

ВЕКТОР



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

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

НАБОР РЕАГЕНТОВ

D-0152

КомбиБест ВИЧ-1,2 АГ/АТ (комплект 2)

КомбиБест ВИЧ-1,2 АГ/АТ (комплект 2)

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 разборного планшета и входящие в состав конъюгатов.

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

Один набор рассчитан на проведение 96 анализов, включая контроли. Для исследования небольшого количества проб возможны 12 независимых постановок по 8 анализов, включая контроли.

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 – 1 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⁻) – 2 фл.;
- конъюгат № 1 (*биотинилированные антитела к р24 ВИЧ-1*) – 1 фл.;
- конъюгат № 2 (*стрептавидин-пероксидаза и рекомбинантные белки ВИЧ-1 и ВИЧ-2, меченные пероксидазой хрена*) – 1 фл. или 2 фл.;
- раствор для предварительного разведения (РПР) – 1 фл., 8 мл;
- раствор для разведения конъюгата № 1 (РК1) – 1 фл., 9 мл;
- раствор для разведения конъюгата № 2 (РК2) – 1 фл., 13 мл;
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 2 фл., 28 мл;
- субстратный буферный раствор (СБР) – 1 фл., 13 мл;
- тетраметилбензидин (ТМБ), концентрат – 1 фл., 1,5 мл;
- стоп-реагент – 1 фл., 12 мл;
- ванночка для реагентов – 4 шт.;
- наконечники для пипетки – 32 шт.;
- плёнка для заклеивания планшета – 2 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.
- 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)°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 со-

стоянием 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 стрипов 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.

В соответствии с числом используемых стрипов отобрать необходимое количество ФСБ-Т×25 (см. таблицу) и развести его дистиллированной водой до указанного в таблице объёма.

Хранение: при (2-8)°С до 72 ч.

3.1.2. Контрольные образцы

Растворить контрольные образцы K1⁺, K2⁺ и K⁻, добавив в каждый флакон по 1,0 мл РПР.

Хранение: при (2-8)°С до 1 месяца.

3.1.3. Растворы конъюгатов

Внимание! Для работы с конъюгатами рекомендуем использовать одноразовые наколничники 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 перемораживание.

Таблица расхода реагентов

	Количество используемых стрипов											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Промывочный раствор											
ФСБ-Т×25, мл	4	8	12	16	20	24	28	32	36	40	44	48
Дистиллированная вода, мл	до 100	до 200	до 300	до 400	до 500	до 600	до 700	до 800	до 900	до 1000	до 1100	до 1200
	Раствор конъюгата № 1 в рабочем разведении											
Концентрированный раствор конъюгата № 1, мкл	α*	2×α	3×α	4×α	5×α	6×α	7×α	8×α	9×α	10×α	11×α	12×α
РК1, мл	0,7	1,4	2,1	2,8	3,5	4,2	4,9	5,6	6,3	7,0	7,7	8,4
	Раствор конъюгата № 2 в рабочем разведении											
Концентрированный раствор конъюгата № 2, мкл	β*	2×β	3×β	4×β	5×β	6×β	7×β	8×β	9×β	10×β	11×β	12×β
РК2, 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 ТМБ в рабочем разведении											
ТМБ (концентрат), 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

β = ▲▲▲ МКЛ

Внимание! Растворы конъюгатов № 1 и № 2 в рабочих разведениях готовить в пластиковых ванночках, входящих в состав набора, непосредственно перед использованием!

Тщательно взболтать содержимое флаконов с РК1 и с РК2.

В пластиковую ванночку отобрать необходимое количество концентрированного раствора конъюгата № 1 (см. таблицу), добавить соответствующее количество РК1, тщательно перемешать пипетированием.

В другую пластиковую ванночку отобрать необходимое количество концентрированного раствора конъюгата № 2 (см. таблицу), добавить соответствующее количество РК2, тщательно перемешать пипетированием.

3.1.4. Раствор ТМБ в рабочем разведении

Внимание! Раствор ТМБ в рабочем разведении готовить в пластиковой ванночке, входящей в состав набора, непосредственно перед использованием!

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

В пластиковую ванночку отобрать необходимое количество концентрата ТМБ (см. табли-

цу), добавить соответствующее количество СБР, тщательно перемешать пипетированием.

Раствор стабилен в защищённом от света месте при (18-25)°С 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 одну лунку стрипа внести **70 мкл K1⁺**, в одну лунку – **70 мкл K2⁺**, в две 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 стрипа 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 опорожением 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 стрипа 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 использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

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

3.2.5. 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;

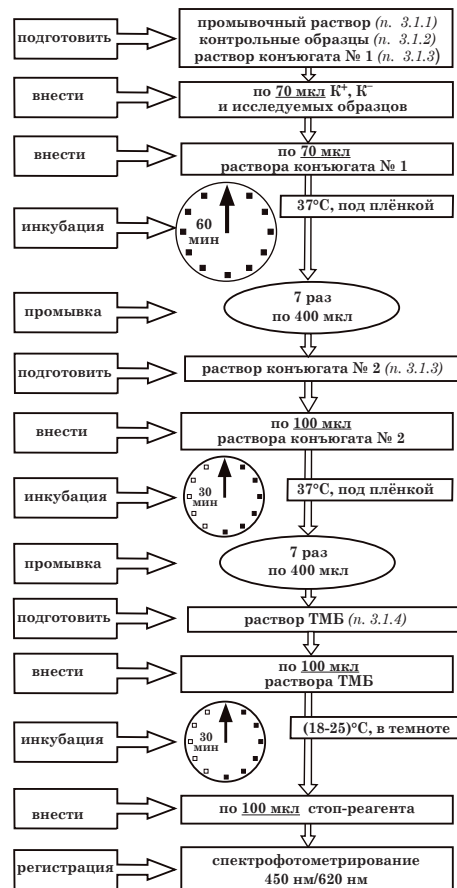
тел./факс: (383) 332-94-47, 332-94-44;

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-0152



**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