходи, що утворюються внаслідок процедури промивання, залишків контролів та зразків, повинні бути оброблені як потенційно інфекційний матеріал та інактивовані перед утилізацією. Запропоновані процедури інактивації - це обробка 10% кінцевою концентрацією побутового відбілювача протягом 16-18 годин або інактивація теплом автоклавом при 121 °C (°C) протягом 20 хв.
- Випадкові розливи зразків та під час роботи повинні бути адсорбовані паперовими рушниками, змоченими побутовим відбілювачем, а потім водою. Потім рушники слід утилізувати у належні контейнери, призначені для лабораторних/лікарняних відходів.
- Сірчана кислота є подразником. У разі розливу промити поверхню великою кількістю води.
- Інші відходи, що утворюються внаслідок використання набору (приклад: наконечники, що використовуються для зразків та контролів, використані мікропланшети), слід обробляти як потенційно інфекційні та утилізувати відповідно до національних директив та законів, що стосуються лабораторних відходів.

G. ЗРАЗКИ: ПІДГОТОВКА І РЕКОМЕНДАЦІЇ

- Кров забирається асептично шляхом венепункції, а плазма або сироватка готуються із застосуванням стандартних методик підготовки зразків для клінічного лабораторного аналізу. Впливу на приготування зразка з цитратом, ЕДТА та гепарином не спостерігалось.
- Зразки повинні бути чітко ідентифіковані кодами або назвами, щоб уникнути неправильного тлумачення результатів. Настійно рекомендується маркування зі штрих-кодом та електронне зчитування.
- Гемолізовані («червоні») та помітно гіперліпемічні («молочні») зразки слід відкинути, оскільки вони можуть призвести до хибних результатів. Зразки, що містять залишки фібрину або важких частинок чи мікробні нитки та тіла, слід відкидати, оскільки вони можуть призвести до хибних результатів.
- Сироватку та плазму можна зберігати при +2-8 °C (°C) у пробірках для первинного збору протягом п'яти днів після збору. Не заморожуйте первинні пробірки для збору. Для більш тривалого періоду зберігання зразки сироватки та плазми, обережно виб'ягаючи з первинної пробірки, можна зберігати замороженими при -20 °C (°C) мінімум 12 місяців. Будь-які заморожені зразки не слід

заморожувати/розморозувати більше одного разу, оскільки це може утворити частинки, які можуть вплинути на результат тесту.

- Якщо присутні частинки, центрифугуйте при 2000 об./хв. (rpm) протягом 20 хв. або краще, фільтруйте за допомогою фільтрів 0.2-0.8µ для очищення зразка перед тестуванням.

H. ПІДГОТОВКА КОМПОНЕНТІВ І ПОПЕРЕДЖЕННЯ

Мікропланшет:

Перед відкриттям контейнера дайте мікропланшету досягти кімнатної температури (близько 1 години). Переконайтеся, що осушувач не набув темно-зеленого забарвлення, що вказує на дефект виробництва.

У цьому випадку зателефонуйте до служби підтримки клієнтів ЛАБЮЕІ. Невикористані смужки потрібно покласти назад в алюмінієвий пакет, разом з осушувачем, щільно закрити і зберігати при +2-8 °C (°C). При першому відкритті смужки, що залишились, є стабільними, поки показник вологості всередині мішка з осушувачем не перетвориться з жовтого на зелений.

Негативний контроль:

Готовий до використання компонент. Перед використанням ретельно перемішайте на вортексі.

Позитивний контроль:

Готовий до використання компонент. Перед використанням ретельно перемішайте на вортексі.

Концентрат Промивного буфера:

Перед використанням весь вміст 20x концентрованого розчину слід розбавити водою класу ЕІА і обережно перемішати обертанням з денця на кришку. Під час приготування уникайте піноутворення, оскільки наявність бульбашок може спричинити погану ефективність промивання.

Примітка: Після розведення промивний розчин стабільний протягом 1 тижня при +2..8 °C (°C).

Ферментний кон'югат:

Готовий до використання. Перед використанням добре перемішайте на вортексі.

Будьте обережні, щоб не забруднити рідину окислювальними хімікатами, повітряним пилом або мікробами.

Якщо цей компонент потрібно переносити, використовуйте лише пластикові, можливо, стерильні одноразові контейнери.

Хромоген/Субстрат:

Готовий до використання. Перед використанням добре перемішайте на вортексі.

Будьте обережні, щоб не забруднити рідину окислювальними хімікатами, повітряним пилом або мікробами.

Не піддавайте сильному освітленню, окислювачам та контакту з металевими поверхнями.

Якщо цей компонент доводиться переносити, використовуйте лише пластикову, доступну стерильну одноразову тару.

Розчинник для зразків:

Готовий до використання. Змішайте на вортексі перед використанням.

Нейтралізуючий реагент:

Готовий до використання компонент. Перед використанням ретельно перемішайте на вортексі.

Сірчана кислота:

Готова до використання. Перед використанням добре перемішайте на вортексі.

Увага: Подразнююча речовина (H315; H319; P280; P302+P352; P332+P313; P305+P351+P338; P337+P313; P362+P363).

Легенда:

Попереджувальні **H-фрази:**

H315 - Викликає подразнення шкіри.

H319 - Викликає серйозне подразнення очей.

Попереджувальні **P-фрази:**

P280 - Одягати захисні рукавички/захисний одяг/захист очей/захист обличчя.

P302+P352 - ПРИ ПОПАДАННІ НА ШКІРУ: Змити великою кількістю мила та води.

P332+P313 - Якщо виникає подразнення шкіри: зверніться за медичною консультацією/допомогою.

P305+P351+P338 - ПРИ ПОПАДАННІ В ОЧІ: Обережно промивати водою протягом декількох хвилин. Зніміть контактні лінзи, якщо вони є і це легко зробити. Продовжуйте промивання.

P337+P313 - Якщо подразнення очей не зникає: зверніться за медичною консультацією/допомогою.

P362+P363 - Зніміть забруднений одяг і виперіть його перед повторним використанням.

I. ПРИЛАДИ ТА ІНСТРУМЕНТИ, ЩО ВИКОРИСТОВУЮТЬСЯ В КОМБІНАЦІЇ З НАБОРОМ

1. Мікропіпетки повинні бути відкалібровані, щоб забезпечити правильний об'єм, необхідний для аналізу, а також проводити регулярне знезараження (побутовий спирт, 10% розчин відбілювача, дезінфікуючі засоби медичного призначення) тих частин, які можуть випадково потрапити на зразок. Їх також слід регулярно обслуговувати, щоб показати точність 1% та правдивість +/- 2%. Дезактивацію розливів або залишків компонентів набору також слід проводити регулярно.
2. Інкубатор ІФА слід встановити на +37 °C (°C) (допуск +/- 0.5 °C (°C)) і регулярно перевіряти, щоб підтримувати правильну температуру. Для інкубацій підходять як сухі інкубатори, так і водяні ванни, за умови, що прилад підтверджений для інкубації тестів ІФА.
3. **Вошер ІФА** є надзвичайно важливим для загальних показників аналізу. Вошер потрібно заздалегідь ретельно оцінити, перевірити, чи вноситься потрібний об'єм видачі, та регулярно подавати на технічне обслуговування відповідно до інструкцій виробника щодо використання. Зокрема, після закінчення щоденного навантаження вошер слід ретельно очищати від солей деіонізованою водою. Перед використанням вошер слід праймувати розведеним Промивним Розчином. Прилад слід щотижня подавати на дезактивацію згідно з його керівництвом (пропонується дезактивація 0.1 M (M) NaOH). 5 циклів промивання (аспірація + дозування 350 мкл (μl)/лунку промивного розчину + 20 секунд замочування = 1 цикл) достатньо для забезпечення аналізу із заявленими характеристиками. Якщо замочування неможливо, додайте ще один цикл промивання. Неправильний цикл промивання або голки, забиті сіллю, є основною причиною помилково позитивних реакцій.
4. Час інкубації має допуск ± 5%.
5. Зчитувач мікропланшетів ІФА повинен бути обладнаний фільтром зчитування 450 nm (nm) та другим фільтром 620-630 nm (nm), обов'язковим для бланкування. Його стандартні характеристики повинні бути (a) пропускна здатність ≤ 10 nm (nm); (b) діапазон поглинання від 0 до ≥ 2.0; (c) лінійність до ≥ 2.0; (d) повторюваність ≥ 1%. Бланкування проводиться на лунці, визначеній у розділі «Процедура аналізу». Оптичну систему зчитувача потрібно регулярно калібрувати, щоб забезпечити правильне вимірювання оптичної щільності. Її слід регулярно підтримувати відповідно до інструкцій виробника.
6. При використанні автоматизованої робочої станції ІФА всі критичні кроки (внесення, інкубація, промивання, зчитування, обробка даних) повинні бути ретельно встановлені, відкалібровані, контрольовані та регулярно обслуговуватися, для того, щоб відповідати значенням, зазначеним у розділах «Валідація тесту» та «Робочі характеристики аналізу». Протокол аналізу повинен бути встановлений в операційній системі пристрою та перевірений як для вошера, так і для зчитувача. Крім того, частина станції для подачі рідини (дозування та промивання) повинна бути перевірена та правильно встановлена. Особливу увагу потрібно приділити, щоб уникнути перенесення голками, що використовуються для дозування та промивання. Це потрібно вивчити та контролювати, щоб мінімізувати можливість забруднення сусідніх лунок. Використання автоматизованих робочих станцій ІФА рекомендується, коли кількість зразків, що перевіряються, перевищує 20-30 одиниць за пробіг.
7. Служба підтримки клієнтів ЛАБЮЕІ пропонує підтримку користувачеві в налаштуванні та перевірці приладів, що використовуються в поєднанні з набором, з метою забезпечення відповідності описаним вимогам. Також надається підтримка для встановлення нових інструментів, які будуть використовуватися з набором.

L. КОНТРОЛЬ ТА МАНІПУЛЯЦІЇ ДО ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

1. Перевірте термін придатності набору, надрукований на зовнішній етикетці (коробка з набором). Не використовуйте, якщо термін придатності минув.
2. Переконайтеся, що рідкі компоненти не забруднені частинками або скупченнями, видимими неозброєним оком.

3. Переконайтеся, що Хромоген (ТМБ) безбарвний або блідо-блакитний, аспіруючи невеликий його об'єм стерильною прозорою пластиковою піпеткою.
4. Переконайтеся, що при транспортуванні не сталося поломок і не пролито рідини всередині коробки. Переконайтеся, що алюмінієвий мішок, що містить мікропланшет, не пробитий і не пошкоджений.
5. Розведіть весь вміст 20X концентрату Промивного Розчину, як описано вище.
6. Дайте всім іншим компонентам досягти кімнатної температури (близько 1 години), а потім обережно перемішайте на вортексі всі рідкі компоненти.
7. Встановіть інкубатор ІФА на +37 °C (°C) і підготуйте вошер ІФА, праймуючи його розведеним промивним розчином, відповідно до інструкцій виробника. Встановіть правильну кількість циклів промивки, як повідомляється в конкретному розділі.
8. Увімкніть зчитувач ІФА принаймні за 20 хвилин до операції зчитування.
9. Якщо ви використовуєте автоматизовану робочу станцію, увімкніть її, перевірте налаштування та обов'язково використовуйте правильний протокол аналізу.
10. Переконайтеся, що мікропіпетки встановлені на необхідний об'єм.
11. Перевірте, чи все інше обладнання доступне та готове до використання.
12. У разі проблем не продовжуйте подальше тестування та повідомте керівнику.

M. ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

Аналіз повинен проводитися відповідно до того, що повідомляється нижче, з обережністю, щоб підтримувати однаковий час інкубації для всіх зразків під час тестування.

1. Розведіть зразки 1:101 у відповідно визначеній пробірці для розведення (приклад: 1000 мкл (μl) Розчинника для зразків + 10 мкл (μl) зразка). Не розбавляйте Контролі, оскільки вони готові до використання. Ретельно перемішайте всі рідкі компоненти на вортексі, а потім дійте, як описано нижче.
 2. Помістіть необхідну кількість лунок у тримач мікролунок. Залиште лунку в позиції A1 порожньою для операції бланкування.
 3. Внесіть 50 мкл (μl) Нейтралізуючого реагенту у всі лунки, за винятком A1, що використовується для операцій бланкування, та лунок, що використовуються для Позитивного та Негативного Контролів.
- Важлива примітка:** Нейтралізуючий реагент здатний блокувати хибнопозитивні реакції через РФ. Позитивні зразки у внутрішніх панелях контролю якості можуть бути виявлені негативними, якщо такі зразки були позитивними з IVD, що не здійснює жодної реакції блокування РФ.
4. Розподіліть 100 мкл (μl) Негативного контролю у трьох примірниках, 100 мкл (μl) Позитивного контролю у двох примірниках та 100 мкл (μl) розведених зразків у кожному належним чином ідентифіковану лунку.
 5. Інкубуйте мікропланшет протягом **60 хвилин при +37 °C (°C)**.

Важливе зауваження: Смужки слід герметизувати клейкою ущільнювальною фольгою, що постачається, лише тоді, коли тест проводиться вручну. Не накривайте смужки, використовуючи автоматичні прилади ІФА.

6. Промийте мікропланшет автоматичним вошером, як зазначено у розділі I.3.
7. Піпетуйте 100 мкл (ml) Ферментного Кон'югату в кожную лунку, крім лунки A1 для бланкування, і закрийте герметиком. Переконайтеся, що цей компонент червоного кольору розподілений у всіх лунках, крім A1.

Важливі примітки: Будьте обережні, щоб не торкатися внутрішньої поверхні лунки наконечником піпетки, заповненим Ферментним Кон'югатом. Можливе забруднення.

8. Інкубуйте мікропланшет протягом **60 хвилин при +37 °C (°C)**.
9. Промийте мікропланшет автоматичним вошером, як у кроці 6.
10. Піпетуйте 100 мкл (μl) суміші Хромоген/Субстрат у кожную лунку, включаючи бланк-лунку. Потім інкубуйте мікропланшет протягом **20 хвилин при кімнатній температурі (18-24 °C (°C))**.

Важлива примітка: Не піддавайте сильному прямому світлу, оскільки може створюватися високий фон.

- Піпетуйте 100 мкл (μl) Сірчаної кислоти у всі лунки, використовуючи ту саму послідовність піпетування, що і на етапі 10, щоб зупинити ферментативну реакцію. Додавання кислоти перетворить колір позитивного контролю та позитивних зразків з блакитного на жовтий.
- Виміряйте інтенсивність забарвлення розчину в кожній лунці, як описано в розділі 1.5, за допомогою пристрою для зчитування мікропланшетів при 450 нм (nm) (зчитування) та при 620-630 нм (nm) (віднімання фону, обов'язкове), бланкуючи прилад в лунці A1 або B1 або в обидвох.

Важливі зауваження:

- Переконайтеся, що на нижній частині мікролунок немає відбитків пальців перед зчитуванням. Це може призвести до хибнопозитивних результатів при зчитуванні.
- Зчитування повинно проводитися відразу після додавання Стоп-розчину, і в будь-якому разі не довше, ніж через 20 хвилин після його додавання. Може статися деяке самоокислення хромогену, що призводить до високого фону.

N. СХЕМА АНАЛІЗУ

Метод	Операції
Нейтралізуючий реагент (тільки для зразків)	50 мкл (μl)
Контролі	100 мкл (μl)
Зразки розведені 1:101	100 мкл (μl)
1-а інкубація	60 хв.
Температура	+37 °C (°C)
Промивання	5 циклів із 20 хв. замочування АБО 6 циклів без замочування
Ферментний кон'югат	100 мкл (μl)
2-а інкубація	60 хв.
Температура	+37 °C (°C)
Промивання	5 циклів із 20 хв. замочування АБО 6 циклів без замочування
TMB/H ₂ O ₂	100 мкл (μl)
3-я інкубація	20 хв.
Температура	КТ
Сірчана кислота	100 мкл (μl)
Зчитування ОЩ	450 нм (nm)/620-630 нм (nm)

Нижче наведено приклад схеми видачі:

		Мікропланшет											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	BLK	S3											
B	NC	S4											
C	NC	S5											
D	NC	S6											
E	PC	S7											
F	PC	S8											
G	S1	S9											
H	S2	S10											

Легенда: BLK = Бланк CN = Негативний Контроль CP = Позитивний Контроль S = Зразок

O. ВНУТРІШНІЙ КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Перевірка валідації на контролях здійснюється щоразу, коли використовується набір, щоб перевірити, чи результативність аналізу є такою, якою очікується та вимагається Директивою IVDD 98/79/ЄС. Перевірте відповідність наступних даних:

Параметр	Вимоги
Бланк-лунка	< 0.100 Значення OD 450 нм (nm)
Негативний Контроль	< 0.150 Середнього значення OD 450 нм (nm) після бланкування Коефіцієнт варіації < 30%
Позитивний Контроль	OD 450 нм (nm) > 0.750

Якщо результати тесту відповідають вимогам, зазначеним вище, перейдіть до наступного розділу. Якщо це не так, не продовжуйте і виконайте наступні перевірки:

Проблема	Перевірити
Бланк-лунка > 0.100 OD 450 нм (nm)	1. що під час аналізу розчин Хромоген/Субстрат не забруднився.
Негативний Контроль > 0.150 OD 450 нм (nm) після бланкування Коефіцієнт варіації > 30%	1. що процедура промивання та налаштування вошера підтверджені у попередньому кваліфікаційному дослідженні; 2. що був використаний належний миючий розчин і перед використанням вошер був ним праймований; 3. що в процедурі аналізу не було допущено жодної помилки (внесення позитивного калібратора замість негативного); 4. що не відбулося жодного забруднення негативного калібратора або його лунки через позитивні зразки, розливи або ферментний кон'югат; 5. що мікропіпетки не були забруднені позитивними зразками або ферментним кон'югатом; 6. що голки вошера не були заблоковані або частково перекриті.
Позитивний Контроль < 0.750 OD 450 нм (nm)	1. що процедура була правильно виконана; 2. що при внесенні не було зроблено жодної помилки (напр.: внесено неправильний калібратор); 3. що процедура промивання та налаштування вошера підтверджені у попередньому кваліфікаційному дослідженні; 4. що зовнішнє забруднення калібратора не відбулося.

Якщо виникла якась із зазначених вище проблем, повідомте про проблему керівнику для подальших дій.

Важлива примітка:

Аналіз слід проводити, як і на етапі читання, описаному в розділі M, пункт 12.

P. РЕЗУЛЬТАТИ

Якщо тест виявляється дійсним, результати обчислюються із середнього значення OD 450 нм (nm)/620-630 нм (nm) Негативного контролю (NC) за допомогою граничного значення cut-off (Co), визначеного за такою формулою:

$$\text{Cut-off} = \text{NC} + 0.250$$

Важлива примітка: Коли розрахунок результатів виконується операційною системою автоматизованої робочої станції ІФА, переконайтеся, що правильне формулювання використовується для отримання правильної інтерпретації результатів.

Q. ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Результати тестування інтерпретуються як співвідношення значення зразка OD 450 нм (nm)/620-630 нм (nm) (S) та граничного значення (Co) або S/Co відповідно до наведеної нижче таблиці:

S/Co	Interpretation
< 0.9	Негативний
$0.9 \leq S/Co < 1.0$	Сумнівний
≥ 1.0	Позитивний

Негативний результат свідчить про те, що у пацієнта не виробилися антитіла IgM до C. Trachomatis.

Будь-якого пацієнта, який має сумнівний результат, слід повторно перевірити на другому зразку, взятому через 1-2 тижні після первинного зразка.

Позитивний результат свідчить про триваючу інфекцію Chlamydia Trachomatis, тому пацієнта слід лікувати відповідним чином.

Важливі примітки:

1. Одних результатів цього тесту недостатньо, щоб поставити чіткий діагноз інфекції *Chlamydia Trachomatis*. Необхідно провести інші діагностичні тести на *Chl. Trachomatis* (постачається ЛАБЮЕІ за кодами LUA-CTA.CE та LUA-CTG.CE).
2. Інтерпретація результатів повинна здійснюватися під наглядом відповідального лабораторії, щоб зменшити ризик помилок та неправильно тлумачення.
3. Коли результати тесту передаються з лабораторії до іншого закладу, слід звернути увагу, щоб уникнути помилкової передачі даних.
4. Діагноз повинен проводити і передавати пацієнту відповідний кваліфікований лікар.

Приклад розрахунку наведено нижче (дані, отримані на етапі читання, описаному в розділі М, пункт 12):

Наступні дані не можна використовувати замість реальних цифр, отриманих користувачем.

Негативний контроль: 0.100 - 0.120 - 0.080 OD 450 нм (nm)
Середнє значення: 0.100 OD 450 нм (nm)
Менше ніж 0.150 - Приймаєто

Позитивний контроль: 1000 OD 450nm
Вище ніж 0.750 - Приймається

$$\text{Поріг} = 0.100 + 0.250 = 0.350$$

Зразок 1: 0.080 OD 450 нм (nm)
Зразок 2: 1.800 OD 450 нм (nm)
Зразок 1 S/Co < 0.9 = негативний
Зразок 2 S/Co ≥ 1.0 = позитивний

Р. РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Оцінка показників була проведена на панелях позитивних і негативних зразків з посиланням на референсний набір з маркуванням CE.

1. Межа виявлення

Європейське співтовариство не визначило жодного міжнародного стандарту для виявлення антитіл IgM до *C. Trachomatis*.

За його відсутності був визначений внутрішній стандарт, отриманий від пацієнтів з анамнезом перенесеної інфекції в минулому, для забезпечення пристроєм з постійною та високою чутливістю.

2. Діагностична Чутливість та Специфічність

Діагностичні показники оцінювались на зразках, наданих двома зовнішніми центрами, з чудовим досвідом діагностики інфекційних захворювань.

Діагностичну чутливість вивчали на більш ніж 60 зразках, позитивних за референсним набором. Позитивні зразки були зібрані у пацієнтів з клінічною історією інфекції *Chlamydia Trachomatis*.

Діагностична специфічність була визначена на панелях з більш ніж 100 негативних зразків від нормальних осіб та донорів крові, класифікованих як негативні за референсним набором, включаючи потенційно інтерферуючі зразки.

Для визначення специфічності використовували як плазму, отриману за допомогою різних стандартних методів приготування (цитрат, EDTA та гепарин), так і сироватки. Жодної хибної реакційної здатності через метод приготування зразків не спостерігалось.

Заморожені зразки також випробовували, щоб перевірити, чи заморожування зразків не впливає на результати випробування.

На чистих і вільних від частинок зразках інтерференцій не спостерігалось.

Тестували потенційно інтерферуючі зразки (вагітність, гемолізовані, ліпемічні, РФ+).

Перехресної реакції не спостерігалось.

Оцінка ефективності надала такі значення:

Чутливість	≥ 98 %
Специфічність	≥ 98 %

3. Точність

Було розраховано на трьох зразках, негативному, низькопозитивному та позитивному, досліджених у 16 повторях у трьох окремих пробігах в трьох лотах. Результати повідомляються наступним чином:

LUA-CTM.CE: Лот Р1**Негативний зразок (N = 16)**

Середні значення	1-й пробіг	2-й пробіг	3-й пробіг	Середнє значення
OD 450 нм (nm)	0.051	0.051	0.053	0.052
Стандартне відхилення	0.005	0.006	0.006	0.006
CV %	10.1	10.9	10.8	10.6

Низькопозитивний зразок (N = 16)

Середні значення	1-й пробіг	2-й пробіг	3-й пробіг	Середнє значення
OD 450 нм (nm)	0.616	0.609	0.607	0.610
Стандартне відхилення	0.051	0.048	0.046	0.048
CV %	8.2	7.8	7.6	7.9

Високопозитивний зразок (N = 16)

Середні значення	1-й пробіг	2-й пробіг	3-й пробіг	Середнє значення
OD 450 нм (nm)	1.255	1.270	1.262	1.262
Стандартне відхилення	0.050	0.049	0.058	0.052
CV %	4.0	3.9	4.6	4.1

LUA-CTM.CE: Лот Р2**Негативний зразок (N = 16)**

Середні значення	1-й пробіг	2-й пробіг	3-й пробіг	Середнє значення
OD 450 нм (nm)	0.050	0.048	0.049	0.049
Стандартне відхилення	0.005	0.005	0.005	0.005
CV %	10.4	10.0	10.2	10.2

Низькопозитивний зразок (N = 16)

Середні значення	1-й пробіг	2-й пробіг	3-й пробіг	Середнє значення
OD 450 нм (nm)	0.603	0.591	0.596	0.596
Стандартне відхилення	0.048	0.046	0.045	0.046
CV %	8.0	7.8	7.5	7.7

Високопозитивний зразок (N = 16)

Середні значення	1-й пробіг	2-й пробіг	3-й пробіг	Середнє значення
OD 450 нм (nm)	1.212	1.231	1.245	1.229
Стандартне відхилення	0.049	0.043	0.051	0.048
CV %	4.0	3.5	4.1	3.9

LUA-CTM.CE: Лот Р3**Негативний зразок (N = 16)**

Середні значення	1-й пробіг	2-й пробіг	3-й пробіг	Середнє значення
OD 450 нм (nm)	0.051	0.050	0.050	0.050
Стандартне відхилення	0.005	0.005	0.005	0.005
CV %	10.0	9.9	9.4	9.8

Низькопозитивний зразок (N = 16)

Середні значення	1-й пробіг	2-й пробіг	3-й пробіг	Середнє значення
OD 450 нм (nm)	0.618	0.615	0.616	0.616
Стандартне відхилення	0.049	0.046	0.045	0.047
CV %	7.9	7.5	7.4	7.6

Високопозитивний зразок (N = 16)

Середні значення	1-й пробіг	2-й пробіг	3-й пробіг	Середнє значення
OD 450 нм (nm)	1.216	1.239	1.233	1.229
Стандартне відхилення	0.048	0.046	0.050	0.048
CV %	3.9	3.7	4.1	3.9

Змінність, наведена у таблицях вище, не призвела до неправильної класифікації зразків.

4. Достовірність

Достовірність аналізу перевіряли тестами на розведення. Будь-який «хук-ефект», недооцінка якого, ймовірно, відбудеться при застосуванні високих доз аналіту, був виключений.

Важлива примітка:

Дані про продуктивність були отримані на етапі читання, описаному в розділі М, пункт 12.

5. ОБМЕЖЕННЯ

Бактеріальне забруднення або інактивація зразка теплом можуть вплинути на значення поглинання зразків з подальшою зміною рівня аналіту.

Заморожені зразки, що містять частинки фібрину або агрегати, можуть дати хибні результати.

Цей тест підходить тільки для випробування одиночних зразків, а не пулованих.

Діагноз інфекційного захворювання не слід встановлювати на основі єдиного результату тесту. Слід враховувати історію хвороби пацієнта, симптоматику та інші діагностичні дані.

Хибно позитивний був оцінений як менше 2% нормальної популяції.

За допомогою аналізу антигенів аналіз може виявити певну перехресну реакцію з іншими організмами родини Chlamydia (наприклад: C.trachomatis).

Вся продукція IVD, вироблена компанією, перебуває під контролем сертифікованої Системи управління якістю, схваленої Уповноваженим органом з оцінки відповідності. Кожна партія проходить контроль якості та випускається на ринок лише за умови відповідності технічним регламентам та критеріям прийнятності.

**ВИРОБНИК:**

ТОВ «ЛАБЮЕЙ»
вул. Петлюри, будинок 25,
м. Івано-Франківськ, 76018, Україна
Тел.: +38 (67) 000-20-22
Електронна адреса: info@labua.com.ua



UA.TR.116