

ВЕКТОР

БЕСТ

Набор реагентов
для иммуноферментного
выявления антител
к вирусам иммунодефицита
человека 1 и 2 типов

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

КомбиБест анти-ВИЧ-1+2
(комплект 2)

НАБОР РЕАГЕНТОВ
D-0172

«КомбиБест анти-ВИЧ-1+2» (комплект 2)

представляет собой набор, основой которого являются рекомбинантные антигены ВИЧ-1 и ВИЧ-2, иммобилизованные на поверхности лунок планшета и входящие в состав конъюгата.

Основным свойством набора является его способность выявлять в сыворотке или плазме крови человека специфические антитела (*IgG*, *IgM*) к ВИЧ-1 и ВИЧ-2 за счёт их одновременного взаимодействия с рекомбинантными антигенами, иммобилизованными на поверхности лунок планшета и входящими в состав 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 4 лунки используют для постановки контролей.

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для выявления анти-тел (*IgG*, *IgM*) к ВИЧ-1 и ВИЧ-2 в сыворотке или плазме крови человека.

2. СОСТАВ НАБОРА

- планшет разборный с иммобилизованными рекомбинантными антигенами ВИЧ-1, ВИЧ-2 – 1 шт.;
- положительный контрольный образец, инактивированный (K^+) – 1 фл.;
- отрицательный контрольный образец, инактивированный (K^-) – 1 фл.;
- конъюгат (рекомбинантные белки ВИЧ-1 и ВИЧ-2, конъюгированные с пероксидазой хрена) – 1 фл. или 2 фл.;
- раствор для предварительного разведения (РПР) – 1 фл., 3 мл;
- раствор для разведения конъюгата (РК) – 2 фл. по 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), концентрат – 1 фл., 1,5 мл;
- стоп-реагент – 1 фл., 12 мл;
- плёнка для заклеивания планшета – 2 шт.;
- ванночка для реагентов – 2 шт.;
- наконечники для пипеток – 16 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, гемолизированные, гиперлипидные сыворотки или под-

вергавшиеся многократному замораживанию и оттаиванию.

- Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать не менее 30 мин при комнатной температуре (18-25)°С.
- 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 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 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, концентрат ТМБ, 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*), используемую 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 прогреть его до полного растворения осадка.

В соответствии с числом используемых стрипов отобрать необходимое количество ФСБ-Т×25 (см. таблицу, стр. 11) и развести его дистиллированной водой до указанного в таблице объёма или содержимое 1 флакона – до **700 мл**.

Хранение: при (2-8)°С до 72 ч.

3.1.2. Контрольные образцы

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

Хранение: при (2-8)°С до 1 месяца.

3.1.3. 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.

Таблица расхода реагентов

Количество используемых стрипов												
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
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												
Конъюгат (концентрат), 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	1,5	3,0	4,5	6,0	7,5	9,0	10,5	12,0	13,5	15,0	16,5	18,0
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

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

Тщательно взболтать содержимое флакона с раствором для разведения конъюгата (РК).

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

Конъюгат в рабочем разведении хранению не подлежит.

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

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

3.2. ПРОВЕДЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

3.2.1. Приготовить промывочный раствор (п. 3.1.1), контрольные образцы (п. 3.1.2), концентрированный раствор конъюгата (п. 3.1.3).

3.2.2. Приготовить раствор конъюгата в рабочем разведении (п. 3.1.3).

В 2 лунки стрипа внести по 30 мкл положительного контрольного образца (К⁺), в 2 лунки – по 30 мкл отрицательного контрольного образца (К⁻), в остальные лунки – по 30 мкл **цельных тестируемых сывороток.**

Затем во все лунки внести по 120 мкл **раствора конъюгата 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 клейкой плёнкой и инкубировать 1 час при 37°С.

3.2.3. 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 из лунок тщательно удалить влагу, постукивая перевёрнутыми стрипами по сложенной в несколько раз фильтровальной бумаге. Не допускать высыхания лунок стрипов между отдельными операциями при постановке реакции.

3.2.4. 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.

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

3.2.5. Остановить реакцию добавлением во все лунки по **100 мкл стоп-реагента** и немедленно измерить оптическую плотность (ОП).

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 при соблюдении следующих условий:

- среднее значение ОП в лунках с отрицательным контрольным образцом (ОП_{ср} К⁻) не более 0,2.
- среднее значение ОП в лунках с положительным контрольным образцом (ОП_{ср} К⁺) не менее 0,8.

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

$$\text{ОП}_{\text{крит}} = \text{ОП}_{\text{ср}} \text{ К}^- + 0,15.$$

5. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Наборы хранить и транспортировать при температуре (2-8)°С. Допускается транспортирование при температуре до 25°С не более 10 суток. Не допускать замораживания.

Срок годности набора – 18 месяцев со дня выпуска.

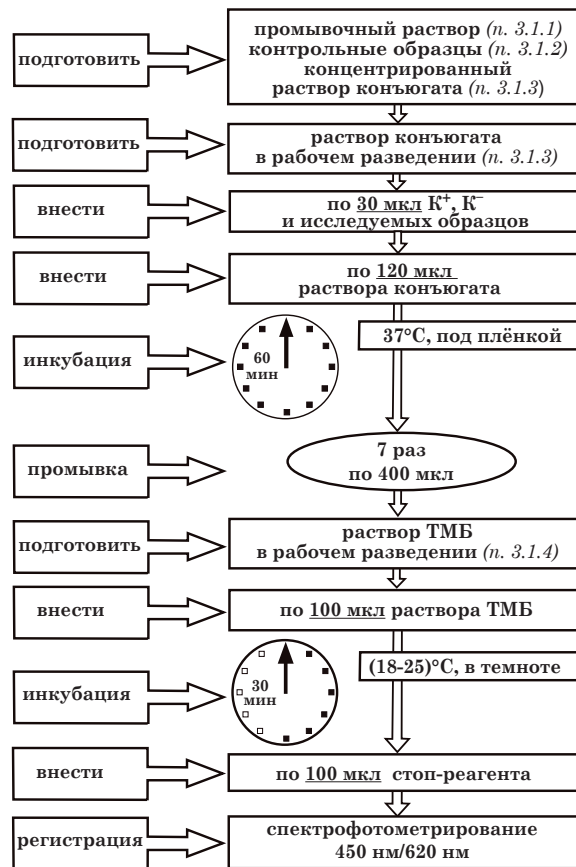
Рекламации на качество набора направлять:

в Государственный НИИ стандартизации и контроля медицинских препаратов (ГИСК) им. Л.А. Тарасевича по адресу: 119002, Москва, пер. Сивцев Вражек, 41, тел. (0495) 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

27.10.09

Схема анализа D-0172



**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