

Унитарное предприятие  
"Хозрасчетное опытное производство  
Института биоорганической химии  
Национальной академии наук Беларуси"  
Республика Беларусь  
220141, г.Минск, ул.академика Купревича, 5, корп.3  
Факс (017) 263-62-57

**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ  
НАБОРА РЕАКТИВОВ  
ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ХЛАМИДИЙ  
ВИДА CHLAMYDIA TRACHOMATIS  
МЕТОДОМ ПРЯМОЙ ИММУНОФЛУОРЕСЦЕНЦИИ**

**РИФ-ХЛТ**

УТВЕРЖДАЮ  
Заместитель министра  
здравоохранения  
Республики Беларусь  
\_\_\_\_\_ А.С. Романенков  
"30" 03 2005 г.

**1 НАЗНАЧЕНИЕ**

1.1 Набор РИФ-ХЛТ предназначен для определения наличия в исследуемых пробах эпителиальной ткани человека хламидий вида *Chlamydia trachomatis* методом прямой иммунофлуоресценции.

**2 ХАРАКТЕРИСТИКА И ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА**

**2.1 Состав набора:**

- антитела, меченные ФИТЦ, лиофилизированный или жидкий препарат, 1 флакон; 1,1 мл;
- буферный раствор, готов к использованию, 1 флакон, 2 мл (поставляется при комплектации набора лиофилизированными антителами, меченными ФИТЦ);
- раствор для монтирования препаратов, готов к использованию, 1 флакон, 2 мл;
- жидкость для фиксации мазков, готова к использованию, 1 флакон, 5 мл.

**2.2 Набор РИФ-ХЛТ рассчитан на проведение 50 анализов.**

2.3 Принцип работы набора состоит в следующем. Специфические антитела, меченные ФИТЦ, во время инкубации реагируют с липопротеидами мембраны хламидий. Препарат микроскопируется в люминесцентном микроскопе.

**3 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ**

3.1 При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые перчатки, т.к. использование данного набора предполагает изготовление мазков эпителиальных тканей пациентов с заболеванием хламидиоза.

3.2 Работы проводить с соблюдением мер предосторожности, предусмотренных приказом МЗ РБ № 351.

3.3 При использовании набора рабочие места должны быть обеспечены приточно-вытяжной вентиляцией.

**4 ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ,  
НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА**

4.1 Пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкостей 0,02; 0,1; 1,1 мл;

- люминесцентный микроскоп МБИ-15, МР-8 с объективами МИ 90х и окулярами 4-5х или с объективами ВИ 60-70х и окулярами 5-7х;

- предметные и покровные стекла;
- зонды с ватными тампонами;
- влажная камера;
- иммерсионное масло;
- термостат.

**5 ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА  
И КОМПОНЕНТОВ НАБОРА**

5.1 Подготовка материала для исследования.

Внимание! Квалифицированный сбор проб является основным этапом в проведении диагностики хламидий.

Предметные стекла маркировать, указав фамилию пациента и дату отбора пробы.

Мужчины: материал из уретры.

Материал собирают спустя (20-30) мин после мочеиспускания с помощью гибкого зонда со стерильным ватным тампоном. В пробе не должны содержаться лейкоциты и эритроциты. Тампон вводится на (2-3) см в уретру, после чего необходимо поворачивать зонд в течение 10 с и извлечь.

Женщины: материал из уретры и эндоцервикального канала.

Предварительно необходимо очистить цервикс марлевым тампоном. Ввести зонд в эндоцервикальный канал на 1,0 см, в течение 10 с поворачивать его и извлечь, не касаясь вагинальных стенок.

Готовить мазки необходимо сразу после отбора материала методом отпечатков. Высушить мазки на воздухе при комнатной температуре и сразу же зафиксировать.

На каждый мазок нанести (4-5) каплю (100 мкл) жидкости для фиксации мазков. Дождаться полного испарения жидкости. После фиксации не позднее одного часа пробы должны быть помещены в холодильник для дальнейшего хранения.

Стекло с фиксированным мазком хранится при температуре (2-8) °С до семи дней.

5.2 Перед началом работы набор и предметные стекла с мазками выдержать 30 мин при комнатной температуре.

5.3 Внести во флакон с лиофилизированными антителами, меченными ФИТЦ 1,1 мл буферного раствора. Тщательно перемешать, избегая образования пены.

**6 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА**

6.1 Нанести на мазок с помощью микропипетки 0,02 мл (20 мкл) антител, меченных ФИТЦ так, чтобы покрыть всю поверхность мазка.

6.2 Предметные стекла поместить во влажную камеру и выдержать в термостате при температуре 37 °С в течение 15 мин или (20-25) мин при комнатной температуре (20-25) °С.

6.3 После инкубации промыть стекла в проточной водопроводной воде в течение 5 мин, сполоснуть дистиллированной водой и высушить на воздухе.

6.4 На высушенный мазок нанести каплю монтирующего раствора, мазок накрыть покровным стеклом и микроскопировать в люминесцентном микроскопе. Рекомендуется использовать микроскоп с фильтрами, обеспечивающими возбуждающий свет с длиной волны не более 490 нм.

**7 УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ**

7.1 Диагноз должен основываться только на факте наличия элементарных телец в анализируемом мазке. Проба считается положительной, если в исследуемом препарате обнаружено не менее 10 элементарных телец в виде укола острой булавки от среднего до яркого яблочно-зеленого флуоресцирования. Возможны другие формы микроорганизмов. Некоторые хламидии в 2-3 раза больше по размеру элементарных телец могут окрашиваться с периферическим ореолом. Они представляют собой недоразвитые организмы, ретикулярные тельца или формы, являющиеся промежуточными между элементарными и ретикулярными тельцами. В пробе должно быть зарегистрировано не менее (10-20) эпителиальных клеток, окрашенных в красно-оранжевый цвет.

7.2 Проба считается отрицательной, если в мазке отсутствует специфическое свечение при обязательном наличии (10-20) эпителиальных клеток.

7.3 Проба считается сомнительной, если в мазке обнаружено менее 10 телец хламидий или менее 10 эпителиальных клеток. Если результат сомнительный, исследование необходимо повторить на новой пробе.

**8 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ НАБОРА**

8.1 Хранение набора РИФ-ХЛТ должно производиться в чистом, сухом и темном помещении при температуре (2-8) °С в течение всего срока годности. Допускается хранение набора при температуре до 25 °С не более 2 сут.

8.2 Набор РИФ-ХЛТ транспортируется всеми видами крытого транспорта при температуре (2-8) °С. Допускается транспортирование набора при температуре до 25 °С не более 2 сут.

8.3 Срок годности набора – 6 месяцев с даты изготовления набора.

8.4 Для отбора и добавления компонентов рекомендуется использовать полуавтоматические пипетки, аттестованные на точность по значению средней дозы и сходимость результатов пипетирования.

8.5 Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора и квалифицированное проведение анализа.