

УТВЕРЖДЕНА
Приказом Росздравнадзора
от _____ 20__ г. № _____

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор ООО "ЭКОлаб"
Т.Т. Марданлы
2010 г.



ИНСТРУКЦИЯ по применению набора реагентов "Мико-Уреа-Хлами-флюороген"

Диагностикум для выявления антигенов *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma pneumoniae*,
Ureaplasma urealyticum и *Chlamydia trachomatis* в реакции иммунофлюоресценции

Регистрационное удостоверение № от "..." 20__ г.

НАЗНАЧЕНИЕ

Диагностикум предназначен для выявления в реакции прямой иммунофлюоресценции:

антигенов *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma urealyticum* в препаратах-мазках из клинических материалов, полученных от больных с воспалительными заболеваниями урогенитального тракта;

антигенов *Mycoplasma pneumoniae* в препаратах-мазках из клинического материала, полученного от больных с воспалительными инфекциями верхних дыхательных путей;

антигенов *Chlamydia trachomatis* в препаратах-мазках из клинических материалов, полученных от больных хламидиозами.

Выпускается в виде 4 комплектов:

Комплект № 1 – "Мико-гоминис-флюороген", Диагностикум для выявления антигенов *Mycoplasma hominis* в реакции иммунофлюоресценции.

Комплект № 2 – "Мико-пневмо-флюороген", Диагностикум для выявления антигенов *Mycoplasma pneumoniae* в реакции иммунофлюоресценции.

Комплект № 3 – "Уреаплазма-флюороген". Диагностикум для выявления антигенов *Ureaplasma urealyticum* в реакции иммунофлюоресценции.

Комплект № 4 – "Хлами-флюороген". Диагностикум для выявления антигенов *Chlamydia trachomatis* в реакции иммунофлюоресценции.

СОСТАВ НАБОРА

Комплект № 1

ФИТЦ-антитела к *Mycoplasma hominis* – лиофилизированные кроличьи специфические поликлональные антитела к цитоплазматическим мембранам *Mycoplasma hominis*, меченные флюоресцеинизотиоционатом (ФИТЦ), содержащие синьку Эванса и консервант (натрия азид); рыхлая аморфная масса синего цвета.

Раствор для разведения антител (РРА) – фосфатно-солевой буферный раствор, содержащий консервант (натрия азид); прозрачная бесцветная жидкость.

Комплект № 2

ФИТЦ-антитела к *Mycoplasma pneumoniae* – лиофилизированные кроличьи специфические поликлональные антитела к *Mycoplasma pneumoniae*, меченные флюоресцеинизотиоционатом (ФИТЦ), содержащие синьку Эванса и консервант (натрия азид); рыхлая аморфная масса синего цвета.

Раствор для разведения антител (РРА) – фосфатно-солевой буферный раствор, содержащий консервант (натрия азид); прозрачная бесцветная жидкость

Комплект № 3

ФИТЦ-антитела к *Ureaplasma urealyticum* – лиофилизированные кроличьи специфические поликлональные антитела, меченные флюоресцеинизотиоционатом (ФИТЦ), содержащие синьку Эванса и консервант (натрия азид); рыхлая аморфная масса синего цвета.

Раствор для разведения антител (РРА) – фосфатно-солевой буферный раствор, содержащий консервант (натрия азид); прозрачная бесцветная жидкость.

Комплект № 4

ФИТЦ-антитела к *Chlamydia trachomatis* – лиофилизированные мышинные видоспецифические моноклональные антитела к *Chlamydia trachomatis*, меченные флюоресцеинизотиоционатом (ФИТЦ), содержащие синьку Эванса и консервант (натрия азид); рыхлая аморфная масса синего цвета.

Раствор для разведения антител (РРА) – фосфатно-солевой буферный раствор, содержащий консервант (натрия азид); прозрачная бесцветная жидкость.

Монтирующая жидкость; прозрачная бесцветная вязкая жидкость.

Смесь солей для промывающего раствора, белый кристаллический порошок.

В каждый комплект дополнительно входят предметные стекла декорированные с 8 лунками.

ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

При наличии в исследуемом образце соответствующего возбудителя меченые ФИТЦ антитела специфически соединяются с его антигенами, что выявляется при люминесцентной микроскопии за счет интенсивного зеленого свечения указанных комплексов, контрастирующего с красным цветом эпителиальных клеток, окрашенных синькой Эванса.

ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Исследованию на присутствие *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* и *Chlamydia trachomatis* подлежат препараты-мазки, приготовленные из отделяемого слизистой уретры, влагалища, цервикального канала, секретов предстательной железы, эякулятов, осадка клеток из центрифугированных образцов мочи.

Исследованию на присутствие *Mycoplasma pneumoniae* подлежат препараты-мазки, приготовленные из отделяемого слизистой носоглотки, лаважной жидкости, мокроты и бронхиальных смывов.

Исследуемый материал нанести тонким слоем на поверхность чистого обезжиренного предметного стекла, подсушить на воздухе и фиксировать в этиловом спирте (96 %) в течение 15 минут, после чего вновь подсушить на воздухе. Препарат должен содержать возможно большее количество эпителиальных клеток.

Срок хранения фиксированных препаратов-мазков при 4 °С - не более трех суток. Более длительное хранение (до 1 мес.) допускается только при минус 70°С, повторное замораживание-размораживание препаратов не допускается.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диагностическая чувствительность и диагностическая специфичность набора-100 %

Каждый комплект набора рассчитан на исследование 50 образцов, включая контрольные.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И ОСНОВНЫЕ ПРАВИЛА РАБОТЫ С НАБОРОМ

Набор биологически безопасен, однако с исследуемыми образцами необходимо обращаться как с потенциально инфицированным материалом, строго выполняя требования "Правил устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях,

отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР" (Москва, 1981 г.)

СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

Оборудование и материалы

Камера влажная для инкубации при температуре 37 °С.

Микроскоп люминесцентный со светофильтрами ФС 1-2, БС 8-2, СЗС 7-2, ЖС-18.

Масло иммерсионное (нефлюоресцирующее).

Вода водопроводная.

Вода очищенная.

Спирт этиловый ректификованный (96 %).

Подготовка реагентов и материалов

Комплекты №№ 1-3

Все компоненты набора выдержать при температуре от 18 до 25 °С не менее 30 мин.

Во флакон с ФИТЦ-антителами внести содержимое флакона с РРА, растворить в течение 3-5 мин при перемешивании.

Раствор антител хранить при температуре от 2 до 8 °С в защищенном от света месте не более 14 сут.

При необходимости более длительного хранения (до 1 мес.) раствор антител разлить на мелкие порции и хранить при температуре минус 20 °С.

Комплект № 4

Все компоненты набора выдержать при температуре от 18 до 25 °С не менее 30 мин.

Во флакон с ФИТЦ-антителами внести содержимое флакона с РРА, растворить в течение 3-5 мин при перемешивании.

Раствор антител хранить при температуре от 2 до 8 °С в защищенном от света месте не более 14 сут.

При необходимости более длительного хранения (до 1 мес.) раствор антител разлить на мелкие порции и хранить при температуре минус 20 °С.

Приготовление отмывающего раствора

Приготовить концентрат отмывающего раствора, для чего содержимое флакона с реагентом 4 растворить в 500 мл дистиллированной воды. Хранить концентрат в течение 1 мес при температуре от 2 до 8 °С.

Непосредственно перед проведением реакции развести концентрат в 10 раз дистиллированной водой следующим образом: к 100 мл концентрата добавить 900 мл дистиллированной воды.

Отмывающий раствор хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 6 сут.

Проведение анализа

Комплекты №№ 1-3

1. На фиксированный препарат-мазок нанести 30 мкл раствора антител и инкубировать 20 мин во влажной камере при 37 °С.

Внимание! Не допускается высыхание препарата с нанесенным раствором антител.

2. Промыть препарат-мазок водопроводной водой в течение 15 мин, сполоснуть дистиллированной водой и высушить на воздухе при комнатной температуре.

Внимание! Тщательная отмывка препарата необходима для устранения неспецифического свечения при микроскопии, источником которого является наличие в исследуемом материале большого количества слизи.

3. Исследовать препарат-мазок под люминесцентным микроскопом с набором светофильтров: ФС 1-2, БС 8-2, СЗС 7-2, ЖС-18 и при увеличении 600-1000х.

При микроскопии использовать масляную иммерсию или водно-иммерсионную систему.

Внимание! При использовании масляной иммерсии должно применяться только специальное (нефлюоресцирующее) иммерсионное масло.

Комплект № 4

1. Нанести исследуемый материал на поверхность чистого и обезжиренного предметного стекла и приготовить препарат-мазок диаметром около 8 мм. Высушить препарат-мазок в течение 30 минут при комнатной температуре.

2. Зафиксировать препарат-мазок, для чего нанести на высушенный препарат-мазок 0,15 мл спирта этилового 96 % и выдержать при комнатной температуре до полного испарения жидкости.

3. На фиксированный препарат-мазок нанести 0,03 мл раствора антител и выдержать 15-20 мин во влажной камере при 37°C.

Внимание! Не допускается высыхание препарата с нанесенным раствором антител.

4. Промыть на магнитной мешалке препарат-мазок со сменой промывающего раствора три раза, каждый раз помещая стекло с препаратом в стаканчик с чистым раствором на 10 мин.

Внимание! Тщательная отмывка препарата необходима для устранения неспецифического свечения при микроскопии, источником которого является наличие в исследуемом материале большого количества слизи.

Полностью высушить его при комнатной температуре.

5. На окрашенный препарат-мазок нанести 5 мкл монтирующей жидкости, покрыть обезжиренным покровным стеклом и удалить образующиеся пузырьки воздуха и излишки монтирующей жидкости фильтровальной бумагой.

6. Исследовать препарат-мазок под люминесцентным микроскопом с набором светофильтров: ФС 1-2, БС 8-2, СЗС 7-2, ЖС-18 и при увеличении $\times 600$ - $\times 1000$.

В качестве иммерсионной среды используется только специальное (нефлюоресцирующее) иммерсионное масло.

Учет результатов

Комплекты №№ 1-3

При люминесцентной микроскопии микоплазмы и уреаплазмы выявляются в виде интенсивного зеленого гранулярного свечения на мембранах эпителиальных клеток, окрашенных в красноватый цвет, и (или) в межклеточном пространстве.

Результат считают положительным, если во всем препарате выявляют 10 и более ярко-зеленых гранул, четко выделяющихся на красноватом фоне препарата.

При отсутствии специфического (интенсивного зеленого) свечения в препарате результат считают отрицательным.

Если в препарате отсутствуют эпителиальные клетки или обнаружено менее 10 ярко-зеленых гранул, исследование необходимо повторить, обратив особое внимание на правильность забора исследуемого материала.

Желтая или зеленовато-желтая флюоресценция при микроскопии считается артефактом. В этом случае исследование также необходимо повторить.

Комплект № 4

Хламидии обнаруживаются либо в пораженных клетках в виде характерных цитоплазматических включений (обнаруживаются редко), либо внеклеточно – в виде отдельных элементарных (в виде точки) и ретикулярных (в виде овала) телец на фоне клеток цилиндрического эпителия, окрашенных в красный цвет.

Результат считают положительным, если во всем препарате определяется не менее 10 элементарных или ретикулярных телец хламидий, окрашенных в ярко-зеленый цвет.

Результат считают отрицательным, если в мазке не выявлено ни одного тельца хламидий при наличии не менее 20 эпителиальных клеток.

При выявлении в препарате менее 10 элементарных телец хламидий исследование проводят повторно сравнивая интенсивность специфического свечения вновь взятого исследуемого материала. При повторной реакции с яркой зеленой флуоресценцией результат интерпретируется как положительный.

При выявлении в препарате менее 20 эпителиальных клеток исследование так же необходимо повторить.

Для большей надежности исследования его целесообразно проводить с использованием положительных и отрицательных контрольных образцов. При люминесцентной микроскопии положительного контрольного образца в поле зрения микроскопа (объектив 90х, окуляр 10х) должно наблюдаться не менее 10 ярко-зеленых элементарных и ретикулярных телец хламидий и 5-20 эпителиальных клеток, окрашенных в красный цвет. В контрольном отрицательном образце – только 5-20 эпителиальных клеток, окрашенных в красный цвет при полном отсутствии специфического свечения.

ФОРМА ВЫПУСКА

Выпускается в наборе:

Комплект № 1

ФИТЦ-антитела к *Mycoplasma hominis* 0,25 мл – 1 флакон.

РРА 1,5 мл – 1 флакон.

Предметные стекла – 7 шт.

Комплект № 2

ФИТЦ-антитела к *Mycoplasma pneumoniae* 0,25 мл – 1 флакон.

РРА 1,5 мл – 1 флакон.

Предметные стекла – 7 шт.

Комплект № 3

ФИТЦ-антитела к *Ureaplasma urealyticum* 0,25 мл – 1 флакон.

РРА 1,5 мл – 1 флакон.

Предметные стекла – 7 шт.

Комплект № 4

ФИТЦ-антитела к *Chlamydia trachomatis* 0,3 мл – 1 флакон.

РРА 1,5 мл – 1 флакон.

Монтирующая жидкость 3,0 мл – 1 флакон.

Смесь солей для промывающего раствора 11,14 г – 1 флакон.

Предметные стекла – 7 шт.

Каждый комплект с инструкцией по применению упаковывается в картонную коробку.

СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности 18 месяцев. Набор с истекшим сроком годности использованию 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 лечебно-профилактических и санитарно-эпидемиологических учреждений.

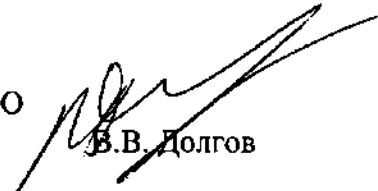
По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться по адресу 142530 Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1, ЗАО "ЭКОлаб"; тел. (49643) 3-23-11, факс (49643) 3-30-93 – отдел сбыта, (49643) 3-37-30 – ОБТК и в учреждение, уполномоченное Росздравнадзором на проведение государственного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

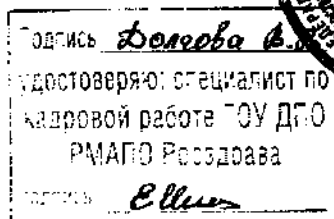
Директор производства диагностических препаратов

 А.Д.Осинская

«СОГЛАСОВАНО»

Зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики РМАПО

 В.В. Долгов



Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

Начальник ГУБСАО "ЭКОлаб"
Симонов В.В.

