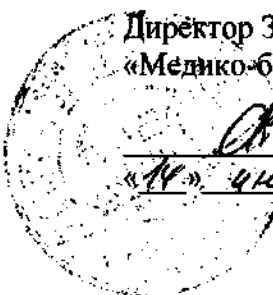


УТВЕРЖДЕНА

УТВЕРЖДАЮ

Приказом Росздравнадзора

от _____ 200 г. № _____

Директор ЗАО
«Медико-биологический Союз»

М.В.Лосев
«14» 4/10/99 2002 г.

ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов

«ВИЧ-1,2-АГ/АТ»

тест-система иммуноферментная для одновременного выявления антител
к вирусу иммунодефицита человека первого и второго типов (ВИЧ-1 и ВИЧ-2) и
антигена р24 ВИЧ-1

Настоящая инструкция распространяется на набор реагентов «ВИЧ-1,2-АГ/АТ» – тест-систему иммуноферментную, предназначенную для одновременного выявления антител к вирусу иммунодефицита человека первого и второго типов (ВИЧ-1 и ВИЧ-2) и антигена р24 ВИЧ-1 методом непрямого иммуноферментного анализа (ИФА) на твердофазном носителе.

Состав набора: иммуносорбент – смесь рекомбинантных антигенов ВИЧ-1 и ВИЧ-2 и моноклональных антител к антигену р24 ВИЧ-1, сорбированная в лунках полистироловых разборных или полистироловых монолитных планшетов; К+АТ – контрольный положительный образец – сыворотка крови человека, содержащая антитела к ВИЧ-1 и ВИЧ-2, не содержащая антитела к ВГС, антиген р24 ВИЧ-1 и HBs-антиген, инаktivированная прогреванием в течение 3 ч при температуре 56 °С, – прозрачная синего цвета жидкость; К+АГ – контрольный положительный образец – сыворотка крови человека, содержащая нативный антиген р24 ВИЧ-1, не содержащая антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2, ВГС и HBs-антиген, инаktivированная прогреванием в течение 3 ч при температуре 56 °С, – лиофилизированная белого или светло-желтого цвета аморфная масса в виде таблетки или порошка; К- – контрольный отрицательный образец – сыворотка крови человека, не содержащая антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2, ВГС, антиген р24 ВИЧ-1 и HBs-антиген, инаktivированная прогреванием в течение 3 ч при температуре 56 °С, – прозрачная желтого цвета жидкость; РК-1 – раствор конъюгата №1 – смесь меченых биотином моноклональных человеческих антител против антигена р24 ВИЧ-1 и меченых биотином рекомбинантных белков ВИЧ-1 и ВИЧ-2 – непрозрачная оранжевого цвета жидкость, допускается образование осадка; Кг-2 – конъюгат №2 (концентрат) – стрептавидин, конъюгированный с пероксидазой хрена, – прозрачная бесцветная жидкость; РРК-2 – раствор для разведения конъюгата №2 (концентрата) – прозрачная зеленого цвета жидкость; или (в зависимости от комплектации) РК-2 – раствор конъюгата №2 (вместо Кг-2 и РРК-2) – прозрачная зеленого цвета жидкость, допускается образование осадка; БРС – буферный раствор субстрата – прозрачная бесцветная жидкость; ТМБ – хромоген – прозрачная бесцветная или светло-желтого цвета жидкость; или (в зависимости от комплектации) РХ – раствор хромогена (вместо БРС и ТМБ) – прозрачная бесцветная жидкость; ФСБ-Т(х25) – 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (для промывания планшет) – прозрачная, слегка опалесцирующая, бесцветная жидкость, допускается выпадение кристаллического осадка, растворяющегося при температуре 37 °С в течение 30 мин, допускается расслаивание компонентов; стоп-реагент – прозрачная бесцветная жидкость.

Набор рассчитан на проведение 96 или 192 определений, включая контрольные образцы.

Назначение

Одновременное выявление антител к вирусу иммунодефицита человека первого и второго типов (ВИЧ-1 и ВИЧ-2) и антигена р24 ВИЧ-1 в сыворотке (плазме) крови человека.

Способ применения

Предупреждение! Несмотря на то, что тест-система «ВИЧ-1,2-АГ/АТ» является полностью биологически безопасной, с ней следует обращаться, как с потенциально инфекционным материалом:

- работать в перчатках резиновых;
- все использованные материалы подвергать обработке раствором спирта этилового с объемной долей 70 % или раствором водорода перекиси с массовой долей 6 % с последующей выдержкой при температуре от 17 °С до 27 °С не менее 2 ч.

Внимание! Несоблюдение описанных ниже требований может привести к появлению неверных результатов или к порче компонентов тест-системы.

- При проведении анализа нельзя использовать реагенты из наборов разных серий или смешивать их в процессе приготовления растворов.

- Для приготовления растворов следует использовать чистую посуду.

- Для приготовления исследуемых проб и реагентов использовать автоматические пипетки с погрешностью измерения не более 3 %.

- В процессе промывки необходимо полностью заполнять лунки планшета (от 300 до 400 мкл рабочего раствора ФСБ-Т).

- Время между заполнением и опорожнением лунок планшета растворами и реагентами должно быть не менее 30 с. Не допускать высыхания лунок планшета между отдельными операциями.

- При внесении в лунки РК-1 нельзя касаться наконечником пипетки поверхности планшета и раствора, находящегося в лунках.

- Для работы с исследуемыми сыворотками и контрольными образцами рекомендуется использовать одноразовые наконечники для пипеток. В случае повторного использования наконечники необходимо подготовить следующим образом: выдержать в растворе перекиси водорода с массовой долей 6 % в течение 2 ч, промыть 10 раз в воде водопроводной проточной, 3 раза в воде очищенной, прокипятить 40 мин в воде очищенной.

- Не обрабатывать дезрастворами и моющими средствами посуду, емкости для растворов, наконечники для пипеток, используемые для работы с остальными реагентами набора. В случае повторного использования промыть водой водопроводной проточной, а затем 5 раз ополоснуть водой очищенной.

- Для работы с ТМБ и РХ необходимо использовать отдельные емкости для растворов, наконечники для пипеток, посуду. В случае повторного использования промыть сразу после работы раствором спирта этилового с объемной долей 50 %, а затем водой очищенной.

- Пипетки и рабочие поверхности обрабатывать раствором спирта этилового с объемной долей 70 %. Не использовать хлорамин и другие хлорсодержащие вещества.

- При использовании автоматического и ручного промывателя необходимо следить за состоянием емкости для рабочего раствора ФСБ-Т и соединительных шлангов: в них не должно быть признаков бактериального или грибкового роста.

Для проведения анализа дополнительно требуются следующие материалы:

- вода очищенная при температуре от 17 °С до 27 °С;
- спирт этиловый с объемной долей 70 % и водорода перекись с массовой долей 6 %;
- перчатки резиновые.

1 Приготовление реагентов

Перед проведением анализа набор выдержать в течение 30 мин при температуре от 17 °С до 27 °С.

1.1 Приготовление рабочего раствора ФСБ-Т (для промывки планшетов)

Внимание!

- Рабочий раствор ФСБ-Т готовить за 15 мин до проведения анализа.

- При наличии во флаконе с ФСБ-Т(х25) осадка флакон с концентратом выдержать при температуре 37 °С до полного растворения солей.

Содержимое одного флакона с ФСБ-Т(х25) перенести в мерный цилиндр и довести объем раствора до 1250 мл водой очищенной.

В случае использования для постановки ИФА одного или нескольких стрипов планшета в мерный цилиндр отобрать необходимые объемы ФСБ-Т(х25) и воды очищенной в соответствии с таблицей 1.

Таблица 1 – Расход реагентов тест-системы для постановки ИФА

Объем	Количество используемых стрипов, шт.											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<i>Приготовление рабочего раствора ФСБ-Т</i>												
ФСБ-Т(х25), мл	4	8	12	16	20	24	28	32	36	40	44	48
Очищенная 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
<i>Приготовление рабочего раствора Кг-2</i>												
Кг-2, мкл	33	68	100	133	165	200	230	270	300	330	370	400
РРК-2, мл	1,3	2,7	4,0	5,3	6,6	8,0	9,3	10,6	12,0	13,3	14,6	16,0
<i>Приготовление рабочего раствора ТМБ</i>												
ТМБ	V/12	V/6	V/4	V/3	5/12 V	V/2	7/12 V	2/3 V	3/4 V	5/6 V	11/12 V	V
БРС, мл	1,3	2,7	4,0	5,3	6,6	8,0	9,3	10,6	12,0	13,3	14,6	16,0

Хранение: ФСБ-Т(х25) в течение срока годности набора при температуре от 2 °С до 8 °С в плотно закрытом флаконе.

1.2 Подготовка контрольных сывороток

К- и К+АТ готовы к применению.

К+АГ восстановить за 15 мин до проведения анализа.

Для приготовления раствора К+АГ необходимо внести во флакон с К+АГ объем (V в мл) очищенной воды, указанный на этикетке флакона. Флакон закрыть пробкой, выдержать 10 мин при температуре от 17 °С до 27 °С, затем тщательно перемешать содержимое флакона.

Хранение: К- и К+АТ не более 48 ч при температуре от 17 °С до 27 °С, остаток К- и К+АТ в течение срока годности набора при температуре от 2 °С до 8 °С в плотно закрытых флаконах.

К+АГ хранить в закрытом флаконе при температуре от 2 °С до 8 °С не более 1 месяца, при температуре минус 20 °С не более 6 месяцев. Допускается однократное замораживание и оттаивание восстановленного К+АГ.

1.3 Подготовка РК-1, РК-2, РРК-2 и РХ

Внимание! Необходимо исключить воздействие прямого солнечного света на РХ.

РК-1, РК-2, РРК-2 и РХ готовы к использованию.

Во флаконах с РК-1 и РК-2 возможно выпадение осадка. Для проведения анализа использовать надосадочную жидкость.

Хранение: неиспользованные РК-1, РК-2, РРК-2 и РХ в течение срока годности набора при температуре от 2 °С до 8 °С в плотно закрытых флаконах.

1.4 Приготовление рабочего раствора Кг-2

Внимание! Рабочий раствор Кг-2 готовить непосредственно перед использованием.

Из флакона с Кг-2 отобрать указанный на этикетке объем (V в мл) и перенести во флакон с РРК-2. Раствор тщательно перемешать, не допуская образования пены.

В случае использования одного или нескольких стрипов планшета в чистый флакон отобрать необходимое количество РРК-2 и добавить Кг-2 в соответствии с таблицей 1.

Хранение: рабочий раствор Кг-2 не более 15 мин при температуре от 17 °С до 27 °С, остаток Кг-2 в плотно закрытом флаконе в течение срока годности набора при температуре от 2 °С до 8 °С.

1.5 Приготовление рабочего раствора ТМБ

Внимание!

- Рабочий раствор ТМБ готовить непосредственно перед использованием в защищенном от света месте.

- В случае кристаллизации ТМБ флакон с реагентом выдержать в течение 3-5 мин при

температуре 37 °С до полного растворения ТМБ.

Из флакона с ТМБ отобрать указанный на этикетке объем (V в мл) и перенести во флакон с БРС. Раствор осторожно перемешать.

В случае использования одного или нескольких стрипов планшета в чистый флакон отобрать необходимое количество БРС и добавить ТМБ в соответствии с таблицей 1.

Хранение: остаток ТМБ в плотно закрытом флаконе в течение срока годности набора при температуре от 2 °С до 8 °С в защищенном от света месте.

1.6 Подготовка стоп-реактента

Стоп-реактент готов к использованию.

Хранение: не ограничено.

2 Подготовка исследуемых образцов

2.1 Для проведения анализа использовать образцы сыворотки (плазмы) крови человека объемом не менее 100 мкл.

2.2 Для анализа можно использовать сыворотку (плазму) крови человека как свежеприготовленную, так и хранившуюся не более 5 суток при температуре от 2 °С до 8 °С или не более одного года при температуре минус 20 °С.

2.3 Исследуемые сыворотки готовить и хранить в условиях, исключающих возможность бактериальной контаминации.

2.4 Не использовать сыворотки с признаками бактериального пророста, гемолизированные, гиперлипидные или подвергавшиеся многократному замораживанию-оттаиванию.

2.5 Сыворотки, содержащие взвешенные частицы, перед использованием следует центрифугировать в течение 15 мин при скорости вращения 3000 об/мин.

2.6 Каждый образец сыворотки отбирать новым наконечником.

3 Проведение ИФА

3.1 Проведение ИФА при ручной постановке (комплект 1, комплект 2)

3.1.1 Перед началом работы освободить от упаковки необходимое число стрипов и закрепить их на рамке.

Неиспользованные стрипы хранить в плотно закрытом пакете с влагопоглотителем при температуре от 2 °С до 8 °С в течение 3 месяцев.

3.1.2 В две лунки двенадцатого ряда планшета внести по 100 мкл К+АТ, в две другие лунки этого же ряда по 100 мкл К+АГ, в три лунки – по 100 мкл К-.

При постановке ИФА на одном стрипе допускается использовать для К- две лунки, для К+АТ - одну лунку, для К+АГ – одну лунку.

В остальные лунки планшета внести по 100 мкл исследуемых сывороток.

3.1.3 Сразу после внесения контрольных образцов и образцов исследуемых сывороток внести во все лунки планшета по 50 мкл РК-1 (раствора конъюгата №1). Содержимое лунок перемешать осторожным постукиванием по краям планшета.

Планшет накрыть крышкой или заклеить клейкой пленкой и инкубировать в течение 60 мин при температуре 37 °С.

3.1.4 По окончании инкубации удалить содержимое лунок и промыть планшет семь раз рабочим раствором ФСБ-Т. Для этого внести в каждую лунку планшета раствор до полного заполнения, а затем удалить содержимое лунок в емкость с дезраствором. Остатки раствора из лунок удалить, активно постукивая перевернутым планшетом (лунками вниз) по сложенной в несколько раз фильтровальной бумаге.

3.1.5 Внести в каждую лунку планшета по 150 мкл рабочего раствора Кг-2 (конъюгата №2) (см. приготовление 1.4) или, в зависимости от комплектации набора, по 150 мкл РК-2 (раствора конъюгата №2).

Планшет накрыть крышкой или заклеить клейкой пленкой и инкубировать в течение 30 мин при температуре 37 °С.

3.1.6 По окончании инкубации удалить содержимое лунок и промыть планшет семь раз рабочим раствором ФСБ-Т (см. 3.1.4).

3.1.7 Внести в каждую лунку планшета по 150 мкл рабочего раствора ТМБ (см. приготовление 1.5) или, в зависимости от комплектации, по 150 мкл РХ (раствора хромогена).

Планшет накрыть крышкой или заклеить клейкой пленкой и инкубировать в защищенном от света месте в течение 25 мин при температуре 37 °С.

3.1.8 Остановить реакцию внесением в каждую лунку планшета по 50 мкл стоп-реактанта.

3.2 Проведение ИФА на автоматическом анализаторе (комплект 3)

3.2.1 Залить рабочий раствор ФСБ-Т в предназначенную для него емкость анализатора.

3.2.2 Залить остальные рабочие растворы, реагенты, К+АТ, К+АГ, К- и анализируемые сыворотки в специальные контейнеры.

3.2.3 Поместить в анализатор планшет-иммуносорбент.

3.2.4 Задать программу проведения ИФА:

Внесение растворов	2 лунки – по 100 мкл К+АТ; 2 лунки – по 100 мкл К+АГ; 3 лунки – по 100 мкл К-; в остальные лунки – по 100 мкл исследуемых сывороток; во все лунки – по 50 мкл РК-1
Инкубация	60 мин при температуре 37 °С
Промывка	7 раз рабочим раствором ФСБ-Т
Внесение раствора	по 150 мкл рабочего раствора Кг-2 или по 150 мкл РК-2
Инкубация	30 мин при температуре 37 °С
Промывка	7 раз рабочим раствором ФСБ-Т
Внесение раствора	по 150 мкл рабочего раствора ТМБ или по 150 мкл РХ
Инкубация	25 мин при температуре 37 °С в защищенном от света месте
Внесение раствора	по 50 мкл стоп-реактанта

3.2.5 Включить анализатор.

Учет результатов

При ручной постановке ИФА измерить величину оптической плотности (ОП) растворов в лунках планшета на спектрофотометре при длине волны 450 нм. Нулевой уровень («бланк») установить по воздуху.

Время между остановкой реакции и измерением ОП в случае использования рабочего раствора ТМБ не должно превышать 10 мин, при использовании РХ (раствора хромогена) – не более 40 мин.

При постановке ИФА на автоматическом анализаторе прибор выдаст протокол результатов исследования по окончании анализа (общее время 2 ч).

Результаты учитывать только при условиях:

- среднее значение ОП в лунках с К- (ОПК-ср.) не должно превышать 0,2;
- каждое отдельное значение (ОПК-) не должно отклоняться от (ОПК-ср.) более чем на 30 %. Если одно из трех значений (ОПК-) выходит за этот предел, его следует исключить из расчета (ОПК-ср.). Если два из трех значений (ОПК-) выходят за этот предел, анализ следует повторить на реагентах нового набора;
- средние значения ОП в лунках с К+АТ (ОПК+АТср.) и К+АГ (ОПК+АГср.) должны быть более 1,0.

ОП_{крит.} рассчитать по формуле

$$\text{ОП}_{\text{крит.}} = (\text{ОПК-ср.}) + 0,16,$$

где (ОПК-ср.) – среднее значение ОП (ОПК-) по трем (двум) лункам.

Исследуемую сыворотку расценивать как *положительную*, т.е. содержащую антитела к ВИЧ-1, и/или к ВИЧ-2, и/или антиген р24 ВИЧ-1, если ОП исследуемой сыворотки равна или превышает ОП_{крит.}

Исследуемую сыворотку расценивать как *отрицательную*, если значение ОП сыворотки ниже ОП_{крит.}

Форма выпуска

Набор реагентов «ВИЧ-1,2-АГ/АТ» выпускают в виде набора, упакованного в коробку из картона. В коробку вкладывают инструкцию по применению, клейкую пленку для планшетов, емкость для растворов, наконечники для пипеток.

Набор реагентов выпускают в виде трех комплектов:

Наименование компонента	Комплект 1	Комплект 2		Комплект 3	
Иммуно-сорбент	разборный, 1 шт.	монолитный, 2 шт.	разборный, 2 шт.	монолитный, 2 шт.	разборный, 2 шт.
К+АТ	1 фл. (2 мл)	1 фл. (1 мл)	1 фл. (3 мл)	1 фл. (3 мл)	1 фл. (5 мл)
К+АГ	2 фл.	1 фл.	3 фл.	2 фл.	4 фл.
К-	1 фл. (3 мл)	1 фл. (1 мл)	2 фл. (3 мл)	1 фл. (3 мл)	1 фл. (10 мл)
РК-1	1 фл. (6 мл)	1 фл. (12 мл)	1 фл. (12 мл)	2 фл. (12 мл) или 1 фл. (20 мл)	2 фл. (12 мл) или 1 фл. (20 мл)
Кг-2	1 фл. (0,5 мл)	1 фл. (1 мл)	1 фл. (1 мл)	1 фл. (1,5 мл)	1 фл. (1,5 мл)
РРК-2	1 фл. (16 мл)	2 фл. (16 мл)	2 фл. (16 мл)	3 фл. (16 мл) или 1 фл. (48 мл)	3 фл. (16 мл) или 1 фл. (48 мл)
РК-2 (вместо Кг-2 и РРК-2)	1 фл. (16 мл)	2 фл. (16 мл)	2 фл. (16 мл)	3 фл. (16 мл) или 1 фл. (48 мл)	3 фл. (16 мл) или 1 фл. (48 мл)
БРС	1 фл. (16 мл)	2 фл. (16 мл)	2 фл. (16 мл)	3 фл. (16 мл) или 1 фл. (48 мл)	3 фл. (16 мл) или 1 фл. (48 мл)
ТМБ	1 фл. (0,5 мл)	1 фл. (1 мл)	1 фл. (1 мл)	1 фл. (2 мл)	1 фл. (2 мл)
РХ (вместо БРС и ТМБ)	1 фл. (16 мл)	2 фл. (16 мл)	2 фл. (16 мл)	3 фл. (16 мл) или 1 фл. (48 мл)	3 фл. (16 мл) или 1 фл. (48 мл)
ФСБ-Т(х25)	1 фл. (50 мл)	2 фл. (50 мл)	2 фл. (50 мл)	3 фл. (50 мл) или 1 фл. (150 мл)	3 фл. (50 мл) или 1 фл. (150 мл)
Стоп-реагент	1 фл. (6 мл)	1 фл. (12 мл)	1 фл. (12 мл)	2 фл. (12 мл) или 1 фл. (20 мл)	2 фл. (12 мл) или 1 фл. (20 мл)

Срок годности. Условия хранения и транспортирования

Срок годности набора 12 месяцев. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

Набор хранить в соответствии с СП 3.3.2.1248 в сухом защищенном от света месте при температуре от 2 °С до 8 °С в течение срока годности.

Транспортирование наборов производить в соответствии с СП 3.3.2.1248 при температуре 2 °С до 8 °С. Допускается транспортирование при температуре не выше 27 °С в течение 5 суток.

Замораживание наборов не допускается.

Для диагностики «in vitro». Для лечебно-профилактических и санитарно-профилактических учреждений.

Рекламации на качество наборов направлять:

в ФГУН ГИСК им. Л.А.Тарасевича Роспотребнадзора РФ по адресу: 119002, г. Москва, пер. Сивцев Вражек, 41; тел. 8-(499)-241-39-22;

в ЗАО «МБС» по адресу: 630117, г. Новосибирск – 117, а/я – 113;

головной офис, тел./факс: 8-(383)-339-94-43;

отдел продаж, тел./факс: 8-(383)-332-81-38, 332-18-54, 339-91-97;
ОБТК, тел.: 8-(38341)-5-21-22, e-mail: obtk@mbu.ru

Заместитель директора по производству

Мезенцев — А.Н.Мезенцев

« 14 » 4 20 18 200 7 г.