

**ИНСТРУКЦИЯ  
по применению набора реагентов**

**"ИФА-антиУреаплазма-IgM"**

**Тест-система иммуноферментная для выявления имму-  
ноглобулинов класса М  
к *Ureaplasma urealyticum***

*Регистрационное удостоверение №ФСР 2011/12494 от 20.12.2011 г.*

Выявление иммуноглобулинов класса М к *Ureaplasma urealyticum* в сыворотке (плазме) крови человека методом непрямого иммуноферментного анализа (ИФА) на твердофазном носителе при "ручной" постановке и с использованием ИФА-анализаторов.

### СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

Иммуносорбент	антиген <i>Ureaplasma urealyticum</i> , сорбированный на 96-луночном разборном полистироловом планшете для иммунологических реакций с плоским дном	1 планшет
Контрольный положительный образец- ( $K^+$ )	инактивированный; прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость синего цвета	1 фл. (1,5 мл)
Контрольный отрицательный образец ( $K^-$ )	инактивированный; прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость желтого цвета	1 фл. (2,5 мл)
Конъюгат	антитела мышинные моноклональные против иммуноглобулинов человека класса М, меченые пероксидазой хрена; прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость синего цвета	1 фл. (12 мл)
Раствор для разведения образцов ( <b>РРО</b> )	прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость фиолетового цвета	1 фл. (12 мл)
25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином [ <b>ФСБ-Т(х25)</b> ]	прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная пенящаяся жидкость, возможно выпадение осадка солей белого цвета, растворяющегося при температуре 37 °С в течение 30 мин.	1 фл. (40 мл)
Раствор индикаторный ( <b>РИ</b> );	прозрачная бесцветная жидкость	1 фл. (12 мл)
Стоп-реагент	прозрачная бесцветная жидкость.	1 фл. (12,5 мл)

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

2. ФСБ-Т(х25), стоп-реагент – унифицированы для всех наборов ЗАО "ЭКОлаб", в которых используются указанные реагенты. Допускается использование разных серий этих реагентов.

Набор может быть дополнительно укомплектован:

вспомогательными пластико-выми емкостями (4 шт.),  
 одноразовыми наконечниками для автоматических пипеток (16 шт.)  
 клейкой пленкой для планшетов (4 шт.).

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

По желанию потребителя число индивидуальных упаковок реагентов и их объемы, указанные для базового варианта комплектации, могут быть изменены.

### **ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ**

Базовый вариант набора позволяет одномоментное 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
Число лунок для контр.	2	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Число испл. 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 ДЕЙСТВИЯ**

При наличии в исследуемом образце иммуноглобулинов класса М к *Ureaplasma urealyticum* происходит связывание их с антигеном *Ureaplasma urealyticum*, сорбированным в лунках планшета-иммуносорбента, образовавшийся комплекс антиген-антитело реагирует с внесенным в реакционную среду раствором конъюгата – антителами к IgM человека, мечеными пероксидазой. Образовавшийся комплекс "антиген-антитело-конъюгат" выявляется в реакции с субстратно-индикаторным раствором, содержащим хромоген – тетраметилбензидин, в результате которой меняется цвет (оптическая плотность) реакционной смеси в лунке планшета; изменение регистрируется спектрофотометрически.

### **АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ**

Диагностическая чувствительность набора при определении на сыворотках стандартизированной панели предприятия, содержащих антитела класса М к *Ureaplasma urealyticum* – 100 %.

Диагностическая специфичность набора при определении на сыворотках стандартизированной панели предприятия при определении на сыворотках стандартной панели предприятия, не содержащих антитела к *Ureaplasma urealyticum* – 100 %"

### **ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ**

Нативная сыворотка (плазма) крови человека объемом не менее 20 мкл. Возможно использование образцов, содержащих ЭДТА, цитрат натрия, гепарин.

Образцы до исследования можно хранить не более 7 сут при температуре от 2 до 8 °С или до 3 мес при температуре минус 20 °С 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**

### **"РУЧНАЯ" ПОСТАНОВКА**

#### **Оборудование и материалы**

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	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
ФСБ-Т(х25), мл	3	7	10	13	17	20	23	27	30	33	37
Вода очищенная, мл	до 75	до 175	до 250	до 325	до 425	до 500	до 575	до 675	до 750	до 825	до 925

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

### **Приготовление остальных реагентов**

Иммуносорбент, контрольные образцы, РРО, конъюгаты, 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**

**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.

2. При использовании одного стрипа в одну лунку внести 100 мкл  $K^+$ , в следующую лунку – 100 мкл  $K^-$ , в остальные лунки – по 80 мкл РРО.

При использовании двух и более стрипов в две лунки внести по 100 мкл  $K^+$ , и в две лунки по 100 мкл  $K^-$ , в остальные лунки – по 80 мкл РРО.

Одну лунку оставить с РРО для контроля конъюгата.

В остальные лунки с РРО внести по 20 мкл исследуемых сывороток. Раствор перемешать 5 раз пипетированием, при этом цвет РРО должен измениться.

3. Планшет закрыть крышкой или заклеить клейкой лентой. Инкубировать 30 мин при температуре 37°С в защищенном от света месте.

4. По окончании инкубации аспирировать содержимое лунок и промыть лунки планшета 5 раз промывочным раствором и 1 раз водой дистиллированной в режиме «overflow» или 7 раз промывочным раствором и 1 раз водой дистиллированной при отсутствии режима «overflow», добавляя в каждую лунку не менее 400 мкл жидкости. Время между заполнением и аспирацией (замачивание) должно быть не менее 30 сек.

**Рекомендуется использовать:**

- режим отмывки с переполнением – «overflow» - с внесением в лунки по 600-700 мкл рабочего промывочного раствора;

- поперечную аспирацию раствора из лунок – режим «crosswise».

Необходимо следить за полной аспирацией после каждого цикла отмывки (остаточный объем в лунках не должен превышать 10 мкл).

Сохранность иммуносорбента между операциями 15 минут.

5. Во все лунки внести по 100 мкл конъюгата, выдержать 30 мин при температуре 37 °С в защищенном от света месте.

6. С помощью промывателя удалить жидкость из лунок, промыть планшет, как указано в п. 4.

2.7. Во все лунки внести по 100 мкл раствора индикаторного, поместить планшет в защищенное от света место и выдержать 15 мин при температуре 37 °С.

2.8. Во все лунки (в той же последовательности, с которой вносился индикаторный раствор) внести по 100 мкл стоп-реагента, осторожно (постукиванием по планшету) перемешать содержимое лунок и приступить к регистрации результатов (ОП реакционной смеси после внесения стоп-реагента стабильна не более 10 мин).

**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 или 630 нм). Нулевой уровень («бланк») задают по воздуху.

Результаты ИФА учитываются только при следующих условиях:

ОП в лунке с контролем конъюгата – не более 0,15

среднее значение  $ОП_{K+}$  – не менее 1,0;

среднее значение  $ОП_{K-}$  – не более 0,2.

В противном случае исследование необходимо повторить.

Рассчитать критическое значение оптической плотности  $ОП_{крит}$  по формуле:

$$ОП_{крит} = ОП_{K- ср.} + 0,200$$

где  $ОП_{K- ср.}$  – среднее значение ОП в лунках с  $K^-$ .

Образец сыворотки учитывать как положительный, если значение ОП в лунке с ним выше или равно  $1,2 \times ОП_{крит}$ .

Образец сыворотки учитывать как отрицательный, если значение ОП в лунке с ним меньше или равно  $0,9 \times ОП_{крит}$ .

Если ОП исследуемой сыворотки попадает в интервал от  $1,2 \times ОП_{крит}$  до  $0,9 \times ОП_{крит}$ , то результат анализа сомнительный. Рекомендуется повторить анализ такой сыворотки.

**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 «ИФА-антиУреаплазма-IgM», 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 качества указанной продукции.

**КРАТКАЯ СХЕМА ПОСТАНОВКИ ИФА**  
**(ИФА-антиУреаплазма-IgM)**

**Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!**

<b>Внести</b>	<p><i>При использовании одного стрипа</i>  в одну лунку – 100 мкл К<sup>+</sup>, в следующую лунку – 100 мкл К<sup>-</sup>, в остальные лунки – по 80 мкл РРО.  <i>При использовании двух и более стрипов</i>  в две лунки - по 100 мкл К<sup>+</sup>, и в две лунки по 100 мкл К<sup>-</sup>, в остальные лунки – по 80 мкл РРО.  Одну лунку оставить с РРО для контроля конъюгата/  В остальные лунки с РРО внести по 20 мкл исследуемых сывороток</p>
<b>Инкубация</b>	30 мин 37 °С
<b>Промыть</b>	<p><i>режим overflow</i>  5 раз ФСБ-Т и 1 раз водой очищенной  <i>без режима overflow</i>  7 раз ФСБ-Т и 1 раз водой очищенной</p>
<b>Внести</b>	100 мкл конъюгата в каждую лунку
<b>Инкубация</b>	30 мин 37 °С
<b>Промыть</b>	<p><i>режим overflow</i>  5 раз ФСБ-Т и 1 раз водой очищенной  <i>без режима overflow</i>  7 раз ФСБ-Т и 1 раз водой очищенной</p>
<b>Внести</b>	100 мкл РИ в каждую лунку
<b>Инкубация</b>	15 мин 37 °С
<b>Внести</b>	100 мкл стоп-реагента в каждую лунку
<b>Измерить</b>	ОП при 450 нм (референс 620-630 нм), "бланк" по воздуху