

Унитарное предприятие  
"Хозрасчетное опытное производство  
Института биоорганической химии  
Национальной академии наук Беларуси"  
Республика Беларусь  
220141, г. Минск, ул. академика Купревича, 5, корп. 3  
Факс (017) 211-80-19

**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ  
НАБОРА РЕАКТИВОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ  
МИКОПЛАЗМ ВИДА MYCOPLASMA HUMANI  
МЕТОДОМ ПРЯМОЙ ИММУНОФЛУОРЕСЦЕНЦИИ**

**РИФ-МПХ**

УТВЕРЖДАЮ  
Заместитель министра  
здравоохранения РБ  
\_\_\_\_\_  
А.С. Романенков  
"19" февраля 2003 г.

**1 НАЗНАЧЕНИЕ**

1.1 Набор РИФ-МПХ предназначен для определения наличия в исследуемых пробах эпителиальной ткани человека и других средах микоплазм вида *Mycoplasma hominis* методом прямой иммунофлуоресценции.

**2 ХАРАКТЕРИСТИКА И ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА**

**2.1 Состав набора:**

- антитела, меченные ФИТЦ, лиофилизированный или жидкий препарат, 1 флакон; 1,5 мл;
- буферный раствор, готов к использованию, 1 флакон, 2 мл (поставляется при комплектации набора лиофилизированными антителами, меченными ФИТЦ);
- раствор для монтирования препаратов, готов к использованию, 1 флакон, 2 мл;
- жидкость для фиксации мазков, готова к использованию, 1 флакон, 5 мл.

2.2 Набор РИФ-МПХ рассчитан на проведение 50 анализов.

2.3 Принцип работы набора состоит в следующем. Специфические антитела, меченные ФИТЦ, во время инкубации реагируют с липопротеидами мембраны микоплазм. Препарат микроскопируется в люминесцентном микроскопе.

**3 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ**

3.1 При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые перчатки, т.к. использование данного набора предполагает изготовление мазков эпителиальных тканей пациентов с заболеванием микоплазмоза.

3.2 Работы проводить с соблюдением мер предосторожности, предусмотренных приказом МЗ РБ № 351 от 16.12.98 г.

3.3 При использовании набора рабочие места должны быть обеспечены приточно-вытяжной вентиляцией.

3.4 При использовании набора в воздух рабочей зоны не должно выделяться вредных химических веществ в количествах, превышающих изложенные в СанПиН № 11-19-94 от 09.03.94 г. «Перечень регламентированных в воздухе рабочей зоны вредных веществ». МЗ РБ, Минск, 1994 г.

**4 ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ,  
НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА**

4.1 Полуавтоматические пипетки со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкостей 0,03; 0,1; 1,5 мл;

- люминесцентный микроскоп МБИ-15, МР-8 с объективами МИ 90х и окулярами 4-5х или с объективами ВИ 60-70х и окулярами 5-7х;
- предметные и покровные стекла;
- зонды с ватными тампонами;
- влажная камера;
- термостат.

**5 ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА  
И КОМПОНЕНТОВ НАБОРА**

**5.1 Подготовка материала для исследования.**

Внимание! Квалифицированный сбор проб является основным этапом в проведении диагностики микоплазм.

Предметные стекла маркировать, указав фамилию пациента и дату отбора пробы.

Отбор проб для исследования производится со слизистой уретры, влагалища, цервикального канала. Забор материала производится вращательным движением зонда, имеющего ватный тампон.

Готовить мазки необходимо сразу после отбора материала, для этого тампон с материалом тщательно покатать по поверхности лунки предметного стекла (диаметр мазка 5-7 мм). Образцы спермы, секрет предстательной железы, центрифугат мочи наносится на предметное стекло с помощью микропипетки. Высушить мазки на воздухе при комнатной температуре.

На каждый мазок нанести (2-3) капли (100 мкл) жидкости для фиксации мазков. Дождаться полного испарения жидкости. После фиксации не позднее 1 часа пробы должны быть помещены в холодильник для дальнейшего хранения.

Стекло с фиксированным мазком может храниться при температуре (2-8) °С до 7 дней, при минус 20 °С – один месяц.

5.2 Перед началом работы выдержать компоненты набора и предметные стекла с мазками при комнатной температуре (20-25) °С в течение 30 мин.

5.3 Внести во флакон с лиофилизированными антителами, меченными ФИТЦ, 1,5 мл буферного раствора. Тщательно перемешать, избегая образования пены.

**6 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА**

6.1 На каждый мазок нанести с помощью микропипетки по 0,03 мл (30 мкл) антител, меченных ФИТЦ так, чтобы покрыть всю поверхность мазка.

6.2 Предметные стекла с мазками поместить во влажную камеру в термостат при температуре 37 °С и выдержать в течение 15 мин или в течение (20-25) мин при комнатной температуре (20-25 °С).

6.3 После инкубации промыть предметные стекла с мазками в проточной водопроводной воде в течение 5 минут, сполоснуть дистиллированной водой и высушить на воздухе.

6.4 На высушенный мазок нанести каплю монтирующего раствора, мазок накрыть покровным стеклом и микроскопировать в люминесцентном микроскопе. Рекомендуется использовать микроскоп с фильтрами, обеспечивающими возбуждающий свет с длиной волны не более 490 нм.

**7 УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ**

7.1 К учету принимаются только микроорганизмы, паразитирующие на мембранах эпителиальных клеток. Микоплазмы чрезвычайно полиморфны и имеют вид кокков, зерен, гранул, кокко-палочек.

7.2 Проба считается положительной, если в исследуемом мазке обнаружено не менее 10 микоплазм, обладающих специфическим изумрудно-зеленым свечением. В мазке должно быть зарегистрировано не менее 10 эпителиальных клеток, окрашенных в красно-оранжевый цвет.

7.3 Проба считается отрицательной, если в мазке отсутствует специфическое свечение микоплазм при обязательном наличии не менее 10 эпителиальных клеток.

7.4 Проба считается сомнительной, если в мазке обнаружено менее 10 микоплазм или менее 10 эпителиальных клеток. Если результат сомнительный, исследование необходимо повторить на новой пробе.

Любой флуоресцирующий материал, имеющий желто-зеленую окраску, рассматривается как артефакт.

**8 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА**

8.1 Хранение набора РИФ-МПХ должно производиться в чистом, сухом и темном помещении при температуре (2-8) °С в течение всего срока годности. Допускается хранение набора при температуре до 25 °С не более 2 сут.

8.2 Лيوфилизированные антитела, меченные ФИТЦ, подготовленные к использованию (п.5.3), могут храниться при температуре (2-8) °С в течение 3 сут.

8.3 Срок годности набора – 6 месяцев со дня приемки ОТК предприятия-изготовителя.

8.4 Для отбора и добавления компонентов рекомендуется использовать полуавтоматические пипетки, аттестованные на точность по значению средней дозы и сходимость результатов пипетирования.

8.5 Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора и квалифицированное проведение анализа.