

ІНСТРУКЦІЯ З ВИКОРИСТАННЯ

Набір реагентів для імуноферментного виявлення сумарних антитіл до ВІЛ-1,2 «УніБест ВІЛ-1,2 АТ»

«УніБест ВІЛ-1,2 АТ» являє собою набір, основою якого є рекомбінантні антигени ВІЛ-1 та ВІЛ-2, іммобілізовані на поверхні лунок планшету та входять до складу кон'югату.

Один набір розрахований на проведення: (комплект 1) - 96 аналізів, (комплект 2) - 192 аналізи, (комплект 3) – 480 аналізів включаючи контролю. Всі набори стрипової комплектації.

Набір адаптований для постановки ІФА на аналітичних аналізаторах відкритого типу («MULTISCAN», виробник «Labsystems», «TECAN SUNRISE», виробник «TECAN», «PR-2100», виробник «BIO-RAD» тощо).

1. ПРИЗНАЧЕННЯ

Набір призначений для виявлення сумарних антитіл (IgG, IgM, IgA) до ВІЛ-1 та ВІЛ-2 у сироватці або плазмі крові людини.

2. СКЛАД НАБОРУ (з розрахунку на 1 планшет)

- **планшет-імуносорбент** з іммобілізованими рекомбінантними антигенами ВІЛ-1, ВІЛ-2 .;
- позитивний контрольний зразок, інактивований (K+) – 1 фл.;
- негативний контрольний зразок, інактивований (K-) – 1 фл.;
- кон'югат (рекомбінантні білки ВІЛ-1 і ВІЛ-2, кон'юговані з пероксидазою хрину) – 1 фл.;
- розчин для попереднього розведення (РПР) – 1 фл.;
- розчин для розведення кон'югату (РК) – 1 фл.;
- концентрат фосфатно-сольового буферного розчину з твіном (ФСБ-Тх25) – 1 фл.;
- субстратний буферний розчин (СБР) – 1 фл.;
- тетраметилбензидин (ТМБ), концентрат – 1 фл.;
- стоп-реагент – 1 фл.;
- набір може додатково комплектуватися ванночками для реактивів, наконечниками для піпеток, плівкою для заклеювання планшетів.

3. СПОСІБ ВИКОРИСТАННЯ

При роботі з досліджувальними сироватками і контрольними зразками слід дотримуватись заходів безпеки, прийняті при роботі з потенційно інфекційним матеріалом: працювати в гумових рукавичках; не піпетувати розчини ротом; всі використані матеріали знезаразити відповідно до вимог чинного законодавства.

УВАГА! Ретельне дотримання описаних нижче вимог дозволить уникнути спотворення результатів ІФА.

- Для приготування розчинів та проведення ІФА слід використовувати чистий мірний посуд, автоматичні піпетки з погрешністю виміру об'ємів не більше 5%.
- Бажано використовувати свіжовідібрані зразки сироватки (плазми) крові. Допускається використання зразків, що зберігалися при (2-8)°С не більше 5 діб, або при мінус (20±3)°С, якщо необхідне триваліше зберігання.
- Сироватки, що містять зважені частки, можуть дати неправильний результат. Такі зразки перед використанням слід центрифугувати 10-15 хвилин при 3000 об/хв.
- Не можна використовувати пророслі, гемолізовані, гіперліпідні сироватки або які було повторно заморожено та розморожено.
- Перед постановкою реакції всі компоненти набору необхідно витримати при температурі від 18 до 25°С не менше 30 хв.
- Ліофілізовані компоненти мають бути відновлені, як мінімум, за 15 хвилин до їх використання.
- Відразу після постановки реакції невикористаний планшет, щільно закриті флакони з вихідними компонентами необхідно помістити в холодильник (2-8)°С.

- Розчини ТМБ і кон'югату в робочому розведенні готувати безпосередньо перед використанням. Необхідно виключити дію прямого світла на розчин ТМБ!
- При промиванні лунки (стрипа, планшета) заповнювати повністю, не допускаючи переливання промиваючого розчину через краї лунок, не торкаючись лунок наконечником дозатора. Час між заповненням і спорожненням лунок має бути не менше 30 сек.
- При використанні автоматичного або ручного промивача необхідно стежити за станом ємкості для промивального розчину і сполучних шлангів: у них не повинно бути «заростів». Раз на тиждень бажано ємкість для промивального розчину і шланги промивати 70% спиртом.
- Не допускати висихання лунок планшета між окремими операціями.
- При постановці ІФА не можна використовувати компоненти з наборів різних серій або змішувати їх при приготуванні розчинів, окрім неспецифічних компонентів (ФСБ-Тх25, СБР, концентрат ТМБ, стоп-реагент), які взаємозамінні у всіх наборах. Але за додатковою інформацією потрібно звертатись до виробника.
- Забороняється повторне використання планшета для попереднього нанесення сироваток.
- При приготуванні розчинів і проведенні ІФА слід використовувати **одноразові** наконечники для дозаторів.
- Посуд (*ванночки*), який застосовується для роботи з розчинами кон'югату й ТМБ, не обробляти дезінфікуючими розчинами і миючими засобами.
- В разі повторного використання посуду (*ванночки*) для розчину кон'югату промити проточною водою й ретельно ополоснути дистильованою водою; посуд (*ванночки*) для розчину ТМБ відразу після роботи промити 50% розчином етилового спирту, а потім дистильованою водою.
- Для дезінфекції посуду та матеріалів, що контактують з досліджуваними й контрольними зразками, рекомендуємо використовувати дезінфікуючі засоби, що не надають негативної дії на якість ІФА, які не містять активний кисень і хлор, наприклад, комбіновані засоби на основі ЧАЗ (*четвертинних амонієвих з'єднань*), спиртів, третинних амінів.
- Піпетки та робочі поверхні обробляти лише 70% розчином етилового спирту. Не використовувати під час проведення ІФА перекис водню, хлорамін і т.д.

3.1. ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ

3.1.1. Промиваючий розчин

Збовтати вміст флакону з ФСБ-Тх25. При випадінні в концентраті осаду солей прогріти його до повного розчинення осаду. У відповідності з кількістю стрипів до використання, відібрати необхідну кількість ФСБ-Тх25 (див. табл.) та розвести дистильованою водою у відповідності до вказаних в таблиці об'ємів.

Зберігання: при (2-8)°C до 5 діб.

3.1.2. Контрольні зразки

Контрольні зразки K+ та K– готові до застосування. Перед використанням збовтати.

Зберігання: при (2-8)°C до кінця терміну придатності.

(У разі наявності ліофілізованих контрольних зразків, розчинити контрольні зразки K+ і K–, додавши в кожен флакон по 300 мкл РПР. Зберігати при (2-8)°C 1 місяць).

3.1.3. Розчини кон'югату

Увага! Для роботи з кон'югатами рекомендуємо використовувати **одноразові** наконечники для піпеток.

Концентрований розчин кон'югату готуються шляхом розчинення вмісту флакону з кон'югатом у 1 мл РПР.

Зберігання: концентровані розчини кон'югату – при (2-8)°C до 1 міс. У разі більш тривалого зберігання при мінус (18-40)°C, допускається 5-ти кратне замороження.

Увага! Розчини кон'югатів для робочого розведення готувати **безпосередньо перед використанням!**

Відібрати з флакону необхідну мкл концентрованого розчину кон'югату та внести до флакону з РК, ретельно збовтати.

Кон'югат в робочому розведенні зберігання не підлягає.

3.1.4. Розчин ТМБ в робочому розведенні

Увага! Розчин ТМБ в робочому розведенні готувати в пластиковій ванночці безпосередньо перед використанням!

Рекомендуємо виділити наконечники для піпеток, які використовувати лише для роботи з ТМБ.

В пластикову ванночку відібрати необхідну кількість ТМБ (див. табл.), додати необхідну кількість СБР, ретельно перемішати.

Увага! Допустиме блакитне фарбування розчину ТМБ в робочому розведенні, яке не робить впливу на результати аналізу.

Розчин стабільний в захищеному від світла місці при (18-25)°C до 3-х год.

Таблиця витрат реагентів

	Кількість використовуваних стрипів											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Промиваючий розчин												
ФСБ-Т×25, мл	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24
Дистильована 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
Розчин кон'югату в робочому розведенні												
Кон'югат (концентрат), мкл	к*	2×к	3×к	4×к	5×к	6×к	7×к	8×к	9×к	10×к	11×к	12×к
РК, мл	1,2	2,4	3,6	4,8	6,0	7,2	8,4	9,6	10,8	12	13,2	14,4
Розчин ТМБ в робочому розведенні												
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

К*=65 мкл (значення **к** > 65 мкл)

3.2. ПРОВЕДЕННЯ ІМУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛІЗУ

3.2.1. Приготувати промиваючий розчин (п. 3.1.1), контрольні зразки (п. 3.1.2), концентрований розчин кон'югату (п. 3.1.3). Підготувати необхідну кількість стрипів. Інші стрипи, які не буде використано при постановці, упакувати та зберігати при (2-8)°С.

3.2.2. Приготувати розчин кон'югату в робочому розведенні (п. 3.1.3).

У 2 лунки планшета внести по **30 мкл К-**, у 1 лунку – **30 мкл К+**, в інші лунки – по **30 мкл** тестованих зразків сироваток (плазми). Потім в усі лунки внести по **120 мкл розчину кон'югату в робочому розведенні**. На даному етапі спостерігається зміна кольорової індикації.

Увага! Для внесення розчину кон'югату використовувати пластикову ванночку й одноразові наконечники, що входять до складу набору.

При внесенні розчину кон'югату не можна торкатися наконечником піпетки поверхні лунки й сироватки, що знаходиться в ній. Вміст лунок ретельно перемішати обережним постукуванням по краях планшета.

Лунки заклеїти плівкою та інкубувати при 37°С 60 хв. (процедура 1).

При струшуванні на шейкері при 37°С 40 хв. (процедура 2).

3.2.3. Після закінчення інкубації вміст лунок зібрати в ємкість з дезінфікуючим розчином, промити лунки планшета 7 разів промиваючим розчином.

Увага! Кожну лунку при промиванні необхідно заповнювати повністю (**400 мкл промиваючого розчину**). Необхідно досягнути повного спорожнення лунок після кожного їх заповнення. Час між заповненням і спорожненням лунок має бути не менше 30 сек.

Після закінчення промивання необхідно ретельно видалити вологу з лунок, постукуючи перевернутим планшетом по складеному в декілька шарів фільтрувальному паперу. Не допускати висихання лунок планшетів між окремими операціями при постановці реакції.

3.2.5. Приготувати розчин ТМБ в робочому розведенні (п. 3.1.4).

У всі лунки внести по **100 мкл розчину ТМБ в робочому розведенні**.

Увага! Для внесення розчину ТМБ в робочому розведенні використовувати пластикову ванну і одноразові наконечники, що входять до складу набору.

Планшет помістити в захищене від світла місце при (18-25)°С на 30 хв.

3.2.6. Зупинити реакцію додаванням у всі лунки по **100 мкл стоп-реагенту** і через 2-3 хвилини виміряти оптичну густину (ОГ).

Увага! Слід уникати попадання стоп-реагенту на одяг та відкриті ділянки тіла. При попаданні – промити великою кількістю води.

4. РЕЄСТРАЦІЯ ТА ОЦІНКА РЕЗУЛЬТАТІВ

Результати ІФА реєструвати за допомогою спектрофотометру, вимірюючи оптичну густину (ОГ) в двох хвильовому режимі: основний фільтр – 450 нм, референс-фільтр – в діапазоні 620-650 нм. Допустима реєстрація результатів лише з фільтром 450 нм. Виведення спектрофотометру на нульовий рівень («бланк») здійснювати по повітрю. Вимірювання проводити через 2-3 хвилини після постановки реакції.

Час між зупинкою реакції та вимірюванням ОГ не повинен перевищувати 10 хвилин.

Результати досліджень враховувати лише при дотриманні наступних умов:

- середнє значення ОГ в лунках з негативним контрольним зразком (ОГсер К-) не більше 0,2;
- середнє значення ОГ в лунках з позитивними контрольними зразками (ОГсер К+) не менше 0,8.

Досліджувану сироватку розцінювати як позитивну, якщо відповідне нею значення ОГ перевищує або рівне ОГ_{крит}, яку розрахувати по формулі:

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

5. УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ ТА ТРАНСПОРТУВАННЯ

Набори зберігати і транспортувати при (2-8)°С. Допускається транспортування при температурі до 25°С не більше 10 діб.

Не допускати заморожування!

Термін придатності набору реагентів – 18 місяців з дня випуску.

По питаннях, що стосуються якості набору, звертатися

З питань, що стосуються якості набору, звертатися в ТОВ «Бест Діагностик» за адресою:

04074, м. Київ-74, вул.Лугова, 9,

тел./факс: (044) 500-57-11

e-mail: info@bestdiagnostic.com.ua

Виробник залишає за собою право в разі вдосконалення набору вносити зміни до інструкції та комплектації.