

ВЕКТОР

**БЕСТ**

---

---

Набор реагентов  
для иммуноферментного  
выявления иммуноглобулинов  
класса G  
к *Mycoplasma hominis*

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

---

---

*Mycoplasma hominis* – IgG-  
-ИФА-БЕСТ

НАБОР РЕАГЕНТОВ  
**D-4352**

**«Mycoplasma hominis – IgG – ИФА – БЕСТ»** представляет собой набор, основным реагентом которого является очищенный рекомбинантный антиген р120 *Mycoplasma hominis*, сорбированный на поверхности лунок разборного полистиролового планшета.

Один набор рассчитан на проведение 96 анализов, включая контроли. Возможны 12 независимых постановок ИФА, при каждой из которых 3 лунки используют для постановки контролей.

Набор комплектуют всеми необходимыми реагентами, кроме дистиллированной воды.

### **1. НАЗНАЧЕНИЕ**

Набор реагентов предназначен для выявления иммуноглобулинов класса G (*IgG*) к антигену р120 *Mycoplasma hominis* в сыворотке (*плазме*) крови человека и может быть использован в клинических (*дерматовенерология, урология, акушерско-гинекологическая практика*) и эпидемиологических исследованиях.

## 2. СОСТАВ НАБОРА

- планшет разборный с иммобилизованным рекомбинантным антигеном р120 *Mycoplasma hominis* – 1 шт.;
- положительный контрольный образец, инактивированный (K<sup>+</sup>) – 1 фл., 0,5 мл;
- отрицательный контрольный образец, инактивированный (K<sup>-</sup>) – 1 фл., 1 мл;
- конъюгат (антитела к IgG человека, меченные пероксидазой хрена) – 1 или 2 фл.;
- раствор для предварительного разведения (РПР) – 1 фл., 3 мл;
- разводящий буфер для сывороток (РБС, прозрачная жидкость красного цвета) – 1 фл., 13 мл;
- раствор для разведения конъюгата (РК, прозрачная жидкость зелёного цвета) – 1 фл., 13 мл;
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 1 фл., 28 мл;
- раствор тетраметилбензидина (ТМБ) – 1 фл., 13 мл;
- стоп-реагент – 1 фл., 12 мл;
- плёнка для заклеивания планшета – 3 шт.;
- ванночка для реагентов – 2 шт.;
- наконечники для пипеток – 16 шт.

## 3. СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

При работе с исследуемыми сыворотками и контрольными образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом:

- \* работать в резиновых перчатках;
- \* не пипетировать растворы ртом;
- \* все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями СП 1.3.2322-08 и МУ-287-113.

**Внимание!** Тщательное соблюдение описанных ниже требований позволит избежать искажения результатов ИФА.

- Для приготовления растворов и проведения ИФА следует использовать чистую мерную посуду и автоматические пипетки с погрешностью измерения объёмов не более 5%.
- Желательно использовать свежееотобранные образцы сыворотки (*плазмы*) крови. Допускается использование образцов, хранившихся при (2-8)°С не более 5 суток, либо при минус (20±3)°С, если необходимо более длительное хранение.
- Сыворотки, содержащие взвешенные частицы, могут дать неправильный результат. Такие образцы перед использованием следует центрифугировать 10-15 мин при 3000 об/мин.
- Нельзя использовать проросшие, гемолизи-

рованные, гиперлипидные сыворотки или подвергавшиеся многократному замораживанию и оттаиванию.

- Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать при комнатной температуре (18-25)°С не менее 30 мин.
- Лиофилизированные компоненты должны быть восстановлены, как минимум, за 15 минут до их использования.
- После отбора необходимого количества стрипов оставшиеся сразу упаковать в пакет с осушителем. Упакованные стрипы, плотно закрытые флаконы с исходными компонентами сразу после постановки реакции поместить в холодильник (2-8)°С.
- Раствор конъюгата в рабочем разведении готовить непосредственно перед использованием.
- Необходимо исключить воздействие прямого света на раствор ТМБ.
- При промывке лунки (*стрипа, планшета*) заполнять полностью, не допуская переливания промывочного раствора через края лунок, и не касаясь лунок наконечником пипетки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек.
- При использовании автоматического или ручного промывателя необходимо следить за состоянием ёмкости для промывочного раствора

и соединительных шлангов: в них не должно быть «заростов». Раз в неделю желательно ёмкость для промывочного раствора и шланги промывать 70% спиртом.

- Не допускать высыхания лунок стрипов между отдельными операциями.
- При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (*ФСБ-Т×25, раствор ТМБ, стоп-реагент*), которые взаимозаменяемы во всех наборах ЗАО «Вектор-Бест».
- Запрещается повторное использование планшета для предварительного нанесения сывороток.
- При приготовлении растворов и проведении ИФА следует использовать **одноразовые** наконечники для дозаторов.
- Посуду (*ванночки*), используемую для работы с растворами конъюгата и ТМБ, не обрабатывать дезинфицирующими растворами и моющими средствами.
- В случае повторного использования посуду (*ванночки*) для раствора конъюгата промыть проточной водой и тщательно ополоснуть дистиллированной водой; посуду (*ванночки*) для раствора ТМБ сразу после работы промыть

50% раствором этилового спирта, а затем дистиллированной водой.

- Для дезинфекции посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, рекомендуем использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС (*четвертичных аммониевых соединений*), спиртов, третичных аминов.
- Пипетки и рабочие поверхности обрабатывать только 70% раствором этилового спирта. Не использовать во время проведения ИФА перекись водорода, хлорамин и т.д.

### 3.1. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

#### 3.1.1. Промывочный раствор

Взболтать содержимое флакона с ФСБ-Т×25. При выпадении в концентрате осадка солей прогнать его до полного растворения осадка.

В соответствии с числом используемых стрипов отобрать необходимое количество ФСБ-Т×25 (*см. таблицу, стр. 10*) и развести его дистиллированной водой до указанного в таблице объёма или содержимое 1 флакона – до **700 мл**.

*Хранение:* при (2-8)°С до 5 суток.

#### 3.1.2. Растворы конъюгата

**Внимание!** Для работы с конъюгатом рекомендуем использовать одноразовые наколечники для пипеток.

Приготовить **концентрированный раствор конъюгата** путём растворения содержимого флакона с конъюгатом в **1 мл РПР**.

*Хранение:* концентрированный раствор конъюгата – при (2-8)°С до 1 месяца .

**Внимание!** *Раствор конъюгата в рабочем разведении готовить в пластиковой ванночке, входящей в состав набора, непосредственно перед использованием!*

Раствор для разведения конъюгата (РК) тщательно взболтать.

Таблица расхода реагентов

| Количество используемых стрипов        |       |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |
|--|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Промывочный раствор                    |       |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |
| 1                                      | 2     | 3      | 4      | 5      | 6      | 7      | 8      | 9      | 10     | 11     | 12     |        |
| ФСБ-Т×25, мл                           | 2     | 4      | 6      | 8      | 10     | 12     | 14     | 16     | 18     | 20     | 22     | 24     |
| Дистиллированная вода, мл              | до 50 | до 100 | до 150 | до 200 | до 250 | до 300 | до 350 | до 400 | до 450 | до 500 | до 550 | до 600 |
| Раствор конъюгата в рабочем разведении |       |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |
| Конъюгат (концентрат), мкл             | а*    | 2×а    | 3×а    | 4×а    | 5×а    | 6×а    | 7×а    | 8×а    | 9×а    | 10×а   | 11×а   | 12×а   |
| РК, мл                                 | 1,0   | 2,0    | 3,0    | 4,0    | 5,0    | 6,0    | 7,0    | 8,0    | 9,0    | 10,0   | 11,0   | 12,0   |
| Раствор ТМБ                            |       |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |
| Раствор ТМБ, мл                        | 1,0   | 2,0    | 3,0    | 4,0    | 5,0    | 6,0    | 7,0    | 8,0    | 9,0    | 10,0   | 11,0   | 12,0   |

$\alpha = \blacktriangle \blacktriangle \blacktriangle \text{ мкЛ}$

В пластиковую ванночку отобрать необходимое количество концентрированного раствора конъюгата, добавить соответствующее количество РК (см. таблицу), тщательно перемешать пипетированием.

*Конъюгат в рабочем разведении хранению не подлежит.*

### 3.1.3. Раствор ТМБ

**Внимание!** Раствор ТМБ готов к применению. Необходимо исключить воздействие прямого света на раствор ТМБ.

Рекомендуем выделить наконечники для пипеток, которые использовать только для работы с ТМБ.

Непосредственно перед использованием отобрать в пластиковую ванночку только необходимое в соответствии с числом используемых стрипов количество раствора ТМБ (см. таблицу).

Остатки раствора ТМБ из ванночки утилизировать (не сливать во флакон с исходным раствором ТМБ).

Хранение: при (2-8)°С в течение всего срока годности набора.

### 3.2. ПРОВЕДЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

3.2.1. Подготовить необходимое количество стрипов к работе. Оставшиеся – сразу упаковать во избежание губительного воздействия влаги. Для этого стрипы поместить в цефленовый пакет с влагопоглотителем, тщательно закрыть пакет пластиковой застёжкой. Упакованные таким образом стрипы хранить до конца срока годности набора.

Приготовить промывочный раствор (п. 3.1.1), концентрированный раствор конъюгата (п. 3.1.2).

Перед постановкой ИФА лунки стрипов промыть 1 раз промывочным раствором, заливая в каждую лунку по **400 мкл промывочного раствора**. По истечении 5 мин раствор аккуратно удалить в сосуд с дезинфицирующим раствором.

По окончании промывки необходимо тщательно удалить влагу из лунок, постукивая перевернутыми стрипами по сложенной в несколько слоёв фильтровальной бумаге. *Не допускать высыхания лунок стрипов между отдельными операциями при постановке реакции.*

3.2.2. Во все лунки стрипов внести по **80 мкл** разводящего буфера для сывороток (РБС), в любые 2 лунки внести по **20 мкл  $K^-$** , в 1 лунку – **20 мкл  $K^+$** .

Во все остальные лунки внести по **20 мкл**

**исследуемых образцов**. *Внесение образцов должно сопровождаться тщательным перемешиванием (пипетирование не менее 4 раз).*

Лунки заклеить плёнкой и инкубировать при  $(37\pm 1)^\circ C$  **30 мин**.

За 5-10 мин до окончания инкубации приготовить раствор конъюгата в рабочем разведении (п. 3.1.2).

3.2.3. По окончании инкубации содержимое лунок собрать в сосуд с дезинфицирующим раствором, промыть лунки стрипов 5 раз промывочным раствором и удалить влагу.

**Внимание!** *Каждую лунку при промывке необходимо заполнять полностью (400 мкл промывочного раствора). Необходимо добиться полного опорожнения лунок после каждого их заполнения. Время между заполнением и опорожением лунок должно быть не менее 30 сек.*

3.2.4. Во все лунки внести по **100 мкл раствора конъюгата в рабочем разведении**.

**Внимание!** *Для внесения раствора конъюгата использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.*

Лунки заклеить плёнкой и инкубировать при  $(37\pm 1)^\circ C$  **30 мин**.

3.2.5. По окончании инкубации содержимое лунок собрать в сосуд с дезинфицирующим раствором, промыть лунки стрипов 5 раз промыточным раствором и удалить влагу, как описано выше.

3.2.6. Во все лунки внести по **100 мкл раствора ТМБ**.

**Внимание!** Для внесения раствора ТМБ использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

Стрипы поместить при (18-25)°С в защищённое от света место на **25 мин**.

3.2.7. Реакцию остановить добавлением во все лунки по **100 мкл стоп-реагента** и через 2-3 мин измерить оптическую плотность (ОП).

**Внимание!** Следует избегать попадания стоп-реагента (0,5 М H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) на одежду и открытые участки тела. При попадании – промыть большим количеством воды.

#### 4. РЕГИСТРАЦИЯ И ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты ИФА регистрировать с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – в диапазоне 620-650 нм. Допустима регистрация результатов только с фильтром 450 нм. Выведение спектрофотометра на нулевой уровень («бланк») осуществлять по воздуху.

Результаты исследований учитывать только при соблюдении следующих условий:

– среднее значение ОП в лунках с отрицательным контрольным образцом (ОП<sub>ср</sub> К<sup>-</sup>) не более 0,25 (ОП<sub>ср</sub> К<sup>-</sup> ≤ 0,25);

– значение ОП в лунке с положительным контрольным образцом (ОП К<sup>+</sup>) не менее 0,6 (ОП К<sup>+</sup> ≥ 0,60).

По результатам ИФА рассчитать ОП критическую (ОП<sub>крит</sub>) по формуле:

$$\text{ОП}_{\text{крит}} = \text{ОП}_{\text{ср}} \text{К}^- + 0,3.$$

Если ОП К<sup>-</sup> имеет отрицательное значение, при расчёте считать её равной нулю.

Исследуемый образец оценить как:

– **отрицательный**, т.е. не содержащий IgG к антигену р120 *Mycoplasma hominis*, если полученное для него значение ОП<sub>обр</sub> ≤ ОП<sub>крит</sub> – 0,05;



– **положительный**, т.е. содержащий IgG к антигену p120 *Mycoplasma hominis*, если значение  $ОП_{обр} \geq ОП_{крит} + 0,05$ ;

– **сомнительный**, если  $ОП_{крит} - 0,05 < ОП_{обр} < ОП_{крит} + 0,05$ .

#### 4.1. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

| Оптическая плотность сыворотки                      | Результат           | Титр IgG |
|---|---------------------|----------|
| от 0 до ( $ОП_{крит} - 0,05$ )                      | отрицательный       | –        |
| от ( $ОП_{крит} - 0,05$ ) до ( $ОП_{крит} + 0,05$ ) | сомнительный        | –        |
| от ( $ОП_{крит} + 0,05$ ) до $2 \times ОП_{крит}$   | слабоположительный  | 1:5      |
| от $2 \times ОП_{крит}$ до $4 \times ОП_{крит}$     | положительный       | 1:10     |
| от $4 \times ОП_{крит}$ до $8 \times ОП_{крит}$     | сильноположительный | 1:20     |
| от $8 \times ОП_{крит}$ до $11 \times ОП_{крит}$    | сильноположительный | 1:40     |
| более $11 \times ОП_{крит}$                         | сильноположительный | 1:80     |

*При динамическом наблюдении пациента с целью получения результатов, адекватно отражающих изменение концентрации маркера в крови, необходимо использовать наборы реагентов одного наименования (одного предприятия-изготовителя).*

Пациентам с сомнительными и положительными результатами рекомендуется дополнительное обследование (*выявление возбудителя, обследование парных сывороток*). Все клинические и лабораторные данные должны быть рассмотрены в совокупности.

## 5. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Набор хранить и транспортировать от 2 до 8°C. Допускается транспортирование при температуре до 25°C не более 10 суток. Не допускать замораживания.

Срок годности набора – 12 месяцев со дня выпуска.

По вопросам, касающимся качества набора, обращаться в

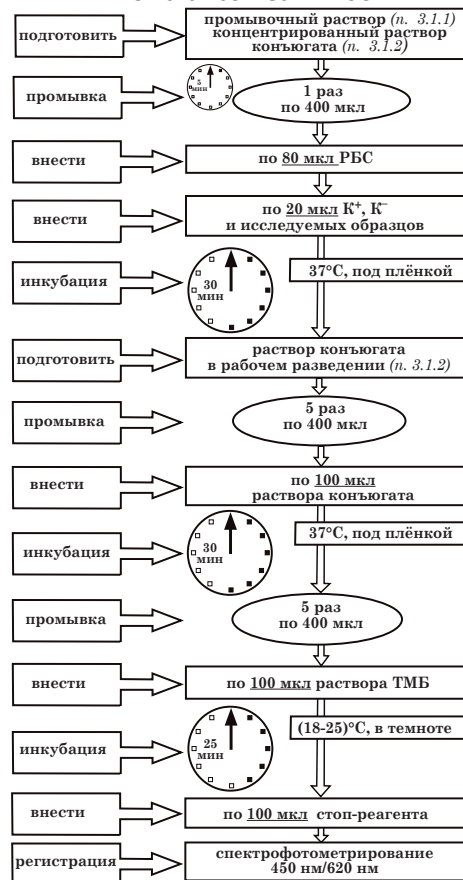
**ЗАО «Вектор-Бест»** по адресу:

630128, г. Новосибирск-128, а/я 102,  
тел.: (383) 332-92-49, 227-60-30;  
тел./факс: (383) 332-94-47, 332-94-44;  
E-mail: [plkobtk@vector-best.ru](mailto:plkobtk@vector-best.ru)

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 332-81-44.

**17.03.10**

## Схема анализа D-4352



**ЗАКРЫТОЕ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО  
«ВЕКТОР-БЕСТ»**

Федеральная лицензия № 99-04-000086  
на производство, хранение и реализацию  
лекарственных средств

**КРУПНЕЙШИЙ В РОССИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЬ  
ИММУНОФЕРМЕНТНЫХ  
ДИАГНОСТИКУМОВ**

Вирусные гепатиты А, В, С, D  
Инфекции, передаваемые  
половым путём  
ВИЧ-инфекция  
TORCH-инфекции  
Клещевой энцефалит  
Паразитарные болезни  
Диагностика беременности  
Лабораторное оборудование

***Стабильное качество  
и точный результат  
для Вашей лаборатории!***

**Наш адрес:** 630117, Новосибирск-117, а/я 492

Тел.: (383) 332-37-58, 332-37-10, 332-36-34,  
332-67-49, 332-67-52

Тел./факс: (383) 227-73-60 (многоканальный)

E-mail: [vbmarket@online.nsk.su](mailto:vbmarket@online.nsk.su)

Internet: [www.vector-best.ru](http://www.vector-best.ru)