

ВЕКТОР



Тест-система
иммуноферментная
для выявления
иммуноглобулинов
класса М к возбудителям
иксодовых
клещевых боррелиозов
(болезнь Лайма)

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

ЛаймБест – IgM

ТЕСТ-СИСТЕМА
D-1454

Диагностическая иммуноферментная тест-система «ЛаймБест-IgM» представляет собой набор, основой которого являются рекомбинантные антигены *Borrelia burgdorferi s.l.*, иммобилизованные на поверхности лунок полистиролового разборного планшета.

Основным свойством тест-системы является способность выявлять в сыворотке или плазме крови человека специфические иммуноглобулины класса М к возбудителю боррелиоза за счёт их взаимодействия с рекомбинантными антигенами, иммобилизованными на поверхности лунок стрипов. Образование комплекса «антиген-антитело» выявляют с помощью иммуноферментного конъюгата.

Набор содержит все необходимые для проведения анализа реагенты, кроме дистиллированной воды.

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

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система предназначена для выявления антител к возбудителю боррелиоза (болезни Лайма) в сыворотке или плазме крови человека и рекомендуется для клинических и эпидемиологических исследований.

2. СОСТАВ НАБОРА

- планшет разборный с иммобилизованными рекомбинантными антигенами *Borrelia burgdorferi s.l.* – 1 шт.;
- положительный контрольный образец, инактивированный (K⁺) – 1 фл.;
- отрицательный контрольный образец, инактивированный (K⁻) – 1 фл.;
- конъюгат (антитела к IgM человека, меченные пероксидазой хрена) – 1 фл. или 2 фл.;
- раствор для предварительного разведения (РПР) – 1 фл., 3 мл;
- раствор для разведения сывороток (РС) – 1 фл., 25 мл;
- раствор для разведения конъюгата (РК) – 1 фл., 13 мл;
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 1 фл., 28 мл;
- субстратный буферный раствор (СБР) – 1 фл., 13 мл;
- тетраметилбензидин (ТМБ) – 1 фл., 1,5 мл;
- стоп-реагент – 1 фл., 12 мл;
- клейкая плёнка для планшета – 2 шт.;
- пластиковая ёмкость – 2 шт.;
- одноразовые наконечники – 16 шт.;
- планшет разборный для предварительного разведения – 1 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 подвергать обработке 6%-ным раствором перекиси водорода (не менее 6 часов).

Внимание! Несоблюдение описанных ниже требований может привести к искаженному результату ИФА.

- Для приготовления растворов и проведения ИФА следует использовать чистую мерную посуду и автоматические пипетки с погрешностью измерения объёмов не более 5%.
- Допускается использование образцов, хранившихся при (2-8)°C не более 5 суток, либо при минус (20±3)°C, 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, гемолизированные, гиперлипидные сыворотки или подвергавшиеся многократному замораживанию и оттаиванию.

- Перед постановкой реакции все компоненты тест-системы необходимо выдержать не менее 30 мин при комнатной температуре (18-25)°C.
- Контрольные образцы, концентрированный раствор конъюгата должны быть приготовлены, как минимум, за 15 мин 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)°C, **использовать в течение 1 месяца.**
- Растворы хромогена и конъюгата в рабочем разведении готовить непосредственно перед использованием. Исключить воздействие света на раствор хромогена.
- При промывке лунки стрипов заполнять полностью (**300-400 мкл промывочного раствора**) и не касаться лунок наконечником пипетки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек.
- При использовании автоматического вошера или гребёнки необходимо следить за состоянием ёмкости для промывочного раствора и соединительных шлангов: в них не должно быть «заростов». Раз в неделю желателен ём-

кость 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.
- Запрещается многократное использование планшета для предварительного нанесения сывороток.
- Перекисью водорода (другие дезинфицирующие растворы не использовать) обрабатывать только наконечники для пипеток, используемые для работы с исследуемыми сыворотками и контрольными образцами. В случае их повторного использования, обеззараживать в 6% перекиси водорода (не менее 6 ч) с последующей 10-кратной промывкой в проточной воде, 3-кратной промывкой в дистиллированной воде и кипячением (40 мин) в последней из 3-х порций дистиллированной воды, чтобы избавиться от следов перекиси.
- Посуду (ванночки), наконечники для пипеток, используемые для работы с остальными реагентами, не обрабатывать дезинфицирующими растворами и моющими средствами, т.к. они не содержат инфекционного агента. В случае повторного использования посуду (ван-

ночки), наконечники для пипеток промыть проточной водой, тщательно и многократно ополаскивая дистиллированной водой.

- Посуду (ванночки), наконечники для пипеток, используемые для работы с хромогеном (ГМБ), в случае повторного использования, сразу после работы необходимо промыть 50% раствором этилового спирта, а затем дистиллированной водой.
- Пипетки и рабочие поверхности обрабатывать только 70% раствором этилового спирта. Не использовать перекись водорода, хлорамин и т.д.

Таблица расхода реагентов

		Количество используемых стрипов										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
		Промывочный раствор										
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										
Концентрированный раствор конъюгата, мкл	α^*	2× α	3× α	4× α	5× α	6× α	7× α	8× α	9× α	10× α	11× α	12× α
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 хромогена										
ТМБ, мкл	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500	550	600
СБР, 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

* α = ▲▲▲ мкл

3.1. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

3.1.1. Промывочный раствор

Взболтать содержимое флакона с ФСБ-Т×25. При выпадении осадка солей в концентрате прогреть 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 одного флакона до **700 мл**.

Хранение: при (2-8)°С до 72 ч.

3.1.2. Контрольные образцы

Растворить контрольные образцы добавлением во флакон с K^+ **200 мкл РПР**, а во флакон с K^- **400 мкл РПР**. Тщательно перемешать.

Хранение: при (2-8)°С до 1 месяца.

3.1.3. Исследуемые образцы

Внимание! Для предварительного разведения использовать разборный планшет (промаркирован красным фломастером).

Исследуемые образцы предварительно развести в 10 раз раствором для разведения сывороток (РС):

а) Отобрать необходимое количество стрипов для предварительного разведения (*красная маркировка*);

- б) Внести в лунки по **90 мкл РС**;
- в) Внести в лунки по **10 мкл** исходных сывороток. Внесение сывороток должно сопровождаться тщательным перемешиванием (*пипетирование не менее 4 раз*).

Внимание! *Исследуемые образцы в предварительном разведении готовить непосредственно перед использованием.*

3.1.4. Раствор конъюгата

Внимание! *Для работы с конъюгатом рекомендуем использовать одноразовые наконечники 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 ёмкости, входящей в состав набора, непосредственно перед использованием!*

Раствор для разведения конъюгата (РК) тщательно взболтать.

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

пипетированием.

3.1.5. Раствор хромогена

Внимание! *Раствор хромогена готовить в пластиковой ёмкости, входящей в состав набора, непосредственно перед использованием! Рекомендуем выделить наконечники для пипеток, которые использовать только для работы с хромогеном.*

В пластиковую ёмкость отобрать необходимое количество ТМБ (см. таблицу), добавить соответствующее количество СБР, тщательно перемешать пипетированием.

3.2. ПРОВЕДЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

3.2.1. Подготовить необходимое количество стрипов к работе. Оставшиеся – сразу тщательно 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 при (2-8)°С до 1 месяца.

Приготовить промывочный раствор (п. 3.1.1), контрольные образцы (п. 3.1.2), предварительно разведённые сыворотки (п. 3.1.3), концентрированный раствор конъюгата (п. 3.1.4). Все растворы должны иметь комнатную температуру (18-25)°С.

3.2.2. Во все лунки стрипов внести по **90 мкл** раствора для разведения сывороток (РС). В 1 лунку внести **10 мкл K⁺**, в 2 лунки – по **10 мкл K⁻**, во все остальные лунки – по **10 мкл** предварительно разведённых сывороток, получая, таким образом, конечное разведение сывороток 1:100. *Внесение сывороток должно сопровождаться тщательным перемешиванием (пипетирование не менее 4 раз).*

Лунки заклеить клейкой плёнкой и инкубировать 1 час при 37°С.

За 5 мин до окончания инкубации приго-

товить раствор конъюгата в рабочем разведении (п. 3.1.4).

3.2.3. По окончании инкубации промыть лунки стрипов 5 раз промывочным раствором и удалить влагу.

Внимание! *Каждую лунку при промывке необходимо заполнять полностью (300-400 мкл промывочного раствора в зависимости от типа планшета). Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого их заполнения. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек.*

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

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

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

Лунки заклеить клейкой плёнкой и инкубировать 30 мин при 37°С.

3.2.5. По окончании инкубации промыть стрипы 5 раз промывочным раствором и удалить

влагоу, как описано выше.

3.2.6. Приготовить раствор хромогена (п. 3.1.5).

Во все лунки внести по **100 мкл** раствора хромогена.

Внимание! Для внесения раствора хромогена использовать пластиковую ёмкость и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

Стрипы поместить на 30 мин в защищённое от света место при температуре (18-25)°С.

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

Внимание! Следует избегать попадания стоп-реагента 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 в том случае, если значение ОП в контроле K^- не более 0,2, а в K^+ значение ОП превышает 0,4.

Рассчитать критическое значение оптической плотности (ОП_{крит}) по формуле:

$$ОП_{крит} = ОП_{ср} K^- + 0,2,$$

где ОП_{ср} K^- – среднее значение ОП для K^- .

Исследуемую сыворотку расценивать как положительную, если соответствующее ей значение ОП превышает (ОП_{крит} + 20%).

Исследуемую сыворотку расценивать как отрицательную, если соответствующее ей значение ОП не превышает (ОП_{крит} – 20%).

Исследуемые сыворотки, с ОП в пределах «серой зоны» (ОП_{крит} ± 20%), расценивать как **сомнительные**. Такие сыворотки подлежат обязательному повторному анализу.

В случае воспроизведения сомнительного результата рекомендуется наблюдение пациента в динамике.

5. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Наборы хранить и транспортировать при температуре (2-8)°С. Допускается транспортирование при температуре до 25°С не более 3 суток. Не допускать замораживания.

Срок годности тест-системы — 6 месяцев со дня выпуска.

Рекламации на качество тест-системы направлять:

в Государственный НИИ стандартизации и контроля медицинских препаратов (ГИСК) им. Л.А. Тарасевича по адресу:
*119002, Москва, пер. Сивцев Вражек, 41,
тел.: (495) 241-39-22;*

в ЗАО «Вектор-Бест» по адресу:
*630559, п. Кольцово Новосибирской обл.,
Новосибирского района, а/я 121,
тел.: (383) 332-92-49, 227-60-30, 227-67-64
тел./факс: (383) 332-94-47, 332-94-44, 336-73-46
E-mail: vbobtk@vector-best.ru*

27.04.06

**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 путем
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

Internet: www.vector-best.ru