



"УТВЕРЖДАЮ"

Генеральный директор ЗАО "ЭКОлаб"

Т.Ю. Гашенко
2022 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов

**«Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса М
к *Ureaplasma urealyticum*
"ИФА-антиУреаплазма-IgM"»**

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса М к *Ureaplasma urealyticum*» "ИФА-антиУреаплазма-IgM" предназначен для выявления 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.

Функциональное назначение: скрининг и диагностика.

Применение изделия не имеет популяционных и демографических аспектов.

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 анализата, сведения о его научной обоснованности.

Уреаплазмоз – это инфекционное поражение слизистых оболочек мочеполовых органов микобактериями 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 белково-иммуноглобулинов. Существует несколько типов иммуноглобулинов: IgG, IgM, IgA.

Антитела IgM продуцируются уже через 5 дней после заражения. Пик количества антител IgM приходится на 1-2 неделю, затем происходит постепенное снижение их количества и через 2-3 месяца антитела исчезают полностью даже без лечения (на смену им приходят IgG). Если при хроническом течении уреаплазмоза происходит обострение – IgM появляются вновь.

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 (РРО)	прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость фиолетового цвета	1 фл. (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 °С в течение 30 мин.	1 фл. (40 мл)
Раствор индикаторный (РИ);	прозрачная бесцветная жидкость	1 фл. (12 мл)
Стоп-реагент	прозрачная бесцветная жидкость.	1 фл. (12,5 мл)
Одноразовые наконечники для автоматических пипеток - для одноканального дозатора на (0,5-250) мкл		16 шт.

Примечания.

1. Набор включает все реагенты, необходимые для постановки ИФА, кроме очищенной (дистиллированной или деионизированной) воды.
2. ФСБ-Т(x25), стоп-реагент, РИ – унифицированы для всех наборов ЗАО "ЭКОлаб", в которых используются указанные реагенты.
3. Не допускается использование неспецифических реагентов разных серий.
4. K^+ не содержит HBsAg, антитела к ВГС, *Treponema pallidum*, ВИЧ-1,2.
5. 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).

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

Набор укомплектован принадлежностями:

- вспомогательные пластиковые емкости - 4 шт.,
- клейкая пленка для планшетов - 4 шт.

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

ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Базовый вариант набора позволяет одномоментное исследование 96 образцов, включая контрольные (на контрольные образцы используется 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 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 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

Чувствительность набора определяется по стандартной панели образцов предприятия, содержащих антитела класса М к *Ureaplasma urealyticum* (СОП⁺-155), как процентное содержание образцов, определенных набором как положительные, и составляет 100%.

Специфичность набора определяется по стандартной панели образцов предприятия, содержащих антитела класса М к *Ureaplasma urealyticum* (СОП-155), как процентное содержание образцов, определенных набором как отрицательные, и составляет 100%.

Диагностическая чувствительность набора реагентов: 99,39 - 100% (с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическая специфичность набора реагентов: 99,62 - 100% (с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическая чувствительность для каждого вида биологического материала (с доверительной вероятностью 95%):

Сыворотка крови человека: 99,81% - 100%

Плазма крови человека: 98,76% - 100%

Диагностическая специфичность для каждого вида биологического материала (с доверительной вероятностью 95%):

Сыворотка крови человека: 99,35% - 100%

Плазма крови человека: 99,10% - 100%

Интерференция и перекрестные реакции:

Перекрестных иммунологических реакций с образцами биологического материала, содержащими иммуноглобулины класса М к цитомегаловирусу, вирусам кори и эпидемического паротита, при постановке испытуемого набора не выявлено.

При исследовании образцов с содержанием до 200 г/л гемоглобина, до 120 мкмоль/л билирубина и 11 ммоль/л триглицеридов интерференция не наблюдалась.

ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Сыворотка, плазма (с гепарином, ЭДТА, цитратом натрия) крови человека объемом не менее 20 мкл.

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

Образцы до исследования можно хранить не более 7 суток при температуре от 2 до 8 °С. При необходимости хранения образцов более 7 дней рекомендуется разделить их на аликвоты и хранить при температуре от минус 20 до минус 70°С. 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 2б (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.

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 клинко-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 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 190 сут, при температуре от 18 до 25 °С – не более 30 суток.

Приготовление остальных реагентов

Иммуносорбент, К⁺, К⁻, 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. Извлечь из пакета планшет, вскрыв выше замка «zip-lock», и установить на рамку необходимое для проведения ИФА количество стрипов. Неиспользованные стрипы немед-

ленно 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.

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 одну лунку внести 100 мкл K^+ , и в две лунки по 100 мкл K^- , в остальные лунки – по 80 мкл РРО.

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°C в защищенном от света месте.

4. По окончании инкубации аспирировать содержимое лунок и промыть лунки планшета 5 раз промывочным раствором 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 отмытки 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 отмытки (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 °C 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 °C.

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 $ОП_{K^+}$ – 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 – 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 °С 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 °С до истечения срока годности.

Транспортирование

Замораживание не допускается.

При температуре от 2 до 8 °С 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 °С в течение 15 сут.

УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для учреждений здравоохранения.

ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса М к *Ureaplasma urealyticum*» "ИФА-антиУреаплазма-IgM" соответствует ТУ 9398-155-70423725-2022, 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 исследования производителем причин несоответствия, потребитель должен предоставить:

1. набор реагентов той серии, на которую предъявляется рекламация;
2. все спорные исследуемые образцы пациентов;
3. протоколы анализа с указанием наименования, серии и сроков годности использованного набора реагентов.
4. 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»

П.К. Варнавичус

" 24 06 2022 г.

КРАТКАЯ СХЕМА ПОСТАНОВКИ ИФА
(ИФА-антиУреаплазма-IgM)

Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!

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

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 8 ЛИСТОВ

27 2022 г.

Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичус П.К.



Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

8 лист 06
Ген. директор ЗАО "ЭКОлаб"
Гашенко Т.Ю.
27 06 2022 г.

