



INSTITUTUL NAȚIONAL DE CERCETARE DEZVOLTARE  
PENTRU MICROBIOLOGIE ȘI IMUNOLOGIE  
„CANTACUZINO”  
Splaiul Independenței 103, București, 050096

LABORATORUL NATIONAL DE REFERINTA PENTRU ITS

	Elaborat	Verificat	Aprobat
Functia	Responsabil analiza	Sef laborator	Director LNR.
Nume prenume			
Semnatura*			
Data			

\* Semnatura se aplică pe documentul original

## INSTRUCTIUNE DE LUCRU

### Detectarea anticorpilor IgA/ IgM/ IgG anti Chlamydia trachomatis – trusa NovaTec

**Cod:**

**Editia :**

**Revizia :**

**Data aplicarii :**

**Avertisment** Documentul de fata este proprietatea I.N.C.D.M.I. « CANTACUZINO »  
Reproducerea si difuzarea documentului sunt in exclusivitate dreptul I.N.C.D.M.I. «CANTACUZINO»  
Copiile sunt numerotate si controlate.

Exemplar nr : \_\_\_\_\_

Destinatarul: \_\_\_\_\_

Exemplar :  controlat  necontrolat



<b>I.N.C.D.M.I. CANTACUZINO LNR ITS</b>	<b>INSTRUCTIUNE DE LUCRU</b>	Exemplar nr.
	<b>DETECTAREA ANTICORPILOR IgA / IgM / IgG ANTI CHLAMYDIA TRACHOMATIS cu TRUSA NOVATEC</b>	Ediția:
	<b>Cod :</b>	Revizia:
		Data aplicării :

## 1. SCOP

Determinarea prezentei anticorpilor IgG/ IgM/ IgA din serurile umane si plasma in infectiile cu Ch. trachomatis

## 2. MOD DE LUCRU

### 2.1 Resurse necesare

#### 2.1.1. Materiale/reactivi din trusa

- Placa microtitrare acoperita cu folie adeziva, cu stripuri detasabile, sensibilizate cu antigen de Chlamydia trachomatis
  - Diluent pentru seruri, in dilutie de lucru, culoare galbena
  - Solutie stop, in dilutie de lucru
  - Solutie de spalare 20X
  - Conjugat anti Ig(A,G sau M) Chlamydia, in dilutie de lucru
  - Solutie substrat TMB, in dilutie de lucru
  - Control pozitiv, control negativ, control CO, in dilutie de lucru, culoare galbena
- Componentele trusei se pastreaza la +2+8°C, se feresc de lumina directa si se folosesc pana la data de expirare. Dupa scoaterea stripurilor necesare, restul de stripuri se reintroduc in plic si se inchid ermetic.

#### 2.1.2. Materiale suplimentare

- Apa purificata pentru diluarea solutiei de spalare
- Sticlărie de laborator curata
- Conuri de prelevare galbene si albastre
- Hartie filtru
- Solutie dezinfectanta(Actisept 1 tb.2,5 g/10 L apa)
- Ceas semnalizator
- Manusi latex

#### 2.1.3. Dispozitive/echipamente

- Micropipeta monocanal (10-200 microL) si multicanal (50-250 microL)
- Termostat 37°C
- Cititor placi ELISA la lungimile de unda 450/620, cu soft pentru exprimarea automata in unitati(NTU)

## 2.2. Pregătirea testului

Toti reactivii se aduc la temperatura camerei (+20°C +25°C) inainte de utilizare.

Se pregatesc tuburile necesare dilutiei probelor, micropipetele, pipetele multicanal, (daca se spala manual), apa purificata, recipiente de sticla pentru deseurile lichide, cilindri de sticla, precum si ceasul semnalizator.

Se scot din ambalaj numarul de stripuri necesari. Se fixeaza stripurile pe rama trusei.

Restul stripurilor se pun inapoi in ambalajul original care se inchide etans si se pastreaza la +4°C--+8°C.

Probele si controalele se inregistreaza in grila.

### 2.3. Dilutia probelor de ser/plasma

Se dilueaza in tuburi probele de testat 1/100 cu diluentul pentru probe (10 microL proba + 90 mmicroL dil) .

Controalele pozitiv, negativ si cut-off sunt gata diluate.

Se pipeteaza cate 100 microL din fiecare proba si respectiv, din fiecare control astfel :

- godeul A1 se pastreaza pentru blank, control negativ in godeul B1, cut-off in godeul C1 si D1 si control pozitiv in godeul E1.

Se acopera godeurile cu o folie protectoare, furnizata in trusa.

**2.4. Prima incubare** : 1 ora +/- 5 min. la 37°C +/- 1°C.

**2.5. Spalare** : cu apa purificata se realizeaza dilutia de 1/20 a tamponului de spalare concentrat.

I.N.C.D.M.I. CANTACUZINO LNR ITS	<b>INSTRUCTIUNE DE LUCRU</b>	Exemplar nr.
	<b>DETECTAREA ANTICORPILOR IgA / IgM / IgG ANTI CHLAMYDIA TRACHOMATIS cu TRUSA NOVATEC</b>	Ediția:
	<b>Cod :</b>	Revizia:
		Data aplicării :

Cantitatea de tampon de spalare se calculeaza in functie de numarul de godeuri (0.3 mL/ godeu).

Stabilitatea dupa dilutie este de 5 zile la temperatura camerei.

**Spalare manuala** : 3 spalari cu solutia de spalare diluata, dupa golirea continutului godeurilor.

**Spalare automata** : 5 spalari .

In cazul spalarii manuale, se tapoteaza placa pe o hartie de filtru, pentru indepartarea completa a lichidului remanent.

**2.6.** Se adauga cate 100 µl **conjugat anti IgA, IgG sau IgM** in fiecare godeu, cu exceptia A1. Se acopera placa cu folia adeziva.

**2.7. Incubare** 30 minute la temperatura laboratorului, la adpost de lumina directa.

**2.8.** Spalare conform **2.5**.

**2.9.** Se adauga cate 100 µl **solutie substrat TMB** in fiecare godeu.

**2.10. Incubare** - 15 minute la temperatura camerei si intuneric.

**2.11. Stopare reactie** - dupa 15 minute se adauga in fiecare godeu cate 100 µl **solutie stop** .

**2.12. Citirea fotometrica** se realizeaza prin masurarea valorii densitatii optice fiecarui godeu in max. 30 minute la 450 nm / 620nm.

### 2.13. Validarea testului

Pentru ca testul sa fie valid, sunt necesare urmatoarele :

Blank	A1	DO < 0,100
Control negative	B1	DO < 0,200
Control CO C1si D1		DO intre 0,250-0,900
Control pozitiv	E1	DO ≥ DO CO

Valoarea cut-off = media DO C1 si D1(se executa automat prin soft)

O proba este **pozitiva** atunci cand DO proba > valoarea cut-off +10%

O proba este **negativa** atunci cand DO proba < valoarea cut-off -10%

In cazul in care DO proba este cuprinsa intre valorile cut-off ± 10% (zona gri), se testeaza o noua proba dupa 4 saptamani. Daca si in acest caz DO se situeaza in zona gri, proba va fi considerata negativa.

Rezultatul final poate fi exprimat si in unitati NovaTec aplicand urmatoarea formula:

$$(DO proba \times 10) / DO CO = \text{unitati NovaTec (NTU)}.$$

### 2.14. Interpretare

Cut-off	10	NTU
Zona gri	9-11	NTU
Negativ	< 9	NTU
Pozitiv	> 11	NTU

## 3. FORMULARE / INREGISTRARI

Fisa de lucru ELISA Chlamydia trachomatis NovaTec Cod :

Foaie rezultate imprimanta

Registru rezultate serologie Chlamydia trachomatis Cod :

## 4. Anexe

Model Fisa de lucru ELISA Chlamydia trachomatis NovaTec Cod :

I.N.C.D.M.I. CANTACUZINO LNR ITS	INSTRUCTIUNE DE LUCRU DETECTAREA ANTICORPILOR IgA / IgM / IgG ANTI CHLAMYDIA TRACHOMATIS cu TRUSA NOVATEC  Cod :	Exemplar nr.
		Editia:
		Revizia:
		Data aplicării :

I.N.C.D.M.I. CANTACUZINO LNR ITS	FISA DE LUCRU ELISA CHLAMYDIA TRACHOMATIS NOVATEC Cod :	Editia:
		Revizia:
		Data aplicării:

FISA NR.: \_\_\_\_\_ DATA TESTARII \_\_\_\_\_

Termometru ID:	Temp. camerei	Valori specificate: + 20+25°C	Valoare constatata:
----------------	---------------	----------------------------------	---------------------

Pipeta ID:	Incubator ID:	Spalator ID:	Cititor ID:
------------	---------------	--------------	-------------

Lot trusa:	Data expirarii:	Tip proba:
------------	-----------------	------------

Prepararea diluentului	Volum:	Utilizabil numai in ziua de lucru
------------------------	--------	-----------------------------------

GRILA

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

Validare test:

Blank A1 DO = <input type="checkbox"/>	CO C1 DO = <input type="checkbox"/>	CO D1 DO = <input type="checkbox"/>
CN B1 DO = <input type="checkbox"/>	CP E1 DO = <input type="checkbox"/>	CO <sub>mediu</sub> = DO (C1+D1) / 2 = <input type="checkbox"/>

Blank A1 DO < 0.100	CO C1 DO intre 0.250-0.900	CO D1 DO intre 0.250-0.900
CN B1 DO < 0.200	CP E1 DO ≥ DO CO <sub>mediu</sub>	CO <sub>mediu</sub> intre 0.250-0.900
<b>Proba pozitiva</b> DO ≥ CO <sub>mediu</sub> +10% sau > 11 NTU	<b>Proba negativa</b> DO < CO <sub>mediu</sub> -10% sau < 9 NTU	<b>Zona gri</b> DO CO <sub>mediu</sub> ±10% sau 9-11 NTU

Se ataseaza rezultatele tiparite de imprimanta cititorului liniei ELISA exprimate in DO si NT:

Se repeta testul <input type="checkbox"/> DA <input type="checkbox"/> NU
--

Operator:

Responsabil analiza: