

**ИНСТРУКЦИЯ**  
**по применению набора реагентов**  
**"ИФА-Мико-гоминис-IgA/IgM/IgG"**  
Тест-система иммуноферментная для выявления  
антител классов А, М и G к *Mycoplasma hominis*

**Комплект № 3 "ИФА-мико-гоминис-IgG"**  
Тест-система иммуноферментная для выявления  
иммуноглобулинов класса G к *Mycoplasma hominis*

*Регистрационное удостоверение №ФСР 2012/13564 от 28 июня 2012 г*

## НАЗНАЧЕНИЕ

Выявление видоспецифических иммуноглобулинов класса G к *Mycoplasma hominis* в сыворотке (плазме) крови человека методом непрямого иммуноферментного анализа (ИФА) при "ручной" постановке и с использованием ИФА-анализаторов.

## СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

|                                                                                  |                                                                                                                                                                          |                    |
|----------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|
| Иммуносорбент                                                                    | рекомбинантный антиген <i>Mycoplasma hominis</i> , сорбированный в лунках 96-луночного разборного полистиролового планшета для иммунологических реакций с плоским дном   | 1 планшет          |
|                                                                                  | <i>допускается раздельная упаковка стрипов (по 1-4 стрипа в пакете)</i>                                                                                                  |                    |
| Контрольный положительный образец (K <sup>+</sup> )                              | инактивированный; прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость красного цвета                                                                                           | 1 фл.<br>(1,5 мл)  |
| Контрольный отрицательный образец (K <sup>-</sup> )                              | инактивированный; прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость желтого цвета                                                                                            | 1 фл.<br>(2,5 мл)  |
| Конъюгат                                                                         | антитела моноклональные мышиные против иммуноглобулинов человека класса G, конъюгированные с пероксидазой хрена; прозрачная или опалесцирующая жидкость зеленого цвета   | 1 фл.<br>(12 мл)   |
| 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином [ФСБ-Т(x25)] | прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная пенящаяся жидкость, возможно выпадение осадка солей белого цвета, растворяющегося при температуре 37 °C в течение 30 мин | 1 фл.<br>(40 мл)   |
| Раствор для разведения образцов (РРО)                                            | прозрачная или опалесцирующая жидкость фиолетового цвета                                                                                                                 | 1 фл.<br>(12 мл)   |
| Раствор индикаторный (РИ);                                                       | прозрачная бесцветная или светло-желтого цвета жидкость                                                                                                                  | 1 фл.<br>(12 мл)   |
| Стоп-реагент                                                                     | прозрачная бесцветная жидкость                                                                                                                                           | 1 фл.<br>(12,5 мл) |

Примечания. 1. Набор включает все реагенты, необходимые для постановки ИФА, кроме очищенной (дистиллированной или деионизированной) воды.

2. ФСБ-Т(x25), РИ, стоп-реагент – унифицированы для всех наборов ЗАО "ЭКОлаб", в которых используются указанные реагенты.

Набор может быть дополнительно укомплектован:

вспомогательными пластиковыми емкостями (4 шт.),

одноразовыми наконечниками для автоматических пипеток на 4-200 мкл (16 шт.)

липкой пленкой для планшетов (4 шт.).

Компоненты набора упакованы в коробку, в коробку вложена инструкция по применению.

По желанию потребителя базовая комплектация набора (число индивидуальных упаковок с реагентами и их объемы) может быть изменена.

### **ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ**

Базовый вариант комплектации набора позволяет исследование 96 образцов, включая контрольные (на контрольные образцы используется 2 или 4 лунки). Предусмотрена возможность проведения отдельных исследований с использованием необходимого количества стрипов:

| Число стрипов              | 1   | 2    | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     | 10    | 11    | 12    |
|----------------------------|-----|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Лунок для контроля         | 2   | 4    | 4     | 4     | 4     | 4     | 4     | 4     | 4     | 4     | 4     | 4     |
| Число исследуемых образцов | 1-6 | 7-12 | 13-20 | 21-28 | 29-36 | 37-44 | 45-52 | 53-60 | 61-68 | 69-76 | 77-84 | 85-92 |

### **ПРИНЦИП МЕТОДА**

При наличии в исследуемом образце иммуноглобулинов класса G к *Mycoplasma hominis* они во время первой инкубации связываются с антигеном *Mycoplasma hominis*, сорбированным на поверхности лунок полистиролового планшета. Этот комплекс во время второй инкубации связывается с конъюгатом – антителами против IgG человека, мечеными пероксидазой хрена. Далее, после добавления индикаторного раствора (хромоген - тетраметилбензидин) в результате ферментативной реакции реакционная смесь в лунках планшета окрашивается пропорционально концентрации антител к *Mycoplasma hominis*. Реакция останавливается добавлением стоп-реагента. Интенсивность окрашивания (оптическая плотность) регистрируется с помощью спектрофотометра.

### **АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА**

Диагностическая чувствительность набора при определении на сыворотках стандартной панели предприятия, содержащих антитела класса G к *Mycoplasma hominis* – 100 %.

Диагностическая специфичность набора при определении на сыворотках стандартной панели предприятия, не содержащих антитела к *Mycoplasma hominis* – 100 %.

### **ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ**

Сыворотка (плазма) крови человека объемом не менее 20 мкл.

Образцы до исследования можно хранить не более 7 сут при температуре от 2 до 8 °C или до 3 мес при температуре минус 20 °C или более низкой. Допускается только однократное замораживание-размораживание образцов. Размороженные образцы перед исследованием тщательно перемешать.

Не допускается использование для исследования образцов с повышенным содержанием липидов и (или) с признаками гемолиза, и (или) с видимым микробным проростом.

Образцы, содержащие осадок, перед анализом отцентрифугировать в течение 10-15 мин при 2500-3000 об/мин.

### **МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ**

Набор биологически безопасен, однако с исследуемыми образцами необходимо обращаться как с потенциально инфицированным материалом.

Стоп-реагент при попадании на незащищенную кожу и слизистые может вызывать химические ожоги. В случае попадания на кожу – немедленно промойте пораженный участок водой.

### **СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ**

#### **Оборудование и материалы (для "ручной" постановки)**

Дозаторы пипеточные (пипетки полуавтоматические одно- и многоканальные переменного объема) для внесения реагентов в лунки планшета с погрешностью дозирования не более 5 % с наконечниками полипропиленовыми одноразовыми.

Ручные, или автоматические промыватели, или восьми- и двенадцатиканальные пипеточные дозаторы для промывания лунок планшета.

Спектрофотометр вертикального сканирования для измерения оптической плотности в лунках планшета при 450 нм и/или в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620-650 нм.

Центрифуга лабораторная на 2,5-3,0 тыс. об/мин, термостат на 37 °С, холодильник бытовой, фильтровальная бумага.

Вода очищенная (дистиллированная или деионизированная).

70 %-ный раствор спирта этилового и 6 %-ный раствор перекиси водорода (дез.растворы) или растворы иных дезинфектантов, разрешенных к применению СП 1.32322-08, кроме хлорсодержащих.

#### **Приготовление рабочих растворов реагентов для ИФА**

Перед работой извлечь набор из холодильника, вскрыть упаковку и выдержать все реагенты перед проведением анализа не менее 30 мин при температуре от 18 до 25 °С.

#### **Приготовление рабочего промывочного раствора (ФСБ-Т)**

При выпадении осадка солей в ФСБ-Т(х25) прогреть его при температуре 37 °С до полного растворения осадка.

При использовании всего планшета содержимое флакона с ФСБ-Т(х25) довести водой очищенной до 1 л.

При дробной постановке использовать соотношения объемов ФСБ-Т(х25) и воды, указанные в табл. 1 для разного числа используемых стрипов.

Таблица 1

| Число стрипов  | 2 | 3  | 4  | 5  | 6  | 7  | 8  | 9  | 10 | 11 |
|----------------|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| ФСБ-Т(х25), мл | 7 | 10 | 13 | 17 | 20 | 23 | 27 | 30 | 33 | 37 |

|                    |           |           |           |           |           |           |           |           |           |           |
|--------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Вода очищенная, мл | до<br>175 | до<br>250 | до<br>325 | до<br>425 | до<br>500 | до<br>575 | до<br>675 | до<br>750 | до<br>825 | до<br>925 |
|--------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|

Готовый рабочий промывочный раствор хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 14 сут.

### **Приготовление остальных реагентов**

Иммуносорбент, К<sup>-</sup>, К<sup>+</sup>, РРО, конъюгат, РИ, стоп-реагент – готовы к применению. После вскрытия упаковок неиспользованные реагенты допускается хранить в плотно закрытых упаковках при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности.

### **Проведение ИФА ("ручная" постановка)**

**Внимание! Соблюдение указанных ниже температуры и времени инкубации планшетов на каждой стадии постановки крайне важно для получения достоверных результатов.**

1. Извлечь из упаковки рамку планшета и необходимое число стрипов. Неиспользованные стрипы допускается хранить в плотно закрытом пакете с влагопоглотителем при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности.

Стрипы промыть 1 раз ФСБ-Т, внося в лунки 350-370 мкл раствора. При наличии промывателя, позволяющего производить промывку в режиме "Overflow", использовать именно этот режим. По окончании промывки остатки раствора удалить из лунок, постукивая перевернутым планшетом по сложенной в несколько слоев фильтровальной бумаге.

2. При использовании 1 стрипа в одну лунку внести 100 мкл К<sup>+</sup>, в следующую лунку – 100 мкл К<sup>-</sup>, в остальные лунки – по 100 мкл РРО.

При использовании двух и более стрипов в две лунки внести по 100 мкл К<sup>+</sup>, и в две лунки по 100 мкл К<sup>-</sup>, в остальные лунки – по 100 мкл РРО.

В лунки с РРО внести исследуемые образцы (по лунке на образец) – по 20 мкл. Раствор перемешать 5 раз пипетированием, при этом цвет РРО должен измениться.

3. Планшет заклеить липкой пленкой. Инкубировать 30 мин при температуре 37°С.

4. С помощью промывателя удалить жидкость из лунок, 5 раз промыть планшет ФСБ-Т, как указано в п. 1.

5. Во все лунки внести по 100 мкл конъюгата.

6. Планшет заклеить липкой пленкой. Инкубировать 30 мин при температуре 37 °С.

7. С помощью промывателя удалить жидкость из лунок, 5 раз промыть планшет ФСБ-Т, как указано в п. 1.

8. Во все лунки внести по 100 мкл РИ, планшет заклеить липкой пленкой, поместить в защищенное от света место и инкубировать 15 мин при температуре 37°С.

9. Во все лунки (в той же последовательности, с которой вносился РИ) внести по 100 мкл стоп-реагента, осторожно (постукиванием по планшету) перемешать содержимое лунок и не более чем через 10 мин приступить к учету результатов.

## Регистрация и учет результатов

Результаты ИФА регистрировать спектрофотометрически, измеряя оптическую плотность (ОП) при длине волны 450 нм (допустимо использование фильтра сравнения с длиной волны 620-650 нм). Нулевой уровень («бланк») установить по воздуху.

Результаты ИФА учитывать при следующих условиях:

значение ОП К<sup>+</sup> не менее 1,0;

среднее значение ОП К<sup>-</sup> не более 0,2.

В противном случае исследование необходимо повторить.

Рассчитать критическое значение оптической плотности ОП<sub>крит</sub> по формуле:

ОП<sub>крит</sub> = ОП<sub>К<sup>-</sup> ср.</sub> + 0,20.

## Интерпретация результатов

| Соотношение<br>ОП <sub>обр</sub> и ОП <sub>крит</sub>                                                  | Интерпретация результатов                                                                                                                                                                                                                                      | Титр IgG      |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| ОП <sub>обр</sub> < 0,9 × (ОП <sub>крит</sub> )                                                        | <b>Отрицательный результат.</b> Указывает, что исследуемый образец либо не содержит антител класса G к <i>Mycoplasma hominis</i> , либо уровень антител не детектируется. При этом образцы могут содержать антитела класса A или M к <i>Mycoplasma hominis</i> | Менее<br>1:5  |
| 0,9 × (ОП <sub>крит</sub> ) < ОП <sub>обр</sub><br>ОП <sub>обр</sub> < 1,2 ×<br>(ОП <sub>крит</sub> ). | <b>Сомнительный результат «серая зона».</b> Повторить анализ. Если повторное исследование выявило, что ОП <sub>обр</sub> меньше ОП <sub>крит</sub> . – результат считается отрицательным.                                                                      | 1:5           |
| 1,2 × (ОП <sub>крит</sub> .) < ОП <sub>обр</sub><br>ОП <sub>обр</sub> < 4 × (ОП <sub>крит</sub> .)     | <b>Слабоположительный результат.</b> Указывает либо на постинфекционный период, либо раннюю стадию сероконверсии. Рекомендуется провести повторное исследование через 2-3 недели                                                                               | 1:5 –<br>1:10 |
| 4 × (ОП <sub>крит</sub> .) < ОП <sub>обр</sub><br>ОП <sub>обр</sub> < 8 × (ОП <sub>крит</sub> .)       | <b>Положительный</b>                                                                                                                                                                                                                                           | 1:20          |
| 8 × (ОП <sub>крит</sub> .) < ОП <sub>обр</sub><br>ОП <sub>обр</sub> < 10 × (ОП <sub>крит</sub> .)      | <b>Сильноположительный</b>                                                                                                                                                                                                                                     | 1:40          |
| ОП <sub>обр</sub> > 10 × (ОП <sub>крит</sub> )                                                         | <b>Сильноположительный</b>                                                                                                                                                                                                                                     | 1:80          |

Повторно взятые образцы сыворотки крови желательно анализировать одновременно с предыдущими («парные» сыворотки), что позволяет с большей достоверностью оценивать динамику специфических антител.

При исследовании парных сывороток достоверными критериями для серологического диагноза формы инфекции (острая, хроническая, перенесенная) и успешности терапии являются:

двукратное повышение/понижение титра видоспецифических IgA;

двукратное повышение/понижение титра видоспецифических IgA в комбинации с двух-трехкратным повышением/понижением титров IgG;  
сероконверсия одного из классов антител.

### **ПОСТАНОВКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИФА-АНАЛИЗАТОРОВ**

Подготовить прибор в соответствии с инструкцией по его эксплуатации, ввести программу анализа, соответствующую используемому набору, и провести анализ.

### **СРОК ГОДНОСТИ**

Срок годности набора – 1 год. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

### **ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ**

Хранение - в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8 °С. Замораживание не допускается.

Транспортирование - при температуре от 2 до 8 °С. Замораживание не допускается. Допускается транспортирование при температуре от 9 до 25 °С в течение 10 сут.

### **УСЛОВИЯ ОТПУСКА**

Для учреждений здравоохранения.

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться по адресу 142530 Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1. ЗАО "ЭКОлаб"; тел. (49643) 3-23-11, факс (49643) 3-30-93 – отдел сбыта, (49643) 3-37-30 – ОБТК и в учреждение, уполномоченное Росздравнадзором на проведение Государственного контроля указанной продукции.

## КРАТКАЯ СХЕМА ПОСТАНОВКИ ИФА "ИФА-Мико-гоминис-IgG"

| <b>Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!</b> |                                                                                                                                                                                           |
|--------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Промыть</b>                                                           | 1 раз ФСБ-Т                                                                                                                                                                               |
| <b>Внести</b>                                                            | в одну (или две лунки) - 100 мкл K <sup>+</sup> , в одну (или две лунки) - 100 мкл K <sup>-</sup> , в остальные – по 100 мкл РРО и по 20 мкл исследуемых образцов (по 1 лунке на образец) |
| <b>Инкубация</b>                                                         | 30 мин, 37 °С                                                                                                                                                                             |
| <b>Промыть</b>                                                           | 5 раз ФСБ-Т                                                                                                                                                                               |
| <b>Внести</b>                                                            | во все лунки по 100 мкл конъюгата                                                                                                                                                         |
| <b>Инкубация</b>                                                         | 30 мин, 37 °С                                                                                                                                                                             |
| <b>Промыть</b>                                                           | 5 раз ФСБ-Т                                                                                                                                                                               |
| <b>Внести</b>                                                            | по 100 мкл раствора индикаторного в каждую лунку                                                                                                                                          |
| <b>Инкубация</b>                                                         | 15 мин, 37 °С                                                                                                                                                                             |
| <b>Внести</b>                                                            | по 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку                                                                                                                                                   |
| <b>Измерить</b>                                                          | ОП при 450 нм (референс 620-650 нм), «бланк» - по воздуху                                                                                                                                 |

*Апрель 2015 г.*