

ВЕКТОР



Набор реагентов
для иммуноферментного
выявления антител к ВИЧ-1,2
и антигена р24 ВИЧ-1

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

НАБОР РЕАГЕНТОВ

D-0151 КомбиБест ВИЧ-1,2 АГ/АТ (комплект 1)

«КомбиБест ВИЧ-1,2 АГ/АТ» (комплект 1) представляет собой набор, основой которого являются рекомбинантные антигены ВИЧ-1 и ВИЧ-2 и антитела к ядерному антигену р24 ВИЧ-1, иммобилизованные на поверхности лунок планшета и входящие в состав конъюгатов.

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

Один набор рассчитан на проведение 192 анализов (*по 5 лунок каждого планшета используют для постановки контролей*).

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для одновременного выявления антигена р24 ВИЧ-1 и антител к ВИЧ-1 и ВИЧ-2 в сыворотке (*плазме*) крови. Рекомендуется для первичной лабораторной диагностики ВИЧ-инфекции и обследования доноров крови, органов, тканей человека.

2. СОСТАВ НАБОРА

- планшет с иммобилизованными рекомбинантными антигенами ВИЧ-1,2 и антителами к р24 ВИЧ-1 – 2 шт.;
- положительный контрольный образец № 1, содержащий антитела к ВИЧ-1, инактивированный (K1⁺) – 1 фл.;
- положительный контрольный образец № 2, содержащий рекомбинантный р24 ВИЧ-1 (K2⁺) – 1 фл.;
- отрицательный контрольный образец, инактивированный (K⁻) – 1 фл.;
- конъюгат № 1 (биоиницированные антитела к р24 ВИЧ-1) – 1 фл.;
- конъюгат № 2 (*стрептавидин-пероксидаза и рекомбинантные белки ВИЧ-1 и ВИЧ-2, меченые пероксидазой хрена*) – 1 фл. или 2 фл.;
- раствор для предварительного разведения (РПР) – 1 фл., 8 мл;
- раствор для разведения конъюгата № 1 (РК1) – 2 фл. по 9 мл;
- раствор для разведения конъюгата № 2 (РК2) – 2 фл. по 13 мл;
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 3 фл. по 28 мл;
- субстратный буферный раствор (СБР) – 2 фл. по 13 мл;
- тетраметилбензидин (ТМБ), концентрат – 1 фл., 1,5 мл;
- стоп-реагент – 1 фл. 21 мл;
- ванночка для реагентов – 4 шт.;
- наконечники для пипетки – 32 шт.;
- плёнка для заклеивания планшета – 4 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.
- Сразу после постановки реакции неиспользованный планшет и плотно закрытые флаконы с исходными компонентами необходимо поместить в холодильник (2-8)°С
- Растворы ТМБ и 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 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, СБР, 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*), используемые 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.

Содержимое 1 флакона с ФСБ-Т×25 развести дистиллированной водой до **700 мл**.

Хранение: при (2-8)°С до 72 ч.

3.1.2. Контрольные образцы

Растворить контрольные образцы К1⁺ и К2⁺, добавив в каждый флакон по **400 мкл РПР**. К⁻ растворить в **800 мкл РПР**.

Хранение: при (2-8)°С до 1 месяца.

3.1.3. Растворы конъюгатов

Внимание! Для работы с конъюгатами рекомендуем использовать одноразовые наконечники для пипеток.

Приготовить **концентрированные растворы конъюгатов** путём растворения содержимого каждого флакона с конъюгатами № 1 и № 2 в **1 мл РПР**.

Хранение: концентрированные растворы конъюгатов – при (2-8)°С до 1 месяца. В случае более длительного хранения – при минус 20°С. Допускается 5-кратное размораживание.

Внимание! Растворы конъюгатов № 1 и № 2 в рабочем разведении готовить непосредственно перед использованием!

Отобрать из флакона **▲▲▲ мкл** концентрированного раствора конъюгата № 1, внести во флакон с РК1 и тщательно взболтать.

Отобрать из флакона **▲▲▲ мкл** концентрированного раствора конъюгата № 2, внести во флакон с РК2 и тщательно взболтать.

3.1.4. Раствор ТМБ в рабочем разведении

Внимание! Раствор ТМБ в рабочем разведении готовить непосредственно перед использованием!

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

В содержимом флакона с СБР растворить **650 мкл ТМБ** и тщательно перемешать.

Раствор стабилен в защищённом от света месте при (18-25)°C до 3-х ч.

3.2. ПРОВЕДЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

3.2.1. Приготовить промывочный раствор (п. 3.1.1), контрольные образцы (п. 3.1.2), концентрированные растворы конъюгатов (п. 3.1.3).

3.2.2. Приготовить раствор конъюгата № 1 в рабочем разведении (п. 3.1.3).

3.2.3. В 1 лунку планшета внести **70 мкл K1⁺**, в 1 лунку – **70 мкл K2⁺**, в 3 лунки – по **70 мкл K⁻**, в остальные лунки – по **70 мкл** цельных тестируемых сывороток.

Затем во все лунки внести по **70 мкл** раствора конъюгата № 1 в рабочем разведении.

***Внимание!** Для внесения раствора конъюгата использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, входящие в состав набора. При внесении раствора конъюгата нельзя касаться наконечником пипетки поверхности лунки и сыворотки, находящейся в ней. Содержимое лунок тщательно перемешать осторожным постукиванием по краям планшета.*

Лунки заклеить плёнкой и инкубировать при 37°C **60 мин.**

За 5-10 мин до окончания инкубации приготовить раствор конъюгата № 2 в рабочем разведении.

3.2.4. По окончании инкубации содержимое лунок собрать в сосуд с дезинфицирующим раствором, промыть лунки планшета 7 раз промывочным раствором.

***Внимание!** Каждую лунку при промывке необходимо заполнять полностью (**400 мкл промывочного раствора**). 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 перевернутым планшетом по сложенной в несколько слоёв фильтровальной бумаге. *Не допускать высыхания лунок планшетов между отдельными операциями при постановке реакции.*

3.2.5. Во все лунки планшета внести по **100 мкл раствора конъюгата № 2** в рабочем разведении.

Заклеить лунки плёнкой и инкубировать при 37°C **30 мин.**

По окончании инкубации содержимое лунок собрать в сосуд с дезинфицирующим раствором, лунки промыть 7 раз промывочным раствором, как описано выше.

3.2.6. Приготовить раствор ТМБ в рабочем разведении (п. 3.1.4).

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

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

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

3.2.7. Остановить реакцию добавлением во все лунки по **100 мкл стоп-реагента** и через 2-3 минуты измерить оптическую плотность (ОП).

Внимание! Следует избегать попадания стоп-реагента (0,5 М H₂SO₄) 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 (ОП) 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_{ср} К⁻) не более 0,25;
- значения ОП в лунках с положительными контрольными образцами К1⁺ и К2⁺ не менее 0,8.

Исследуемую сыворотку расценивать **как положительную**, если соответствующее ей значение ОП ≥ ОП_{крит}, которую рассчитать по формуле:

$$\text{ОП}_{\text{крит}} = \text{ОП}_{\text{ср}} \text{К}^- + 0,1.$$

5. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Наборы хранить и транспортировать при (2-8)°С. Допускается транспортирование при температуре до 25°С 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;

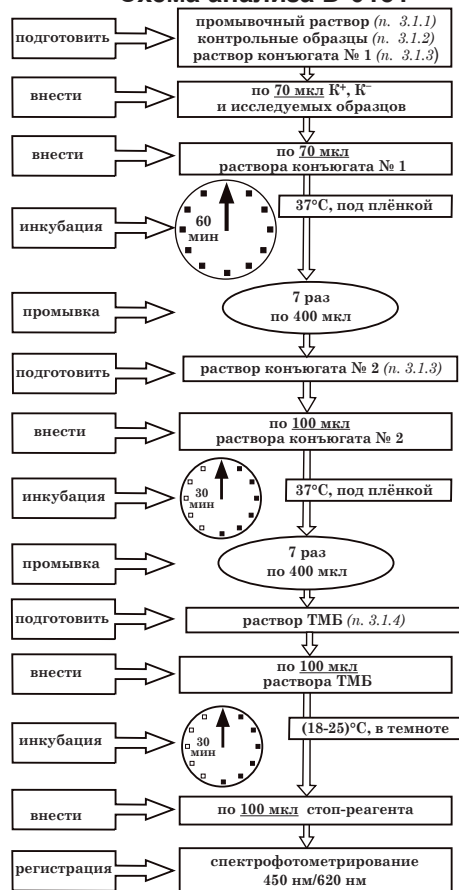
тел./факс: (383) 332-94-47, 332-94-44;

E-mail: plkobtk@vector-best.ru

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 227-60-34.

28.10.10

Схема анализа D-0151



**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

Internet: www.vector-best.ru