

ВЕКТОР



Набор реагентов  
для иммуноферментного  
выявления суммарных  
антител к ВИЧ-1,2

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

---

---

УниБест ВИЧ-1,2 АТ  
(комплект 1)

НАБОР РЕАГЕНТОВ

**D-0191**

**«УниБест ВИЧ-1, 2 АТ (комплект 1)»** представляет собой набор, основой которого являются рекомбинантные антигены вирусов иммунодефицита человека 1 и 2 типов (**ВИЧ-1 и ВИЧ-2**), иммобилизованные на поверхности лунок планшета и входящие в состав конъюгата.

Основным свойством набора является способность выявлять в сыворотке или плазме крови человека суммарные антитела к ВИЧ-1 и ВИЧ-2 за счёт их специфического 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 192 анализов (*по 5 лунок каждого планшета используют для постановки контролей*).

## 1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для выявления суммарных антител к ВИЧ-1 и ВИЧ-2 в сыворотке или плазме крови человека.

## 2. СОСТАВ НАБОРА

- планшет с иммобилизованными рекомбинантными антигенами ВИЧ-1, ВИЧ-2 – 2 шт.;
- положительный контрольный образец, инактивированный ( $K^+$ ) – 1 фл., 0,5 мл;
- отрицательный контрольный образец, инактивированный ( $K^-$ ) – 1 фл., 1 мл;
- конъюгат (рекомбинантные белки ВИЧ-1 и ВИЧ-2, меченные пероксидазой хрена) – 1 или 2 фл.;
- раствор для предварительного разведения (РПР) – 1 фл., 3 мл;
- раствор для разведения сывороток (РС) – 1 фл., 9 мл;
- раствор для разведения конъюгата (РК) – 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;
- плёнка для заклеивания планшета – 4 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  $(2-8)^{\circ}\text{C}$  не более 5 суток, либо при минус  $(20\pm 3)^{\circ}\text{C}$ , 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 тест-системы 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.
- Сразу после постановки реакции неиспользованный планшет и плотно закрытые флаконы с исходными компонентами необходимо поместить в холодильник (2-8)°С.
- Растворы ТМБ и конъюгата готовить непосредственно перед использованием. Необходимо исключить воздействие прямого света на раствор ТМБ.
- При промывке лунки (*стрипа, планшета*) заполнять полностью (**400 мкл промывочного раствора**), 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.
- Ванночки, используемые для работы с растворами конъюгата и ТМБ, не обрабатывать дезинфицирующими растворами и моющими средствами.
- В случае повторного использования ванночки для раствора конъюгата промыть дистиллированной водой; 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 контроль-

ными 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 во время проведения ИФА обрабатывать 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 ФСБ-Т×25. При выпадении в концентрате осадка солей прогреть 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. Раствор конъюгата

**Внимание!** Для работы с конъюгатом рекомендуем использовать одноразовые накопечники 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 2 недель, при минус 20°С – в течение 2-х месяцев. Допускается 5-кратное замораживание.

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

Отобрать из флакона **▲▲▲ мкл концентрированного раствора конъюгата**, внести во флакон с раствором для разведения конъюгата (**РК**) и тщательно перемешать.

*Раствор конъюгата в рабочем разведении хранению не подлежит.*

### 3.1.3. Раствор ТМБ в рабочем разведении

***Внимание!** Раствор ТМБ готовить непосредственно перед использованием!*

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

К содержимому флакона с СБР добавить **650 мкл ТМБ** и тщательно перемешать.

*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), концентрированный раствор конъюгата (п. 3.1.2).

3.2.2. Во все лунки внести по **30 мкл** раствора для разведения сывороток (РС).

Затем в 2 лунки планшета внести по **70 мкл К<sup>+</sup>**, в 3 лунки – по **70 мкл К<sup>-</sup>**, в остальные лунки – по **70 мкл** цельных тестируемых сывороток.

***Внимание!** Сыворотки и контрольные образцы вносить в лунки аккуратно, избегая разбрызгивания.*

Лунки заклеить плёнкой и инкубировать 1 час при 37°С.

За 1-2 мин до окончания инкубации приго-

товить раствор конъюгата в рабочем разведении (п. 3.1.2).

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 опорожением лунок должно быть не менее 30 сек.*

По окончании промывки необходимо тщательно удалить влагу из лунок, постукивая перевёрнутым планшетом по сложенной в несколько слоёв фильтровальной бумаге. *Не допускать высыхания лунок планшета между отдельными операциями при постановке реакции.*

3.2.4. Во все лунки планшета внести по **100 мкл раствора конъюгата в рабочем разведении.**

***Внимание!** Для внесения раствора конъюгата использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.*

Лунки заклеить плёнкой и инкубировать 30 мин при 37°С.

3.2.5. По окончании инкубации содержимое

лунок собрать в сосуд с дезинфицирующим раствором, промыть лунки 7 раз промывочным раствором и удалить влагу из лунок как описано выше.

3.2.6. Приготовить раствор ТМБ в рабочем разведении (п. 3.1.3).

Во все лунки внести по **100 мкл раствора ТМБ**.

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

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

3.2.7. Остановить реакцию добавлением в каждую лунку по **100 мкл стоп-реагента** и через 2-3 минуты измерить оптическую плотность (ОП).

**Внимание!** Следует избегать попадания стоп-реагента (0,5 М H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 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<sub>ср</sub> К<sup>-</sup>) не более 0,25,

– значение ОП в лунках с положительным контрольным образцом (ОП К<sup>+</sup>) не менее 0,8.

Исследуемую сыворотку расценивать как положительную, если соответствующее ей значение ОП ≥ ОП<sub>крит</sub>, 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 (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.

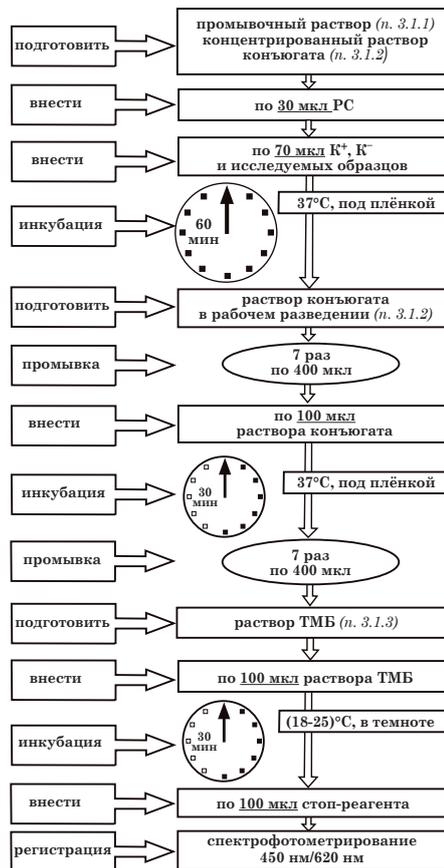
Рекламации на качество набора направлять:

в Государственный НИИ стандартизации и контроля медицинских препаратов (ГИСК) им. Л.А. Тарасевича по адресу: 119002, Москва, пер. Сивцев Вражек, 41, тел. (495) 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

02.11.09

## Схема анализа D-0191



**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](mailto:vbmarket@online.nsk.su)

Internet: [www.vector-best.ru](http://www.vector-best.ru)