

"УТВЕРЖДАЮ"

Генеральный директор ЗАО "ЭКОлаб"

Т.Ю. Гашенко

2022 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов

«Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов классов А и G к
Ureaplasma urealyticum»
"ИФА-антиУреаплазма"

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов классов А и G к *Ureaplasma urealyticum*» "ИФА-антиУреаплазма" предназначен для одновременного и/или раздельного качественного и полуколичественного выявления иммуноглобулинов классов А и G к *Ureaplasma urealyticum* в сыворотке (плазме) крови человека методом непрямого иммуноферментного анализа (ИФА) на твердофазном носителе при "ручной" постановке и с использованием ИФА-анализаторов.

Функциональное назначение: скрининг и диагностика.

Применение изделия не имеет популяционных и демографических ограничений.

Для однократного применения набора по назначению.

Для клинической лабораторной диагностики *in vitro*.

Показания и противопоказания к применению изделия

Изделие предназначено для серологической диагностики уреаплазмоза.

Противопоказаний не существует.

Потенциальные потребители изделия

Лабораторные подразделения лечебно-профилактических учреждений.

Профессиональный уровень потенциальных пользователей

Врач клинической лабораторной диагностики, медицинский лабораторный техник.

Описание целевого анализа, сведения о его научной обоснованности.

Уреаплазмоз – это инфекционное поражение слизистых оболочек мочеполовых органов микробактериями рода уреаплазм. В медицине обращают внимание на два вида уреаплазм: *U. urealyticum* и *U. parvum*, т. к. именно они способны вызывать заболевания. Однако в большинстве случаев наличие у пациента уреаплазм не сопровождается никакими симптомами, т. е. эти бактерии могут присутствовать в микрофлоре здорового человека.

Уреаплазмы есть у 40-70% женщин, ведущих половую жизнь. У мужчин они встречаются реже.

Передача уреаплазм возможна половым путем или при родах.

Иногда эти бактерии могут быть причиной уретрита – воспаления мочеиспускательного канала.

После того как в организм попадают болезнетворные микроорганизмы, он начинает с ними бороться. Один из способов борьбы – это выработка антител – специальных белков-иммуноглобулинов. Существует несколько типов иммуноглобулинов: IgG, IgM, IgA.

Антитела класса IgG присутствуют в крови в наибольшем количестве (по сравнению с другими типами иммуноглобулинов). Как правило, при заражении они появляются не самыми первыми (позднее, чем IgM), зато их уровень остается высоким долгое время (месяцы и даже годы).

Кроме того, антитела IgG обеспечивают вторичный иммунный ответ (который и называют иммунитетом). Если человек, который уже однажды переболел этой болезнью, заразится еще раз, то IgG появятся быстрее и в большем количестве, чем прежде.

Антитела класса А присутствуют у человека в крови (сывороточный IgA) и в других биологических жидкостях: в слюне, слезах, молозиве и пр. (секреторный IgA). Роль сывороточного IgA не совсем ясна, его можно использовать для диагностики заболеваний. Уровень IgA (как и IgG) возрастает, когда в организм попадают чужеродные бактерии. Эти антитела можно обнаружить

не раньше, чем через неделю после инфицирования. Если лечение успешно – все бактерии погибли, – то уровень IgA постепенно (в течение нескольких месяцев) снижается.

В случае повторной инфекции уровень IgA опять повышается, причем антитела появляются в большем количестве и быстрее, чем в первый раз.

По внешним симптомам возбудителя определить невозможно, поэтому для точного диагноза (и выбора правильного метода лечения) нужны лабораторные тесты.

СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

Набор выпускается в трех базовых вариантах комплектации:

Комплект № 1 «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов классов А и G к *Ureaplasma urealyticum*» "ИФА-антиУреаплазма IgA/IgG" – для одновременного или раздельного выявления иммуноглобулинов классов А и G к *Ureaplasma urealyticum*.

Комплект № 2 «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса А к *Ureaplasma urealyticum*» "ИФА-антиУреаплазма IgA" – для выявления иммуноглобулинов класса А к *Ureaplasma urealyticum*.

Комплект № 3 «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса G к *Ureaplasma urealyticum*» "ИФА-антиУреаплазма IgG" – для выявления иммуноглобулинов класса G к *Ureaplasma urealyticum*.

Иммуносорбент	антиген <i>Ureaplasma urealyticum</i> , сорбированный на 96-луночном разборном полистироловом планшете для иммунологических реакций с плоским дном.	компл. № 1	компл. № 2	компл. № 3
		1 планшет	1 планшет	1 планшет
	<i>допускается раздельная упаковка стрипов (по 1-4 стрипа в пакете)</i>			
Контрольный положительный образец- (K^+_{AG})	инактивированный, содержит иммуноглобулины классов А и G к <i>Ureaplasma urealyticum</i> ; прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость красного цвета	1 фл. (1,5 мл)	-	-
Контрольный положительный образец- (K^+_A)	инактивированный, содержит иммуноглобулины класса А к <i>Ureaplasma urealyticum</i> ; прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость красного цвета	-	1 фл. (1,5 мл)	-
Контрольный положительный образец- (K^+_G)	инактивированный, содержит иммуноглобулины класса G к <i>Ureaplasma urealyticum</i> ; прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость красного цвета	-	-	1 фл. (1,5 мл)
Контрольный отрицательный образец (K^-)	инактивированный; прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость желтого цвета	1 фл. (2,5 мл)	1 фл. (2,5 мл)	1 фл. (2,5 мл)
Конъюгат-IgG	антитела мышиные моноклональные против иммуноглобулинов человека класса G, меченые пероксидазой хрена; прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость зеленого цвета	1 фл. (12 мл)	-	1 фл. (12 мл)
Конъюгат-IgA	антитела мышиные моноклональные против иммуноглобулинов человека класса А, меченые пероксидазой хрена; прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость желтого цвета	1 фл. (12 мл)	1 фл. (12 мл)	-
Раствор для разведения образцов	прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость фиолетового цвета	1 фл. (12 мл)	1 фл. (12 мл)	1 фл. (12 мл)

(РРО)				
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 °С в течение 30 мин.	1 фл. (40 мл)	1 фл. (40 мл)	1 фл. (40 мл)
Раствор индикаторный (РИ) ;	прозрачная бесцветная жидкость	1 фл. (12 мл)	1 фл. (12 мл)	1 фл. (12 мл)
Стоп-реагент	прозрачная бесцветная жидкость	1 фл. (12,5 мл)	1 фл. (12,5 мл)	1 фл. (12,5 мл)
Одноразовые наконечники для автоматических пипеток		16 шт.	16 шт.	16 шт.

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

2. **ФСБ-Т(x25)**, **стоп-реагент** – унифицированы для всех наборов ЗАО "ЭКОлаб", в которых используются указанные реагенты. Допускается использование разных серий этих реагентов.

3. **K+**, **K-** не содержат **HBsAg**, антитела к **ВГС**, **ВИЧ-1,2**.

4. В составе изделия отсутствуют материалы, вступающие в непосредственный или опосредованный контакт с организмом пациента и персонала, использующего изделие, при выполнении требований эксплуатационной документации (инструкции по применению).

5. В составе изделия отсутствуют лекарственные средства и фармацевтические субстанции.

Набор укомплектован принадлежностями:

Вспомогательными пластиковыми емкостями

– 4 шт.

Клейкой пленкой для планшетов

– 4 шт.

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

ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Базовый вариант комплекта № 1 "ИФА-антиУреаплазма IgA/IgG" при одновременном выявлении IgA- и IgG-антител позволяет одномоментное исследование 48 образцов, включая контрольные (по две лунки на каждый исследуемый образец; на контрольные образцы используется 6 лунок). Предусмотрена возможность проведения отдельных исследований с использованием необходимого количества стрипов:

Число стрипов	2	4	6	8	10	12
Число иссл. образцов	1-5	6-13	14-21	15-29	30-37	38-45

Базовые варианты комплекта № 1 "ИФА-антиУреаплазма IgA/IgG" при раздельном целевом выявлении IgA- или только IgG-антител, а также комплектов № 2 "ИФА-антиУреаплазма IgA" и №3 "ИФА-антиУреаплазма IgG" позволяют одномоментное исследование 96 образцов, включая контрольные (на контрольные образцы используется 2 или 3 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	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Число иссл. образцов	1-6	7-13	14-21	22-29	30-37	38-45	46-53	54-61	62-69	70-77	78-85	86-93

ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

При наличии в исследуемом образце иммуноглобулинов классов А и (или) G 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 IgG или IgA человека, меченными 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

Чувствительность набора определяется по стандартной панели образцов предприятия, содержащих антитела классов А и G к *Ureaplasma urealyticum* (СОП⁺-113), как процентное содержание образцов, определенных набором как положительные, и составляет 100%.

Специфичность набора определяется по стандартной панели образцов предприятия, не содержащих антитела классов А и G к *Ureaplasma urealyticum* (СОП-113), как процентное содержание образцов, определенных набором как отрицательные, и составляет 100%.

Диагностическая чувствительность набора реагентов: 99,75% - 100% (с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическая специфичность набора реагентов: 99,52% - 100% (с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическая чувствительность для каждого вида биологического материала составила:

Сыворотка крови человека: 99,41% – 100%

Плазма крови человека: 99,56% - 100%

Диагностическая специфичность для каждого вида биологического материала составила:

Сыворотка крови человека: 98,97% - 100%

Плазма крови человека: 99,14% - 100%

ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Сыворотка, плазма (с гепарином, ЭДТА, цитратом натрия) крови человека объемом не менее 30 мкл.

Сбор биологического материала должен производиться в соответствии с ГОСТ Р 53079.4-2008 «Обеспечение качества клинических лабораторных исследований».

Образцы до исследования хранить не более 7 суток при температуре от 2 до 8⁰С. При необходимости хранения образцов более 7 дней рекомендуется разделить их на аликвоты и хранить при температуре от минус 20 до минус 70⁰С. Размороженные образцы перед исследованием нужно тщательно перемешать. При работе с размороженными образцами следует учитывать, что каждый цикл оттаивания-замораживания приводит к разрушению выявляемых антител, снижая качество исследуемого материала. С целью получения достоверных результатов исследования рекомендуется использовать только однократное замораживание-оттаивание образцов. Размороженные образцы перед исследованием тщательно перемешать на лабораторном встряхивателе типа «Вортекс».

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

Потенциальный риск применения набора – класс 26 (Приказ МЗ РФ № 4н от 06.06.2012 г), ГОСТ 31508.

Набор биологически безопасен, однако с исследуемыми образцами необходимо обращаться как с потенциально инфицированным материалом. РРО содержат азид натрия в безопасной концентрации.

Стоп-реагент при попадании на незащищенную кожу и слизистые может вызывать химические ожоги. В случае попадания на кожу – немедленно промойте пораженный участок водой. Меры предосторожности при работе с набором – соблюдение правил "Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений" (Утв. Минздравом СССР 17 января 1991 г.), ГОСТ Р 52905–2007 (ИСО 15190:2003).

Набор реагентов, в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 "Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий" относится к классу А - отходы, не имеющие контакта с биологическими жидкостями пациентов, инфекционными больными и классу Б (эпидемиологически опасные отходы) – инфицированные и потенциально инфицированные отходы, материалы и инструменты, предметы, загрязненные кровью и/или другими биологическими жидкостями.

Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 "Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий" и МУ 287-113 "Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения".

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.

Анализатор иммуноферментный

Центрифуга лабораторная на 2,5-3,0 тыс. об/мин.

Термостат на 37 °С.

Холодильник бытовой, фильтровальная бумага.

Вортекс лабораторный, диапазон скоростей 250-3000 об/мин.

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 СанПин 3.3686-21, 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 концентрат при температуре 37 °С до полного растворения осадка.

При постановках с использованием ИФА-анализаторов 40 мл ФСБ-Т(х25) довести водой очищенной до 1 л.

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

Таблица 1

Реагент	Объем реагента, мл, настрипов											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
ФСБ-Т(х25)	3	7	10	13	17	20	23	27	30	33	37	40
Вода очищенная	до 75	до 175	до 250	до 325	до 425	до 500	до 575	до 675	до 750	до 825	до 925	до 1000

Готовый рабочий промывочный раствор хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 190 сут, при температуре от 18 до 25 °С – не более 30 суток.

Приготовление остальных реагентов

Иммуносорбент, контрольные образцы, 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

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

1. Одновременное выявление иммуноглобулинов А и G (комплект № 1)

1.1. Извлечь из пакета планшет, вскрыв выше замка «zip-lock», и установить на рамку необходимое для проведения ИФА количество стрипов (рекомендуется использовать два стрипа или их число, кратное двум – 4, 6, 8, 10, 12; при этом нечетные номера стрипов – 1, 3, 5, 7, 9, 11 используют для выявления IgA; четные номера стрипов – 2, 4, 6, 8, 10, 12 используют для выявления IgG; допускается использование также любого числа стрипов, однако в этом случае необходима дополнительная маркировка лунок, используемых для выявления IgA и IgG). Неиспользованные стрипы немедленно поместить обратно в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух, плотно закрыть «zip-lock» и поместить в холодильник.

Хранение вскрытого иммуносорбента возможно при температуре 2-8°С до истечения срока годности набора.

1.2. Внести контрольные образцы (по 100 мкл каждого в 2 лунки):

при постановке ИФА только на двух стрипах в лунки А обоих стрипов внести по 100 мкл K⁺, в лунки В – по 100 мкл K⁻;

при постановке ИФА на 4 и более стрипах для внесения контрольных образцов использовать первую пару стрипов.

В остальные лунки всех стрипов внести по 100 мкл РРО.

В лунки нечетных номеров стрипов с РРО внести по 10 мкл исследуемых образцов (исследование на IgA), в лунки четных номеров стрипов с РРО внести по 20 мкл исследуемых образцов (исследование на IgG).

1.3. Планшет закрыть крышкой или клейкой пленкой. Инкубировать 30 мин при температуре 37°С в защищенном от света месте.

1.4. С помощью промывателя удалить образцы из лунок, 5 раз промыть планшет промывочным раствором, 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.

Сохранность иммуносорбента между операциями 15 минут.

1.5. Во все использованные лунки нечетных номеров стрипов внести по 100 мкл конъюгата-IgA (желтого цвета), во все использованные лунки четных номеров стрипов внести по 100 мкл конъюгата-IgG (зеленого цвета).

1.6. Планшет закрыть крышкой или клейкой пленкой. Инкубировать 30 мин при температуре 37 °С в защищенном от света месте.

1.7. С помощью промывателя удалить жидкость из лунок, 5 раз промыть планшет как указано в п. 1.4.

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

1.9. Во все лунки (в той же последовательности, в 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 скрининга

Результаты ИФА регистрировать спектрофотометрически, измеряя оптическую плотность (ОП) при двух длинах волн – 450 нм и 620-650 нм. При отсутствии референс-фильтра на 620-650 нм оптическую плотность (ОП) измерять при длине волны 450 нм, а выведение спектрофотометра на нулевой уровень ("бланк") осуществлять по воздуху.

Результаты ИФА учитываются только при следующих условиях:

среднее значение $ОП(K^+_{AG})$ – 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

$$ОП_{крит.} = ОПK^-_{cp} + 0,2,$$

где $ОПK^-_{cp}$ – среднее значение ОП в лунках с K^- ;

0,2 – коэффициент, полученный экспериментальным путем.

Интерпретация результатов

При $ОП_{иссл.обр}$ больше $1,1 \times ОП_{крит}$ в лунках обоих стрипов образец считается положительным и содержащим иммуноглобулины классов А и G к *Ureaplasma urealyticum*.

При $ОП_{иссл.обр}$ больше $1,1 \times ОП_{крит}$ в лунке нечетного номера стрипа образец считается положительным и содержащим иммуноглобулины класса А к *Ureaplasma urealyticum*.

При $ОП_{иссл.обр}$ больше $1,1 \times ОП_{крит}$ в лунке четного номера стрипа образец считается положительным и содержащим иммуноглобулины класса G к *Ureaplasma urealyticum*.

При $ОП_{иссл.обр}$ меньше $0,9 \times ОП_{крит}$ в лунках обоих стрипов образец считается отрицательным, т.е. не содержащим иммуноглобулины классов А и G к *Ureaplasma urealyticum*.

При $ОП_{иссл.обр}$ в интервале от $0,9 \times ОП_{крит}$ до $1,1 \times ОП_{крит}$ образец считается сомнительным; исследование такого образца рекомендуется повторить.

2. Выявление иммуноглобулинов класса А (комплект № 1 или комплект № 2)

2.1. Извлечь из пакета планшет, вскрыв выше замка «zip-lock», и установить на рамку необходимое для проведения ИФА количество стрипов (используется любое число стрипов – от 1 до 12). Неиспользованные стрипы немедленно поместить обратно в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух, плотно закрыть «zip-lock» и поместить в холодильник.

Хранение вскрытого иммуносорбента возможно при температуре 2-8 °С до истечения срока годности набора.

2.2. Внести в три лунки контрольные образцы (в одну лунку – 100 мкл K^+ , в две лунки – по 100 мкл K^-); в остальные лунки внести по 100 мкл РРО. Затем в лунки с РРО внести по 10 мкл исследуемых образцов; содержимое лунок перемешать пипетированием (при этом цвет РРО должен измениться).

Примечание. При постановке ИФА на одном стрипе допускается использовать по 1 лунке на каждый контрольный образец.

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

2.4. С помощью промывателя удалить образцы из лунок, 5 раз промыть планшет промывочным раствором, как указано в п. 1.4.

Сохранность иммуносорбента между операциями 15 минут.

2.5. Во все лунки внести по 100 мкл конъюгата-IgA (желтого цвета), выдержать 30 мин при температуре 37 °С в защищенном от света месте.

2.6. С помощью промывателя удалить жидкость из лунок, 5 раз промыть планшет как указано в п. 1.4.

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, в 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:

среднее значение $ОП(K^+_{AG}, K^+_{A})$ – 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

$$ОП_{крит.} = ОПK^-_{cp} + 0,2,$$

где $ОПK^-_{cp}$ – среднее значение ОП в лунках с K^- ;

0,2 – коэффициент, полученный экспериментальным путем.

Интерпретация результатов

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

Достоверными критериями серологического диагноза форм инфекции (острая, хроническая, перенесенная) для успешной терапии при исследовании «парных» сывороток с использованием тест-системы является:

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

Примечание. Повторно взятый образец сыворотки крови желательно анализировать одновременно с предыдущим («парные» сыворотки), что позволяет с большей достоверностью оценивать динамику специфических антител.

3. Выявление иммуноглобулинов класса G (с комплектами № 1 или № 3)

3.1. Извлечь из пакета планшет, вскрыв выше замка «zip-lock», и установить на рамку необходимое для проведения ИФА количество стрипов (используется любое число стрипов – от 1 до 12). Неиспользованные стрипы немедленно поместить обратно в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух, плотно закрыть «zip-lock» и поместить в холодильник.

Хранение вскрытого иммуносорбента возможно при температуре 2-8°C до истечения срока годности набора.

3.2. Внести в три лунки контрольные образцы (в одну лунку – 100 мкл K^+ , в две лунки – по 100 мкл K^-); в остальные лунки внести по 100 мкл РРО. Затем в лунки с РРО внести по 20 мкл исследуемых образцов; содержимое лунок перемешать пипетированием (при этом цвет РРО должен измениться).

Примечание. При постановке ИФА на одном стрипе допускается использовать по 1 лунке на каждый контрольный образец.

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

3.4. С помощью промывателя удалить образцы из лунок, 5 раз промыть планшет как указано в п. 1.4.

Сохранность иммуносорбента между операциями 15 минут.

3.5. Во все лунки внести по 100 мкл конъюгата-IgG (зеленого цвета), выдержать 30 мин при температуре 37 °C в защищенном от света месте.

3.6. С помощью промывателя удалить жидкость из лунок, 5 раз промыть планшет как указано в п. 1.4.

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

3.8. 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:

среднее значение $ОП(K^+_{AG}; K^+_{G})$ – 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

$$ОП_{крит.} = ОПК^-_{cp} + 0,2,$$

где $ОПК^-_{cp}$ – среднее значение ОП в лунках с K^- ;

0,2 – коэффициент, полученный экспериментальным путем.

Интерпретация результатов

Соотношение $ОП_{обр}$ и $ОП_{крит.}$	Интерпретация результатов	Титр IgG
$ОП_{обр} < 0,9(ОП_{крит.})$	Отрицательный результат. Указывает, что исследуемый образец либо не содержит антител класса G к <i>Ureaplasma urealyticum</i> , либо уровень антител не детектируется. При этом образцы могут содержать антитела класса A или M к <i>Ureaplasma urealyticum</i>	Менее 1:5
$0,9(ОП_{крит.}) < ОП_{обр} < 1,1(ОП_{крит.})$	Сомнительный результат «серая зона». Повторить анализ. Если повторное исследование выявило, что $ОП_{обр}$ меньше $ОП_{крит.}$ – результат считается отрицательным.	1:5

Соотношение $ОП_{обр}$ и $ОП_{крит}$	Интерпретация результатов	Титр IgG
$1,1(ОП_{крит.}) < ОП_{обр} < 4(ОП_{крит.})$	<i>Слабоположительный результат.</i> Указывает либо на постинфекционный период, либо раннюю стадию сероконверсии. Рекомендуется провести повторное исследование через 2-3 недели	1:5-1:10
$4(ОП_{крит.}) < ОП_{обр} < 8(ОП_{крит.})$	<i>Положительный</i>	1:20
$8(ОП_{крит.}) < ОП_{обр} < 10(ОП_{крит.})$	<i>Сильноположительный</i>	1:40
$ОП_{обр} > 10(ОП_{крит.})$	<i>Сильноположительный</i>	1:80

Достоверными критериями серологического диагноза форм инфекции (острая, хроническая, перенесенная) для успешной терапии при исследовании «парных» сывороток с использованием тест-системы являются:

- 1) трех-четырекратное повышение/понижение титра видоспецифических IgG;
- 2) двукратное повышение/понижение титра видоспецифических IgA;
- 3) двукратное повышение/понижение титра IgA в комбинации с двух-трехкратным повышением/понижением IgG;
- 4) сероконверсия одного из классов антител.

Примечание. Повторно взятый образец сыворотки крови желательно анализировать одновременно с предыдущим («парные» сыворотки), что позволяет с большей достоверностью оценивать динамику специфических 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 – 18 месяцев. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ

Хранение

Замораживание не допускается.

Хранение наборов должно осуществляться в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8 °C в течение всего срока годности.

После вскрытия упаковок неиспользованные реагенты допускается хранить в плотно закрытых упаковках в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, при температуре от 2 до 8 °C до истечения срока годности.

Транспортирование

Замораживание не допускается.

При температуре от 2 до 8 °C транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. Допускается транспортирование при температуре от 9 до 25 °C в течение 15 сут.

УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для учреждений здравоохранения.

ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов классов А и G к *Ureaplasma urealyticum*» «ИФА-антиУреаплазма» соответствует ТУ 9398-113-

70423725-2022 с изм. № 1, Национальным стандартам РФ и нормативным документам в части требований безопасности и эффективности.

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться по адресу 142530, Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1, 1А. ЗАО "ЭКОлаб"; тел. 8(49643) 3-23-11, 3-30-93, 3-30-85, 8-800-333-33-47, ekolab-sekretar@mail.ru.

При предъявлении рекламации по поводу несоответствия физических и специфических характеристик набора реагентов заявленным, для проведения объективного расследования производителем причин несоответствия, потребитель должен предоставить:

набор реагентов той серии, на которую предъявляется рекламация;

все спорные исследуемые образцы пациентов;

протоколы анализа с указанием наименования, серии и сроков годности использованного набора реагентов.

протоколы исследования с использованием других методов/наборов реагентов с указанием серии, сроков годности, производителя примененных наборов реагентов.

Директор ЗАО "ЭКОлаб" по научной работе  С.Г. Марданлы

"СОГЛАСОВАНО"

Генеральный директор ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»  Н.К. Варнавичус

"24" 06 2022 г.



КРАТКАЯ СХЕМА ПОСТАНОВКИ ИФА

Набор реагентов (ИФА-антиУреаплазма)

Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!

Одновременное выявление антител классов А и G (комплект № 1)	
Внести	в лунки А пары стрипов (нечетного и четного номеров) - по 100 мкл К ⁺ , в лунки В тех же стрипов - по 100 мкл К ⁻ , в остальные лунки всех стрипов по 100 мкл РРО. В лунки нечетных номеров стрипов с РРО внести по 10 мкл исследуемых образцов, в лунки четных номеров стрипов с РРО внести по 20 мкл исследуемых образцов.
Инкубация	30 мин, 37 °С
Промыть	5 раз промывочным раствором
Внести	по 100 мкл конъюгата-IgA в каждую лунку нечетных номеров стрипов по 100 мкл конъюгата-IgG в каждую лунку четных номеров стрипов
Инкубация	30 мин, 37 °С
Промыть	5 раз промывочным раствором
Внести	по 100 мкл индикаторного раствора в каждую лунку
Инкубация	15 мин, 37 °С
Внести	по 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку
Измерить	ОП при 450 нм (референс 620-650 нм), «бланк» - по воздуху.

Выявление антител класса А (комплекты №№ 1 и 2)	
Внести	в три лунки контрольные образцы (в одну лунку – 100 мкл К ⁺ , в две лунки – по 100 мкл К ⁻); в остальные лунки – по 100 мкл РРО. Затем в лунки с РРО внести по 10 мкл исследуемых образцов
Инкубация	30 мин, 37 °С
Промыть	5 раз промывочным раствором
Внести	по 100 мкл конъюгата-IgA в каждую лунку
Инкубация	30 мин, 37 °С
Промыть	5 раз промывочным раствором
Внести	по 100 мкл индикаторного раствора в каждую лунку
Инкубация	15 мин, 37 °С
Внести	по 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку
Измерить	ОП при 450 нм (референс 620-650 нм), «бланк» - по воздуху.

Выявление антител класса G (комплекты №№ 1 и 3)	
Внести	в три лунки контрольные образцы (в одну лунку – 100 мкл К ⁺ , в две лунки – по 100 мкл К ⁻); в остальные лунки – по 100 мкл РРО. Затем в лунки с РРО внести по 20 мкл исследуемых образцов
Инкубация	30 мин, 37 °С
Промыть	5 раз промывочным раствором
Внести	по 100 мкл конъюгата-IgG в каждую лунку
Инкубация	30 мин, 37 °С
Промыть	5 раз промывочным раствором
Внести	по 100 мкл индикаторного раствора в каждую лунку
Инкубация	15 мин, 37 °С
Внести	по 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку
Измерить	ОП при 450 нм (референс 620-650 нм), «бланк» - по воздуху.

ПРОШУТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 12 ЛИСТОВ
« 21 » 06 2022 г.
Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Барнавичус П.К.

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью
12 лист 06
Ген. директор ЗАО "ЭКОлаб"
Гашенко Т.Ю.
" 21 " 06 2022 г.