

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ИММУНОФЕРМЕНТНОЙ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ
АНТИТЕЛ КЛАССА М К *Mycoplasma hominis*
"Микоплазма –IgM "

Настоящая инструкция распространяется на "Микоплазма – IgM" - тест-систему иммуноферментную, предназначенную для выявления индивидуальных антител класса М к *Mycoplasma hominis* методом непрямого иммуноферментного анализа (ИФА) на твердофазном носителе.

Набор состоит из 8 реагентов:

1. Иммуносорбент – антиген *Mycoplasma hominis*, сорбированный в лунках планшета;
2. Фосфатно-солевой буферный раствор с твином (ФСБ-Т) – прозрачная, слегка опалесцирующая, бесцветная жидкость;
3. Разводящий буферный раствор для сывороток (РБР-С) – прозрачная опалесцирующая жидкость фиолетового цвета;
4. Раствор конъюгата моноклональных антител мыши к IgM человека, конъюгированные с пероксидазой хрена (**РКг- IgM**) – прозрачная опалесцирующая жидкость **синего** цвета;
5. Положительный контрольный образец (К+ IgM) – инактивированная сыворотка крови человека, содержащая антитела классов М к микоплазме - прозрачная, слегка опалесцирующая, жидкость **синего** цвета;
6. Отрицательный контрольный образец (К-) - инактивированная сыворотка крови человека, не содержащая специфических антител к микоплазме – прозрачная, слегка опалесцирующая, жидкость желтого цвета;
7. Хромоген – тетраметилбензидин - субстрат (ТМБ–субстрат) – бесцветная или светло-желтого цвета жидкость;
8. Стоп-реагент – прозрачная бесцветная жидкость.

Тест-система " Микоплазма – IgM" рассчитана на 96 определений, включая контрольные образцы.

Назначение

Тест-система предназначена как для выявления индивидуальных специфических антител класса М к микоплазме в сыворотке (плазме) крови человека

Способ применения

1. Приготовление реагентов и исследуемого материала

1.1 Приготовление ФСБ-Т

При наличии во флаконе с ФСБ-Т осадка солей флакон с концентратом выдержать при температуре (37±1) °С до полного растворения солей.

Содержимое одного флакона с ФСБ-Т перенести в мерный цилиндр вместимостью 1 л и довести объем раствора до 650 мл водой дистиллированной.

Хранение: неиспользованный концентрат ФСБ-Т в течение срока годности набора при температуре от 2 до 8 °С, раствор ФСБ-Т – в течение месяца при температуре от 2 до 8 °С.

При использовании одного или нескольких стрипов планшета необходимое количество ФСБ-Т готовиться в соответствии с таблицей 1.

Таблица 1

		Количество используемых стрипов											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Объем, мл	Концентрат ФСБ-Т, мл	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	26
	Вода дистил- лированная, мл	до 50	до 100	до 150	до 200	до 250	до 300	до 350	до 400	до 450	до 500	до 550	до 650

1.2 Подготовка РБР-С, РКг-IgM, К+ IgM, ТМБ-субстрата

РБР-С, РКг-IgM, К+ IgM, ТМБ-субстрат – готовы к использованию

Хранение: неиспользованные РБР-СРКг-IgM, К+ IgM, ТМБ-субстрат хранят в течение срока годности набора при температуре от 2 до 8 °С.

При работе с ТМБ-субстратом и раствором конъюгата (РКг) необходимо отбирать раствор непосредственно из флакона новыми наконечниками.

1.3 Подготовка стоп-реагента

Стоп-реагент готов к использованию.

Хранение: не ограничено.

2. Подготовка исследуемых сывороток

Для выявления антител класса можно использовать сыворотку (плазму) крови человека как свежеприготовленную, так и хранившуюся в течение 24 ч при температуре от 2 до 8° С или в течение трех месяцев при температуре минус 20 °С. Для проведения анализа использовать образцы сыворотки или плазмы крови человека объемом не менее 50 мкл.

3. Проведение ИФА

Комплект перед проведением анализа выдержать в течение 30 мин при температуре от 20 до 25° С.

3.1 Планшет промыть один раз ФСБ-Т, при этом в каждую лунку планшета внести от 200 до 250 мкл раствора. По окончании промывки остатки жидкости удалить активным встряхиванием, постукивая планшетом по сложенной в несколько раз фильтровальной бумаге.

3.2. Для внесения контрольных сывороток можно использовать любые лунки планшета. Для этого в лунку внести по 100 мкл (К+ **IgM**), в две другие лунки планшета - по 100 мкл К-. В остальные лунки планшета внести по 100 мкл РБР-С. *При постановке ИФА на одном стрипе допускается использовать для К- и К+ - по одной лунке.*

В остальные лунки планшета внести по **10 мкл** исследуемых сывороток. Раствор перемешать пять раз пипетированием, при этом цвет РБР-С должен измениться.

После этого планшет закрыть крышкой или заклеить клейкой лентой и инкубировать в течение 30 мин при температуре (37±1) °С.

3.3 По окончании инкубации планшет промыть ФСБ-Т пять раз, как описано в п.3.1.

3.4. После промывки и удаления влаги в каждую лунку планшета внести по 100 мкл раствора конъюгата против иммуноглобулинов М человека (РКг-IgM) **синего цвета**. Планшет закрыть крышкой или заклеить клейкой лентой и инкубировать в течение 30 мин при температуре (37±1)° С.

3.5. По окончании инкубации планшет промыть ФСБ-Т пять раз, как описано в п.3.1.

3.6. Внести в каждую лунку планшета по 100 мкл раствора ТМБ- субстрата.

Планшет закрыть крышкой или заклеить клейкой лентой и поместить на 15 мин в защищенное от света место при температуре (37±1)° С.

3.7. Реакцию остановить внесением в каждую лунку планшета по 50 мкл стоп-реагента.

4. Учет результатов

Результаты ИФА регистрируют на спектрофотометре. Оптическую плотность (ОП) измеряют при длине волны 450 нм. Нулевой уровень («бланк») задают по воздуху. Результаты учитывают только в том случае, если значение ОП в лунках с К- среднее значение ОП (ОПК-) не более 0,2, в лунках с (К+ **IgG**) среднее значение ОП (ОПК+) не менее 1,0, в лунках с (К+ **IgM**) среднее значение ОП (ОПК+) не менее 0,5.

Рассчитывают ОПкрит. по формуле:

$$\text{ОПкрит.} = \text{ОПК-(ср.)} + 0,2,$$

где ОПК-(ср.) – среднее значение ОП (ОПК-) по двум лункам.

Если значение оптической плотности исследуемого образца ОПиссл. $\leq 0,9 \times \text{ОПкрит}$, то результат анализа считают отрицательным. Если ОПиссл. попадает в интервал от $0,9 \times \text{ОПкрит}$ до $1,2 \times \text{ОПкрит}$, то результат анализа сомнительный. Рекомендуется повторить анализ такой сыворотки. Если ОПиссл. $> 1,2 \times \text{ОПкрит}$, то результат анализа исследуемого образца считают положительным.

5. Форма выпуска

Тест-систему "Микоплазма –IgM" выпускают в виде набора, упакованного в коробку из картона, куда вкладывают инструкцию по применению.

Набор состоит из следующих компонентов: иммуносорбент, запаянный в пластиковый пакет, – 1 шт.; ФСБ-Т по 26 мл - 1 флакон; РБР-С по 12 мл - 1 флакон, РКг-IgM по 12мл – 1 флакон; К+ IgM по 1,5 мл – 1 флакон; К- по 2.5 мл - 1 флакон; ТМБ- субстрат по 12 мл – 1 флакон; стоп-реагент по 6 мл - 1 флакон,

6. Срок годности, условия хранения и транспортирования

Срок годности набора 12 месяцев.

Хранение при температуре от 2 до 8° С.

Транспортирование производить при температуре от 2 до 8° С. Допускается транспортирование при температуре не выше + 27 °С в течение 5 дней.

Не допускать замораживания.