



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 ANTIGENULUI LPS DE CHLAMYDIA PRIN METODA AUTOMATA VIDAS Chlamydia

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

I.N.C.D.M.I. CANTACUZINO LNR ITS	INSTRUCIUNILE DE LUCRU	Exemplar nr.
	DETECTAREA ANTIGENULUI LPS DE CHLAMYDIA	Ediția:
	PRIN METODA AUTOMATA VIDAS Chlamydia	Revizia:
	Cod :	Data aplicării :

1 SCOP

Instrucțiunea descrie operațiunile necesare determinării cantitative a antigenului LPS (Lipopolizaharidic) chlamydial de gen, din prelevate endocervicale și uretrale, prin metoda automată ELFA (EnzymeLinked Fluorescent Assay) cu aparatul VIDAS(bioMerieux).

Principiul metodei

Metoda asociază o reacție imunoenzimatică cu o detecție finală de fluorescență (ELFA).

Antigenul din probă, captat în conul SPR (fază solidă), va fi cuplat cu IgG de soarece anti-chlamydia.

În etapa următoare se adaugă conjugatul anti-IgG soarece-fosfatază alcalină, care ulterior va hidroliza substratul adăugat, rezultând un produs, a cărui fluorescență va fi măsurată la 450 nm. Intensitatea fluorescenței este proporțională cu concentrația antigenului de Chlamydia din probă.

2. MOD DE LUCRU

2.1 Resurse necesare

2.1.1 Reactivii se păstrează la +2+8°C

Trusa VIDAS Chlamydia:

60 cartușe CHL, conținând reactivii necesari

60 conuri CHL, de unică folosință, pentru fixarea Ag

Standard CHL 1 x 5 mL, gata de lucru

Control pozitiv 1 x 6 mL și Control negativ 1 x 6 mL, gata de lucru

Lichid de extracție probă 1 x 120 mL, gata de lucru

1 card MLE(Master Lot Entry)

Standard de calibrare pentru tot lotul de reactivi

2.1.2 Consumabile

Varfuri prelevare

Hartie de filtru

Manusi nepudrate

2.1.3 Aparatura

Bloc termic pentru extracție probe

Pipete automate 200-1000 microL

Frigider

2.2 Execuția testului

Pentru instrucțiuni complete, a se vedea Manualul de utilizare VIDAS și Instrucțiunile de utilizare din trusa

Totii reactivii, scoși din frigider, vor sta la temperatura camerei (+19 +29°C) 30 min., înaintea lucrului.

Prelucrarea probei:

- se pipetează 2 mL lichid de extracție în fiecare tub conținând tamponul cu probă
- se vortexează 30 secunde, se extrage tija cu tampon, se aruncă și se reastupă tubul
- se încălzește tubul în blocul termic preîncălzit la + 95 - 100°C timp de 15-30 min.
- proba se analizează imediat sau în max.24 ore păstrată la +2+8°C
- se vortexează extractul 10 sec. imediat înainte de a se introduce 350 microL în godeul probă din cartuș

I.N.C.D.M.I. CANTACUZINO LNR ITS	INSTRUCTIUNE DE LUCRU	Exemplar nr.
	DETECTAREA ANTIGENULUI LPS DE CHLAMYDIA	Ediția:
	PRIN METODA AUTOMATA VIDAS Chlamydia	Revizia:
	Cod :	Data aplicării :

Introducerea specificatiilor **lotului de reactivi** in aparat cu ajutorul cardului MLE
Calibrarea cu ajutorul standardului din kit, notat cu S1, analizat in dublu(vezi Manualul). Valoarea standardului trebuie sa fie cuprinsa in limitele RFV(Relative Fluorescence Value) fixata

Se utilizeaza un cartus CHL si un con CHL. pentru fiecare proba,control, standard
Se introduce in aparat codul CHL, pentru CHLamydia
Se include standardul S1 in dublu, controlul pozitiv C1 si negativ C2
Se agita pe vortex probele si controalele timp de 10 sec. si se repartizeaza cate 350 microL
in godeurile corespunzatoare
Se plaseaza in aparat conul si cartusul si se porneste analiza automata(vezi Manual), care dureaza aprox. 60 min.

3. Rezultate si interpretare

Rezultatele sunt analizate automat prin sistemul informatic al aparatului

Aparatul executa doua citiri: blanc(con singur si substrat inainte de contactul cu conul) si o a doua citire dupa incubarea substratului in con.

Calculul **RFV**(valoarea relativa a fluorescentei) este rezultatul diferentei dintre cele doua masurari si apare pe fisa de rezultate.

Valoarea testului este obtinuta prin scaderea RFV standardului din cea a probei. Aceasta valoare este apoi comparata cu un prag din memoria aparatului.

Interpretarea rezultatului in functie de valoarea testului este urmatoarea:

Valoarea testului	Interpretare
<60	Negativ
≤ 60 - <80	Indeterminat
≥80	Pozitiv

Fisa printata contine:

- -tipul testului
- -ID pacient
- -data si ora
- -numarul lotului si data de expirare
- -pentru fiecare proba: valoarea blancului, RFV, **valoarea testului**, interpretare.

4. CRITERII DE ACCEPTARE / RESPINGERE

Pentru valorile cuprinse intre 60 – 80 se repeta testul si daca rezultatul va fi tot indeterminat se va proceda la recoltarea altei probe.

Rezultatele se invalideaza daca valoarea blancului este mai mare decat cut-off – ul predeterminat, indicand o contaminare a substratului. Se retesteaza aceeasi proba sau se recolteaza alta.

5. FORMULARE, INREGISTRARI

6.1 Fisa printata de aparat

6.2 Registru rezultate cod :