Настоящая инструкция распространяются на тест-систему диагностическую «НИФМ-ЛАЙМ-АТ», предназначенную для выявления суммарных антител (IgA/IgG/IgM) к возбудителю Лайм-боррелиоза методом непрямой реакции иммунофлюоресценции в сыворотке крови, внутрисуставной и цереброспинальной жидкостях человека для проведения лабораторных и эпидемиологических исследований.

Тест-система «НИФМ-ЛАЙМ-АТ» представляет собой комплект, основным компонентом которого является антиген возбудителя болезни Лайма (БЛ) - Borrelia burgdorferi sensu lato, адсорбированный в лунках предметных стекол.

Основное свойство тест-системы - способность выявлять в сыворотке крови, внутрисуставной и цереброспинальной жидкостях человека суммарные антитела (IgA/IgG/IgM) к возбудителю БЛ за счет их взаимодействия с адсорбированным на предметных стеклах антигеном. Образованный комплекс «антиген-антитело» выявляется с помощью конъюгата – античеловеческого поливалентного иммуноглобулина, меченного флюоресцеинизотиоцианатом (ФИТЦ).

Одна тест-система рассчитана на проведение 240 скрининговых исследований сывороток крови, внутрисуставной и цереброспинальной жидкостей человека, включая контроль.

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система предназначена для выявления суммарных антител к возбудителю БЛ в сыворотке крови, внутрисуставной и цереброспинальной жидкостях человека методом непрямой иммунофлюоресценции (НИФМ).

2. СОСТАВ ТЕСТ-СИСТЕМЫ

2.1. Стекла предметные 8-луночные с иммобилизированным антигеном 30 шт. - 1 упаковка;
2.2. Положительный контроль (К+), 0,5 мл - 1 пробирка;
2.3. Конъюгат (Кг), 3,5 мл - 1 пробирка;
2.4. Концентрат цитратно-фосфатного буферного раствора (ЦФБх25), 20, 0 мл - 8 флаконов;
2.5. Инструкция по применению - 1 штука.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность и специфичность при исследовании на панели с заведомо положительными и отрицательными образцами составляет не менее 90%.

4. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

В соответствии с системой менеджмента предприятия-изготовителя каждая серия тест-системы должна быть проверена и принята отделом биологического контроля (ОБК) изготовителя на соответствие всем показателям ТУ BY 100558032.161-2010, изм. №2.

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С ТЕСТ-СИСТЕМОЙ

Биологический компонент тест-системы (положительный контроль – инактивированная сыворотка крови человека), а также исследуемые сыворотки крови, внутрисуставные и цереброспинальные жидкости являются условно патогенными. Проведение исследований требует соблюдения определенных мер безопасности:

- работу проводить в специально оборудованном помещении;
- использовать индивидуальные средства защиты – перчатки медицинские одноразовые, медицинские халаты, защитные маски;
- все использованные материалы подвергать обработке дезинфицирующими растворами (замачивание в 3-5% растворе перекиси водорода на 3 часа). Допускается

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

использование дезинфицирующих средств, зарегистрированных и разрешенных для применения в РБ.

- инструменты и оборудование, а также используемые рабочие поверхности необходимо до и после работы обрабатывать раствором с объемной долей этилового спирта 70%.

6. МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ, ТРЕБУЮЩИЕСЯ ДОПОЛНИТЕЛЬНО

6.1. Термостат (например, типа ТС-80 или аналог другой марки).
6.2. Люминесцентный микроскоп (например, «ЛЮМАМ» или аналог другой марки).
6.3. Ёмкость для отмывки предметных стекол (например, Glass box and staining rack, CARL ROTH, Германия).
6.4. 96-луночный полистироловый планшет.
6.5. Магнитная мешалка (любой марки).
6.6. pH-метр (любой марки).
6.7. Влажная камера или чашка Петри.
6.8. Дистиллированная вода
6.9. Посуда мерная лабораторная.
6.10. Набор электронных или механических дозаторов переменного объема от 5 мкл до 1000 мкл.
6.11. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема от 5 мкл до 1000 мкл.
6.12. Штативы для наконечников и для пробирок.
6.13. Холодильник от плюс 2 до плюс 8°С, морозильник на минус 20ºС.
6.14. Ёмкость с дезинфицирующим средством для сброса наконечников.

7. СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

7.1. Требования к исследуемым к образцам

Для предотвращения бактериального пророста собранные образцы следует хранить при температуре плюс 4-6 ^{0}С не более 2 суток.

Образцы могут подвергаться замораживанию до температуры минус 20 ^{0}С и ниже не более двух раз.

Образцы с гемолизом, гиперлипидемией, бактериальным проростом, а также длительно хранившиеся без замораживания не пригодны для анализа.

7.2. Подготовка к проведению исследований.

7.2.1. Приготовление рабочего раствора ЦФБ.

Содержимое флакона с ЦФБх25 (п. 2.4) развести дистиллированной водой до объема 500 мл. При образовании во флаконе с концентратом кристаллов солей их необходимо растворить погружением флакона в теплую воду. Проверить pH полученного рабочего раствора и, при необходимости, довести его до нужного значения (7,2-7,4) 1N растворами NaOH и HCl. Применяется для разведения сывороток, отмывки предметных стекол. Хранить при плюс 4-6^{0}С до 7 дней.

7.2.2. Розлив компонентов тест-системы.

Положительный контроль (К+) (п. 2.2) рекомендуется разлить по 30-50 мкл и хранить до использования при температуре минус 20^{0}С. Размороженный реагент может храниться при температуре плюс 4-6^{0}С до 7 дней.

Конъюгат (Кг) (п. 2.3.) разлить по 200-300 мкл и хранить до использования при температуре минус 20^{0}С. Размороженный реагент может храниться при температуре плюс 4-6^{0}С до 7 дней.

7.3. Постановка реакции непрямой иммунофлюоресценции.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

7.3.1. Извлечь необходимое количество предметных стекол (п. 2.1), хранящихся при температуре минус 20^0С, подсушить, ополоснуть дистиллированной водой и снова подсушить.

Положительный контроль (К+) (п. 2.2) и конъюгат (Кг) (п. 2.3) разморозить при комнатной температуре.

7.3.2. Разведение сывороток

Приготовить двукратные разведения исследуемых образцов на рабочем растворе ЦФБ, начиная с разведения 1:32. Рекомендуемые разведение сывороток:

- при скрининговых исследованиях – 1:32;
- при количественном определении – от 1:32 до 1:1024 (или до меньших разведений, в зависимости от сроков и тяжести заболевания).

7.3.3. Постановка реакции

Исследуемые сыворотки в соответствующих разведениях и (К+) внести в лунки предметных стекол по 10 мкл.

Инкубировать в термостате во влажной камере при температуре 37^0С в течение 30 минут.

По окончании инкубации стекла ополоснуть дистиллированной водой, поместить их в ёмкость для отмывки предметных стекол, отмыть в рабочем ЦФБ 10- 15 минут на магнитной мешалке, снова ополоснуть дистиллированной водой и подсушить.

В каждую лунку внести по 10 мкл. конъюгата.

Стекла инкубировать во влажной камере при температуре 37^0С в течение 30 минут.

По окончании инкубации стекла ополоснуть дистиллированной водой, поместить их в ёмкость для отмывки предметных стекол, отмыть в рабочем ЦФБ 10- 15 минут на магнитной мешалке, снова ополоснуть дистиллированной водой и подсушить при комнатной температуре.

7.4 Регистрация, оценка и интерпретация результатов

Препарат просматривается в люминесцентном микроскопе с водно-иммерсионным объективом 70×, тубусом 1,6× и окуляром не менее 6,3× или масляным иммерсионным объективом 90×, тубусом 1,1× и окуляром не менее 5×, фильтры БС8-3 и СЗС24.

Реакция регистрируется при условии наблюдения в лунке с положительным контролем зеленой окраски антигена. Результат учитывается на основании оценки степени яркости свечения микробных клеток. Яркость свечения снижается по мере увеличения разведения сыворотки. Бурое свечение антигена, а также отсутствие люминесценции оценивается как отрицательный результат.

Наивысшее разведение сыворотки, при котором наблюдается свечение антигена, называется ее титром. Диагностически значимым следует считать титр сыворотки 1:64 и выше.

Диагностически значимым следует считать титр сыворотки 1:64 и выше, хотя в эндемичных по БЛ областях пограничный уровень антител может быть повышен до 1:128.

ПРИМЕЧАНИЯ:

1. Сыворотки пациентов с другими заболеваниями, вызванными спирохетами (сифилис, лептоспироз, возвратный тиф и др.), с инфекционным мононуклеозом, системной красной волчанкой, ревматоидным артритом могут давать ложноположительные результаты. В этих случаях с целью установления точного диагноза необходимы более широкие клинико-эпидемиологические и лабораторные исследования.
2. Ложноотрицательные результаты могут быть получены на очень ранней стадии инфекции.
3. Результаты исследования должны интерпретироваться каждым врачом в свете истории болезни пациента.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

8. ФОРМА ВЫПУСКА

Тест-система для выявления суммарных антител к возбудителю болезни Лайма методом непрямой иммунофлюоресценции «НИФМ-ЛАЙМ-АТ» выпускается в виде упакованного комплекта. Одна тест-система рассчитана на проведение 240 скрининговых исследований сывороток крови, внутрисуставной и цереброспинальной жидкостей человека, включая контроль.

9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Тест-система должна храниться при температуре минус 20°С. При транспортировании не допускать размораживания.

Концентрат ЦФБх25 можно хранить при любой температуре, срок его хранения не ограничен.

Срок годности тест-системы - 12 месяцев с даты выпуска.

10 ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

Изготовитель гарантирует соответствие тест-системы требованиям ТУ BY 100558032.161-2010, изм. №2, при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru