

ВЕКТОР

**БЕСТ**

---

---

Набор реагентов  
для иммуноферментного  
выявления иммуноглобулинов  
класса G к антигенам  
*Ureaplasma urealyticum*

**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ**

Утверждена 23.10.2009  
Приказом Росздравнадзора № 8458-Пр/09

---

---

*Ureaplasma urealyticum* – IgG –  
ИФА – БЕСТ

НАБОР РЕАГЕНТОВ  
**D-2254**



## 1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов предназначен для выявления иммуноглобулинов класса G (IgG) к антигенам *Ureaplasma urealyticum* в сыворотке (плазме) крови человека и может быть использован в клинических и эпидемиологических исследованиях.

1.2. Набор реагентов рассчитан на проведение 96 анализов, включая контрольные образцы. Возможны 12 независимых постановок ИФА, при каждой из которых 3 лунки используют для постановки контролей.

## 2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

### 2.1. Принцип действия.

Метод определения основан на твёрдофазном иммуноферментном анализе с применением рекомбинантных антигенов. Во время первой инкубации, при наличии в исследуемых образцах иммуноглобулинов класса G к антигенам *Ureaplasma urealyticum*, происходит их связывание с иммобилизованными на поверхности лунок планшета рекомбинантными антигенами *Ureaplasma urealyticum*. Не связавшийся материал удаляют отмывкой.

На второй стадии антитела к IgG человека, меченные пероксидазой хрена (*конъюгат*), свя-

зываются с комплексом «антиген-антитело». Не связавшийся конъюгат удаляют отмывкой.

Во время третьей инкубации с раствором тетраметилбензидина происходит окрашивание раствора в лунках, содержащих комплексы «антиген-антитело».

Реакцию останавливают добавлением стоп-реагента. Результаты ИФА регистрируют с помощью спектрофотометра, измеряя **оптическую плотность (ОП)** в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – в диапазоне 620–650 нм. Допустима регистрация результатов только с фильтром 450 нм. Интенсивность жёлтого окрашивания пропорциональна количеству содержащихся в исследуемом образце иммуноглобулинов класса G к антигенам *Ureaplasma urealyticum*.

После измерения ОП раствора в лунках на основании рассчитанного значения  $ОП_{крит}$  анализируемые образцы оцениваются как положительные, сомнительные или отрицательные.

## 2.2. Состав набора.

Набор содержит все необходимые для проведения анализа реагенты, кроме дистиллированной воды:

- планшет разборный с иммобилизованными рекомбинантными антигенами *Ureaplasma urealyticum* – 1 шт.;
- положительный контрольный образец ( $K^+$ ), инактивированный – 1 фл., 0,5 мл;
- отрицательный контрольный образец ( $K^-$ ), инактивированный – 1 фл., 1 мл;
- конъюгат – 1 фл.;
- раствор для предварительного разведения (РПР) – 1 фл., 3 мл;
- раствор для разведения конъюгата (РК) – 1 фл., 13 мл.
- разводящий буфер для сывороток (РБС) – 1 фл., 13 мл;
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Тх25) – 1 фл., 28 мл;
- раствор тетраметилбензидаина (ТМБ) – 1 фл., 13 мл;
- стоп-реагент – 1 фл., 12 мл;

Набор дополнительно комплектуется:

- плёнками для заклеивания планшета – 3 шт.;
- ванночками для реагентов – 2 шт.;
- наконечниками для пипеток на 4–200 мкл – 16 шт.

### 3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Результат качественного определения набором иммуноглобулинов класса G к антигенам *Ureaplasma urealyticum* должен соответствовать требованиям СПП (рег. № 05-2-107 от 29.05.08), включающей образцы сывороток, содержащие специфические IgG к антигенам *Ureaplasma urealyticum*: **чувствительность** по иммуноглобулинам класса G к антигенам *Ureaplasma urealyticum* – 100%.

3.2. Результат качественного определения набором иммуноглобулинов класса G к антигенам *Ureaplasma urealyticum* должен соответствовать требованиям СПП (рег. № 05-2-107 от 29.05.08), включающей образцы сывороток, не содержащие IgG к антигенам *Ureaplasma urealyticum*: **специфичность** по иммуноглобулинам класса G к антигенам *Ureaplasma urealyticum* – 100%.

### 4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а (ГОСТ Р 51609-2000).

При подготовке к проведению анализа 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 с СП 1.3.2322-08 и МУ-287-113.

## **5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:**

- Спектрофотометр, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках планшета при длине волны 450 нм и/или в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–650 нм;
- термостат, поддерживающий температуру ( $37\pm 1$ ) °С;
- холодильник бытовой;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объёмом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 5 до 1000 мкл;
- пипетка полуавтоматическая многоканальная со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объёмы жидкостей от 5 до 300 мкл;
- промывочное устройство для планшета;
- перчатки резиновые хирургические;

- бумага фильтровальная лабораторная;
- цилиндр вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- дезинфицирующий раствор.

## **6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ**

Допускается использование образцов, хранившихся при (2–8)°С не более 5 суток, либо при минус (20±3) °С, если необходимо более длительное хранение.

Сыворотки, содержащие взвешенные частицы, могут дать неправильный результат. Такие образцы перед использованием следует центрифугировать при 3000 об/мин 10–15 минут.

Нельзя использовать проросшие, гемолизированные, гиперлипидные сыворотки или подвергавшиеся многократному замораживанию и оттаиванию.



## **7. ПРОВЕДЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА**

**7.1. ВНИМАНИЕ!** Тщательное соблюдение описанных ниже требований позволит избежать искажения результатов ИФА.

- Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать при температуре (18–25) °С не менее 30 минут.
- Для приготовления растворов и проведения ИФА следует использовать чистую мерную посуду и автоматические пипетки с погрешностью измерения объёмов не более 5%.
- Лиофилизированные компоненты должны быть восстановлены, как минимум, за 15 минут до их использования.
- После отбора необходимого количества стрипов оставшиеся сразу упаковать в пакет с осушителем. Упакованные стрипы, плотно закрытые флаконы с исходными компонентами хранить при (2–8) °С.
- Раствор конъюгата в рабочем разведении готовить непосредственно перед использованием.
- Раствор ТМБ готов для использования. 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 секунд.
- 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 планшета 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 в наборах АО «Вектор-Бест».
- При приготовлении растворов и проведении ИФА следует использовать **одноразовые** наконечники для дозаторов.
- Посуду (*ванночки*), используемые для работы с растворами конъюгата и ТМБ, не обрабаты-

вать 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 необходимо 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 перекись водорода, хлорамин и т.д.

## **7.2. Приготовление реагентов.**

### **7.2.1. Промывочный раствор.**

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

**Таблица расхода реагентов**

		Количество используемых стрипов											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>Промывочный раствор</b>													
<b>ФСБ-Т×25, мл</b>	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	
<b>Дистиллированная вода, мл</b>	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>													
<b>Конъюгат (концентрат), мкл</b>	$\alpha^*$	2× $\alpha$	3× $\alpha$	4× $\alpha$	5× $\alpha$	6× $\alpha$	7× $\alpha$	8× $\alpha$	9× $\alpha$	10× $\alpha$	11× $\alpha$	12× $\alpha$	
<b>РК, мл</b>	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>													
<b>Раствор ТМБ, мл</b>	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0	

$\alpha = \blacktriangle \blacktriangle \blacktriangle \blacktriangle \blacktriangle \blacktriangle \blacktriangle \blacktriangle \blacktriangle \blacktriangle \blacktriangle \blacktriangle \blacktriangle \blacktriangle$  МКЛ

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

Хранение: при температуре (2–8) °С 72 часа.

### **7.2.2. Контрольные образцы.**

Контрольные образцы ( $K^+$  и  $K^-$ ) готовы к использованию.

Хранение: при температуре (2–8) °С в течение всего срока годности набора.

### **7.2.3. Растворы конъюгата.**

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

Приготовить концентрированный раствор конъюгата путём растворения содержимого флакона с конъюгатом в **1,0 мл РПР**.

Хранение: концентрированный раствор конъюгата – при температуре (2–8) °С до 1 месяца.

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

Перед приготовлением раствора конъюгата в рабочем разведении необходимо аккуратно перемешать, не допуская вспенивания, содержимое флаконов с концентратом конъюгата и с РК.

В пластиковую ванночку отобрать необходимое количество (см. таблицу) концентрированного раствора конъюгата, добавить соответствующее количество РК и аккуратно перемешать пипетированием до получения равномерного окрашивания.

#### **7.2.4. Раствор ТМБ.**

**Внимание!** Раствор ТМБ готов к применению.

*Необходимо исключить воздействие света на раствор ТМБ.*

В пластиковую ванночку отобрать 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*).

### **7.3. Проведение анализа.**

7.3.1. 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 застёжкой. Упакованные таким образом стрипы хранить при (2–8)°С до конца срока годности набора.

Приготовить промывочный раствор (п. 7.2.1), концентрированный раствор конъюгата (п. 7.2.3).

**Внимание!** Концентрированный раствор конъюгата должен быть приготовлен, как минимум, за 15 минут до постановки ИФА и выдержан при температуре (18–25)°С.

7.3.2. Перед постановкой ИФА лунки стрипов промыть один раз промывочным раствором, заливая в каждую лунку по 400 мкл промывочного раствора. По истечении 5 минут раствор аккуратно удалить в сосуд с дезинфицирующим раствором.

По окончании промывки необходимо тщательно удалить влагу из лунок, постукивая перевернутыми стрипами по сложенной в несколько слоёв фильтровальной бумаге. Не допускать высыхания лунок стрипов между отдельными операциями при постановке реакции.

7.3.3. Во все лунки стрипов внести по **80 мкл РБС**. В одну лунку внести **20 мкл K<sup>+</sup>**, в две другие лунки по **20 мкл K<sup>-</sup>**, в остальные лунки – по **20 мкл исследуемых образцов**, получая таким образом, разведение 1:5. Внесение образцов должно сопровождаться аккуратным

перемешиванием (*пипетирование не менее 4 раз*). Не допускать вспенивания и касания наконечником дна и стенок лунки.

Лунки заклеить плёнкой и инкубировать при температуре  $(37\pm 1)^\circ\text{C}$  **30 минут**.

За 5 минут до окончания инкубации приготовить раствор конъюгата в рабочем разведении.

7.3.4. По окончании инкубации содержимое лунок собрать в сосуд с дезинфицирующим раствором, промыть лунки стрипов 5 раз промывочным 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 секунд.*

7.3.5. Во все лунки планшета внести по **100 мкл раствора конъюгата в рабочем разведении**.

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

Заклеить лунки плёнкой и инкубировать при температуре  $(37\pm 1)^\circ\text{C}$  **30 минут**.



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

7.3.6. 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 в защищённое от света место при температуре (18–25) °С на **30 минут**.

7.3.7. Остановить реакцию добавлением в каждую лунку по **100 мкл стоп-реагента** и через 2–3 минуты измерить ОП.

*Следует избегать попадания стоп-реагента на одежду и открытые участки тела. При попадании – промыть большим количеством воды.*

## 8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты ИФА регистрировать с помощью спектрофотометра, измеряя ОП в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – в диапазоне 620–650 нм. Допускается регистрация результатов только с фильтром 450 нм.

Выведение спектрофотометра на нулевой уровень («бланк») осуществлять по воздуху.

## 9. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

9.1. Результаты исследований учитывать только при соблюдении следующих условий:

– среднее значение ОП в лунках с  $K^-$  не более 0,25 ( $ОП_{ср} K^- \leq 0,25$ );

– значение ОП в лунке с  $K^+$  не менее 0,6 ( $ОП K^+ \geq 0,60$ ).

Вычислить критическое значение ОП ( $ОП_{крит}$ ) по формуле:

$$ОП_{крит} = ОП_{ср} K^- + 0,25,$$

где  $ОП_{ср} K^-$  – среднее значение ОП для  $K^-$ .

Исследуемый образец оценить как:

– отрицательный, т.е. не содержащий IgG к антигенам *Ureaplasma urealyticum*, если полученное для него значение  $ОП_{обр} \leq ОП_{крит} - 0,05$ ;

– положительный, т.е. содержащий IgG к антигенам *Ureaplasma urealyticum*, если значение  $ОП_{обр} \geq ОП_{крит} + 0,05$ ;

– сомнительный, если  $ОП_{крит} - 0,05 < ОП_{обр} < ОП_{крит} + 0,05$ .

## 9.2. Интерпретация результатов.

ОП сыворотки	Результат	Титр IgG
$ОП_{обр} \leq ОП_{крит} - 0,05$	отрицательный	–
$ОП_{крит} - 0,05 < ОП_{обр} < ОП_{крит} + 0,05$	сомнительный	–
$ОП_{крит} + 0,05 \leq ОП_{обр} \leq 1,5 \times ОП_{крит}$	слабоположительный	1:5
$1,5 \times ОП_{крит} < ОП_{обр} \leq 2 \times ОП_{крит}$	положительный	1:10
$2 \times ОП_{крит} < ОП_{обр} \leq 3 \times ОП_{крит}$	сильноположительный	1:20
$3 \times ОП_{крит} < ОП_{обр} \leq 4 \times ОП_{крит}$	сильноположительный	1:40
$ОП_{обр} > 4 \times ОП_{крит}$	сильноположительный	1:80

*Пациентам с сомнительными и положительными результатами рекомендуется дополнительное обследование (выявление возбудителя, обследование парных сывороток). Все клинические и лабораторные данные должны быть рассмотрены в совокупности.*

## 10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Транспортирование набора должно проводиться при температуре (2–8) °С. Допускается транспортирование при температуре до 25 °С не более 10 суток. Замораживание не допускается.

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре (2–8) °С. Замораживание не допускается.

10.3. Срок годности набора реагентов – 12 месяцев со дня выпуска.

*По вопросам, касающимся качества набора, обращаться в АО «Вектор-Бест» по адресу:*

*630559, п. Кольцово, Новосибирской обл, Новосибирского района, а/я 121,*

*тел.: (383) 332-92-49, 227-60-30;*

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

*E-mail: plkobtk@vector-best.ru*

*и в Институт стандартизации и контроля лекарственных средств ФГУ «НЦ ЭСМП» Росздравнадзора по адресу: 117246, Москва, Научный проезд, д.14А, тел.: (495) 120-60-95, 120-60-96.*

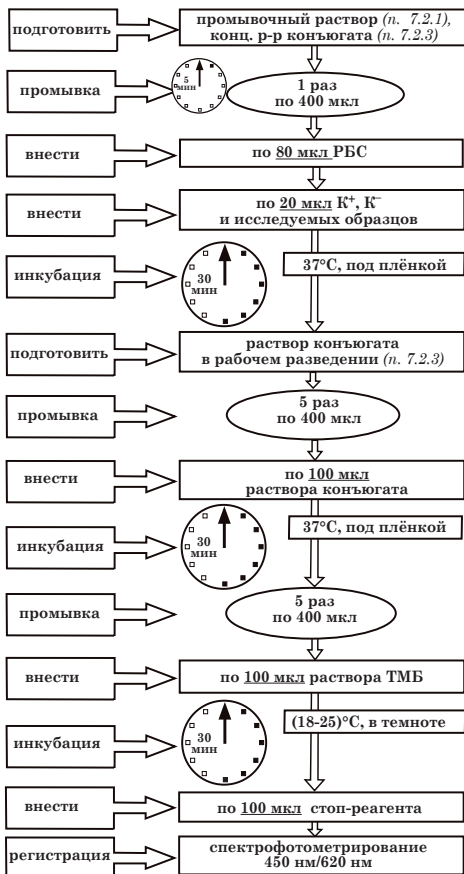
### ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ:

- Набор реагентов предназначен для профессионального применения и должен использоваться обученным персоналом;
- При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются (*утилизируются*) в соответствии с












СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами». Дезинфекцию наборов следует проводить по МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения»;

- Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007;
- Не применять набор реагентов по назначению после окончания срока годности;
- Транспортирование должно проводиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида.
- Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации;
- Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности;
- Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.
- Производитель обязуется за свой счёт заменить изделие, технические и функциональные характеристики (*потребительские свойства*) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

## Схема анализа D-2254



## ГРАФИЧЕСКИЕ СИМВОЛЫ

	Номер по каталогу		Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>
	Содержимого достаточно для проведения n количества тестов		Не стерильно
	Код партии		Температурный диапазон
	Дата изготовления: XXXX-XX-XX Формат даты: год-месяц-число		Изготовитель
	Использовать до: XXXX-XX-XX Формат даты: год-месяц-число		Обратитесь к Инструкции по применению
	Осторожно! Обратитесь к Инструкции по применению		

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

20.04.16

**АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО  
«ВЕКТОР-БЕСТ»**

Международный сертификат  
ISO 13485

**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@vector-best.ru](mailto:vbmarket@vector-best.ru)

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