

Набор реагентов  
тест-система  
иммуноферментная  
для выявления  
антител класса М  
к возбудителям  
иксодовых клещевых  
боррелиозов  
(болезнь Лайма).  
Комплект № 1  
«Боррелиоз-ИФА-IgM».

ООО «Омникс»

**KS-001 Боррелиоз-ИФА-IgM**



## **1. Назначение**

Настоящая инструкция по применению распространяется на медицинский иммунобиологический препарат Комплект № 1 «Боррелиоз ИФА-IgM» – тест-систему иммуноферментную, представляющую собой набор реагентов для выявления антител класса М к возбудителям иксодовых клещевых боррелиозов (болезнь Лайма) в сыворотке крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа.

Комплект набора рассчитан на одновременное исследование 96 образцов, включая контроли.

**Таблица 1. Состав набора**

Маркировка	Компонент
Иммуно-сорбент	Иммуносорбент - микропланшет с сорбированной в лунках смесью антигенов
К+	«К+» - положительный контрольный образец
К-	«К-» - отрицательный контрольный образец
БРС	Буфер для разведения сывороток
БИС	Буфер для инкубации сывороток
ФСБ-Т	20 x концентрат фосфатного солевого буфера с твином
PK IgM	Раствор конъюгата с пероксидазой хрена
ТМБ	Раствор хромогена (3, 3', 5, 5' – тетраметилбензидина)
ЦФБ	Цитрат-фосфатный буфер
Стоп-реагент	2н раствор соляной кислоты
---	Пленка для инкубации планшетов
Емкости для жидких компонентов	Емкости для жидких компонентов
---	Инструкция по применению

Статус	Цвет раствора	Фасовка
Готов к использованию	---	12 x 8
Готов к использованию	красный	1 x 1,2 мл
Готов к использованию	зеленый	2 x 1,2 мл
Готов к использованию	красный	1 x 10,0 мл
Готов к использованию	синий	1 x 10,0 мл
<b>Требуется подготовки</b>	бесцветный	2 x 20,0 мл
Готов к использованию	желтый	1 x 12,0 мл
<b>Требуется подготовки</b>	бесцветный	1 x 7,0 мл
<b>Требуется подготовки</b>	бесцветный	1 x 7,0 мл
Готов к использованию	бесцветный	1 x 12,0 мл
---	---	1 шт.
---	---	2 шт.
---	---	1 шт.

## **2. Состав набора (подробный)**

- «Иммуносорбент» – 96-луночный разборный планшет для иммунологических реакций, в лунках которого сорбирована смесь рекомбинантных антигенов боррелий. Готов к использованию – 1шт.
  - «К+» – положительный контрольный образец – сыворотка крови человека в разведении 1:100, содержащая антитела класса М к антигенам боррелий, инактивированная, прозрачная жидкость красного цвета, допускается опалесценция. Готов к использованию - 1 флакон (1,2мл).
  - «К-» – отрицательный контрольный образец - сыворотка крови человека в разведении 1:100, не содержащая антител к антигенам боррелий, инактивированная, прозрачная жидкость зеленого цвета, допускается опалесценция. Готов к использованию – 2 флакона (по 1,2 мл).
- Примечание: Все образцы сывороток крови человека входящие в состав «К» и «К-» тестированы на отсутствие антител к ВИЧ-1, ВИЧ-2, антигена р24 ВИЧ-1, антител к гепатиту С, антител к HBsAg тест-системами, сертифицированными и разрешенными к применению на территории РФ.
- «БРС» – буфер для разведения сывороток, прозрачная жидкость красного цвета. Готов к использованию – 1 флакон (10,0 мл).
  - «БИС» – буфер для инкубации сывороток, прозрачная жидкость синего цвета. Готов к использованию – 1 флакон (10,0 мл).
  - «ФСБ-Т» (20 х концентрат) –прозрачная

пенящаяся жидкость; допускается опалесценция и выпадение кристаллического осадка белого цвета, растворяющегося при температуре +37°C в течение 30 мин; требует предварительного разведения (см. Приготовление реагентов) – 2 флакона (по 20,0 мл).

- «РК» – раствор конъюгата, моноклональные мышинные антитела к IgM человека, конъюгированные с пероксидазой хрена, прозрачная жидкость желтого цвета. Готов к использованию – 1 флакон (12,0 мл).
- «ТМБ» – 3, 3', 5, 5' - тетраметилбензидин (ТМБ), прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость; требует предварительной подготовки – 1 флакон (7,0 мл).
- «ЦФБ» – цитрат-фосфатный буфер, прозрачная бесцветная жидкость; требует предварительной подготовки – 1 флакон (7,0 мл).
- «Стоп-реагент» – (2н соляная кислота) прозрачная бесцветная жидкость. Готов к использованию - 1 флакон (12,0 мл).

### **3. Меры предосторожности**

Потенциальный риск применения набора — класс 2а.

Все компоненты набора, за исключением стоп-реагента, в состав которого входит соляная кислота, в используемых концентрациях являются нетоксичными.

Стоп-реагент, содержащий соляную кислоту, действует на кожу и слизистые, вызывая раздражение и ожоги, поэтому в случае попадания на

кожные или слизистые покровы его следует немедленно и тщательно смыть большим количеством проточной воды.

При работе с набором следует соблюдать «Правила 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.).

Работая с набором, следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, т.к. образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатитов и другие возбудители вирусных и других гемотрансмиссивных инфекций.

При утилизации контрольных сывороток и тестируемых образцов необходимо руководствоваться официально утвержденными правилами работы с инфекционным материалом.

#### **4. Оборудование, реагенты и материалы**

- Фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность раствора в лунках планшета при длине волны 450 нм, 620 нм.
- Автоматический промыватель планшетов (вошер).
- Термостат суховоздушный или планшетный шейкер, обеспечивающие температуру +37°C.
- Пипетки полуавтоматические одноканальные



с переменным объемом, со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 10 - 200 мкл и 200 – 1000 мкл.

- Пипетка полуавтоматическая многоканальная с переменным объемом со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объемы жидкости 50-300 мкл.
- Таймер.
- Бумага фильтровальная.
- Перчатки резиновые.
- Мерные емкости (0,5 л).
- Дистиллированная вода.
- Этиловый спирт, хлорамин или перекись водорода для дезинфекции.

## **5. Анализируемые образцы**

Для анализа используют образцы сыворотки или плазмы крови человека, подготовленные стандартным образом.

Для исключения ложных результатов исследуемые образцы сывороток хранить при температуре от +2 °С до +8 °С не более 10 суток. При необходимости возможно длительное хранение при температуре минус 20°С. Следует избегать многократного замораживания-оттаивания. После размораживания пробы тщательно перемешивают, осадок отделяют центрифугированием. Образцы сыворотки с выраженным гемолизом, гиперлипидемией и бактериальным проростом тестированию не подлежат.

---

**Внимание! В рамках одного анализа запрещается использовать реагенты из наборов разных серий выпуска, наименований и производителей!**

## **6. Проведение иммуноферментного анализа**

### ***Подготовка к анализу***

Выдержать все компоненты набора и анализируемые образцы при комнатной температуре (+18 ...+25 °С) 30 мин.

Установить в рамке планшета необходимое количество стрипов.

*Неиспользованные стрипы хранить только в герметично закрытом пакете при температуре от +2°С до +8°С не более 1 мес. с момента вскрытия пакета «Иммуносорбент».*

### ***Приготовление реагентов***

#### ***Рабочий раствор «ФСБ-Т»***

Содержимое флакона «ФСБ-Т» (20мл) перенести в мерный цилиндр и довести объем раствора до 400 мл дистиллированной водой. При наличии во флаконе «ФСБ-Т» осадка солей необходимо предварительно прогреть его при температуре (+37±1) °С до полного растворения осадка.

*Хранение:* рабочий раствор «ФСБ-Т» хранить не более 1 месяца при температуре от +2 °С до +8 °С.

#### ***Предварительное разведение исследуемых сывороток***

Образцы исследуемых сывороток разводят 1:10 в «БРС». Для этого смешивают 10 мкл каждой сы-

воротки с 90 мкл «БРС».

Хранение: разведенные образцы исследуемых сывороток хранению не подлежат.

Рабочий раствор субстрата

Готовится непосредственно перед использованием! В расчете на 1 стрип: 0,5 мл раствора «ЦФБ» смешать с 0,5 мл «ТМБ». Тщательно перемешать. Хранить не более 10 минут при температуре +20-25 °С в защищенном от света месте.

**Внесение образцов, контролей**

Образцы и контроли вносятся согласно схеме (таб. 2).

В лунки вносятся: А1 (контроль конъюгата) - 100мкл «БИС»; В1 (положительный контрольный образец) - 100мкл «К+»; С1, D1 (отрицательный контрольный образец) по 100мкл «К-». Начиная с лунки Е1 последовательно вносятся исследуемые образцы.

**Таблица 2. Схема внесения образцов и контролей**

Стрипы	1			---	12		
	Лунка	Образец мкл	«БИС» мкл		Лунка	Образец мкл	«БИС» мкл
A	Контроль конъюгата	---	100	---	-----	-----	-----
B	K+	100	-----	---	-----	-----	-----
C	K-	100	-----	---	-----	-----	-----
D	K-	100	-----	---	-----	-----	-----
E	Образец 1	10	90	---	Образец 45	10	90
F	Образец 1	10	90	---	Образец 45	10	90
G	Образец 2	10	90	---	Образец 46	10	90
H	Образец 2	10	90	---	Образец 46	10	90

Дублирование образцов увеличивает достоверность результатов!

### **Инкубация образцов (1 этап)**

После внесения образцов планшет следует заклеить клейкой лентой и инкубировать 30 мин при  $(+37\pm 1)^\circ\text{C}$  на термошейкере при скорости вращения платформы 500 об/мин или 1 час в термостате при температуре  $(+37\pm 1)^\circ\text{C}$ .

### **Промывка**

По окончании инкубации планшет промыть рабочим раствором «ФСБ-Т» три раза следующим образом:

- удалить содержимое лунок в емкость с дезинфицирующим раствором;
- в каждую лунку внести по 300 мкл промывочного буфера, инкубировать в течение 10 сек;
- удалить содержимое лунок в емкость с дезинфицирующим раствором;
- тщательно удалить остатки влаги из планшета постукиванием перевернутой рамки по фильтровальной бумаге.

### **Инкубация конъюгата (2 этап)**

После промывки и удаления остатков промывочного раствора в каждую лунку внести по 100 мкл «РК». Планшет заклеить плёнкой (как описано выше) и инкубировать 30 мин при  $(+37\pm 1)^\circ\text{C}$  на шейкере при скорости вращения платформы 500 об/мин или в термостате при температуре  $(+37\pm 1)^\circ\text{C}$ .

### **Промывка**

По окончании инкубации планшет промыть рабочим раствором ФСБ-Т три раза по 300 мкл (как описано выше).

### **Инкубация с хромогеном (3 этап)**

Внести в каждую лунку планшета по 100 мкл рабочего раствора хромогена. Планшет инкубиру-

вать 10 мин при  $(+37\pm 1)$  °C на шейкере при скорости вращения платформы 500 об/мин или в термостате при температуре  $(+37\pm 1)$  °C.

**Остановка реакции (4 этап)**

Реакцию остановить внесением в каждую лунку по 100 мкл Стоп-реагента. Убедиться в полном изменении окраски.

**Таблица 3. Краткая схема ИФА**

(использовать только после ознакомления с полной инструкцией!)

Внесение образцов	См. таблицу 2		
Инкубация	30 мин.	+37°C	Шейкер 500 об/мин
Промывка	5 раз по 300 мкл ФСБ-Т		
Внесение РК	100 мкл		
Инкубация	30 мин	+37°C	Шейкер 500 об/мин
Промывка	3 раза по 300 мкл ФСБ-Т		
Внесение рабочего раствора хромогена	100 мкл		
Инкубация	10 мин	+37°C	Шейкер 500 об/мин
Остановка реакции	100 мкл «Стоп-реагент»		
Измерение ОП	450 нм/620нм		

## **7. Учет результатов**

Измерение проводят спектрофотометрически при длине волны 450 нм немедленно после внесения Стоп-реагента. Значение референсной длины волны – 620нм. Нулевой уровень (бланк) устанавливается по воздуху.

Результаты учитывают только в том случае, если :

- в лунке А1 (контроль конъюгата)  $ОП \leq 0,15$ ;
- в лунках с «К-» среднее значение  $ОП \leq 0,2$ ;
- в лунке с «К+» значение  $ОП \geq 0,8$ .

Коэффициент серепозитивности (КС) сыворотки рассчитывают по формуле:

$$КС = \frac{ОП \text{ исследуемой сыворотки}}{ОП_{\text{крит}}}$$

$$\text{где: } ОП_{\text{крит}} = ОП \text{ К- ср} + 0,2$$

Значения ОП контрольного отрицательного образца не должны отличаться от ОП К-ср более чем на 20%. В противном случае необходимо повторить исследование.



**Таблица 4. Качественная интерпретация результатов**

КС образца $< 0,9$	Отрицательный результат. Тестируемый образец либо не содержит иммуноглобулинов класса М к возбудителям иксодовых клещевых боррелиозов, либо содержит не детектируемый уровень IgM.
$0,9 \leq$ КС образца $\leq 1,1$	Сомнительный результат - «серая зона». Повторить анализ. Если повторное исследование показало сомнительный результат, рекомендуется провести дополнительное исследование нового образца сыворотки через 4-6 недель.
КС образца $> 1,1$	Положительный результат. Тестируемый образец содержит иммуноглобулины класса М к возбудителям иксодовых клещевых боррелиозов. Величина КС отражает относительную концентрацию специфических иммуноглобулинов.

**Полуколичественная интерпретация результатов :**

Для оценки динамики иммунного ответа рекомендуется сравнить значения КС сывороток пациента, собранных с интервалом 1-2 недели.

**Таблица 5. Ориентировочный титр сыворотки, соответствующий полученному значению**

Диапазон КС для IgM	Ориентировочный титр сыворотки
1.1-1.5	1:100
1.5-2.0	1:200
2.0-3.0	1:400
3.0-4.5	1:800
4.5-6.5	1:1600
6.5-9.0	1:3200
>9.0	1:6400

## **8. Условия транспортировки и хранения, срок годности**

Транспортировка наборов реагентов должна производиться в соответствии с СП 3.3.2.1248-03 при температуре от +2 °С до +8 С. Допустимо транспортирование от +9 до +20 С не более 7 сут. Замораживание не допускается.

Набор реагентов должен храниться в соответствии с СП 3.3.2.1248-03 в сухом, защищенном от света месте при температуре от +2 °С до +8 °С.

Срок годности набора – 9 мес. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

По вопросам, касающимся качества набора реагентов «Боррелиоз-ИФА- IgM» следует обращаться на предприятие-изготовитель:

### **ООО «Омникс»**

Центральный офис:  
197376, г. Санкт-Петербург, наб. реки  
Карповки, дом 5, корп. 14  
Тел./факс: (812) 336-41-87, 336-41-97  
<http://www.omnix.ru/>  
e-mail: [info@omnix.ru](mailto:info@omnix.ru)

***ДЛЯ ЗАМЕТОК***

**ДЛЯ ЗАМЕТОК**

***ДЛЯ ЗАМЕТОК***



