«УТВЕРЖДЕНА»

Приказом Росздравнадзора
от«__»_____20__г.№_____

«УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный директор
ООО «Компания "Алкор Био»
_____ Швырев М.В.
«__» ноября 2010г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ КАЧЕСТВЕННОГО ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ **АНТИГЕНА Р24 И АНТИТЕЛ К ВИРУСУ ИММУНОДЕФИЦИТА ЧЕЛОВЕКА** В СЫВОРОТКЕ И ПЛАЗМЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА **(«ВичИФА-HIV-Ag/At»)**

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «ВичИФА-HIV-Ag/At» предназначен для качественного определения антигена р24 и антител к ВИЧ-1,2 в сыворотке и плазме крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. ВИЧ-инфекция представляет собой медленно прогрессирующее инфекционное заболевание, возникающее вследствие заражения вирусом иммунодефицита человека. Вирус иммунодефицита человека относится к семейству РНК-содержащих ретровирусов. Описаны 2 типа – ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Источником инфекции являются инфицированные люди – больные СПИДом и «вирусоносители». Вирус передается при половых контактах, переливании зараженной крови и ее препаратов, повторном использовании инфицированного медицинского инструментария. Возможен также вертикальный механизм передачи возбудителя (трансплацентарный).

Антитела к ВИЧ появляются у 90-95% зараженных в течение 3 месяцев после заражения, у 5-9% - через 6 месяцев от момента заражения, и у 0,5 – 1 % - в более поздние сроки.

Для более ранней диагностики ВИЧ инфицирования (до наступления сероконверсии) используют тест-системы, которые определяют не только антитела к ВИЧ, но и антиген ВИЧ-1 р24. Р24 появляется в крови через 1-3 недели после заражения и служит ранним маркером инфицирования.

1.3. Набор «ВичИФА-HIV-Ag/At» выпускается в двух вариантах комплектации.

Комплектация на 96 определений рассчитана на проведение анализа в дубликатах 43 неизвестных проб при использовании всего комплекта стрипов одновременно.

Комплектация на 192 определения рассчитана на проведение анализа в дубликатах 86 неизвестных проб при использовании всего комплекта стрипов одновременно.

ЭЛЕКТРОННАЯ КОПИЯ ОФОРМЛЕНА ЦЕНТРОМ ИСПЫТАНИЙ И РЕГИСТРАЦИИ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ

Обратите внимание, что определение оптических плотностей контрольных проб и раствора ТМБ в соответствии со схемой маркировки лунок (**п. 7.2.1.**) обязательно на каждом планшете.

Примечание: *в случае дробного применения набор может быть использован только в течение месяца после вскрытия компонентов набора.*

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

В наборе «ВичИФА-HIV-Аг/Ат» использован «сэндвич» - вариант твердофазного иммуноферментного анализа. Для реализации этого варианта использованы рекомбинантный антиген ВИЧ-1 (gp41), рекомбинантный антиген ВИЧ-2 (gp36) и моноклональные антитела к антигену p24, которые иммобилизованы на твердой фазе (внутренняя поверхность лунок) и конъюгированы с пероксидазой хрена. В лунках, при добавлении исследуемого образца и конъюгата gp41-gp36-анти-p24-пероксидаза во время инкубации одновременно происходит иммобилизация антигена p24 и/или антител к ВИЧ-1,2, содержащихся в исследуемом образце, и связывание образовавшегося комплекса с конъюгатом.

Несвязавшиеся компоненты удаляются промывкой (Рисунок 1).

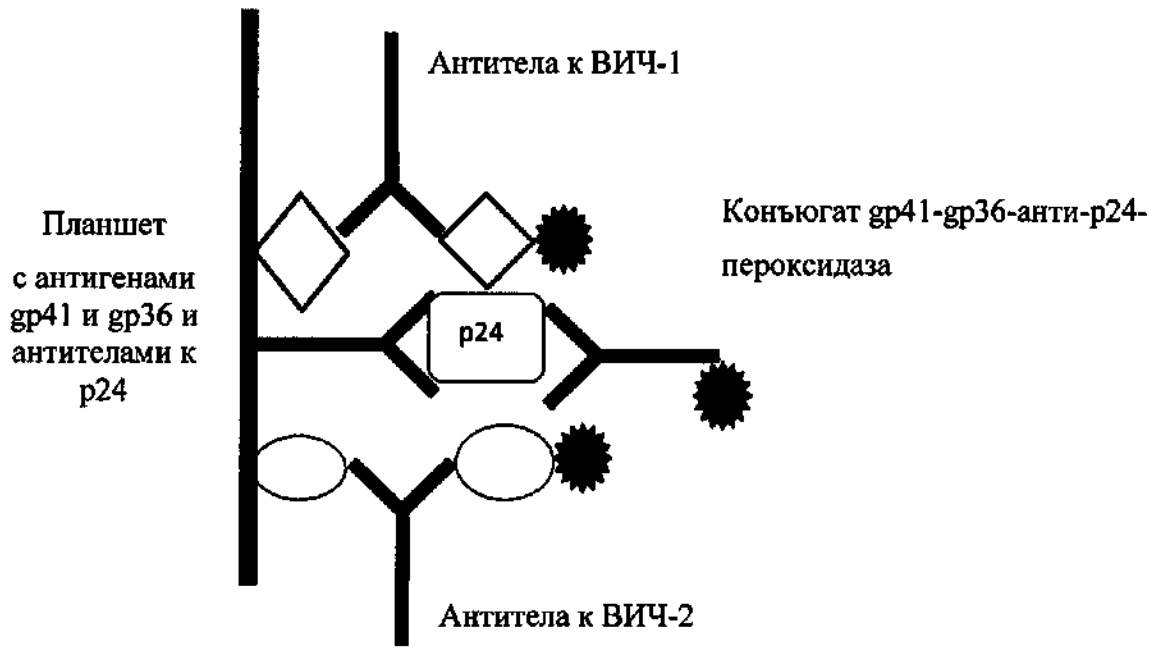

Рисунок 1. Схема анализа

Во время инкубации с раствором ТМБ происходит окрашивание раствора в лунках. Степень окраски прямо пропорциональна количеству антигена p24 и/или антител к ВИЧ-1,2 в анализируемых пробах. После измерения оптической плотности раствора в лунках их сравнивают со значением ОПкрит. Положительными считают образцы со значением оптической плотности равным или превышающим значение ОПкрит. Отрицательными считают образцы со значением оптической плотности меньшим, чем значение ОПкрит.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

2.2. Состав набора

- комплект из двенадцати восьмилуночных стрипов в рамке с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок рекомбинантными антигенами ВИЧ-1,2 и мышиными моноклональными антителами к антигену р24, маркирован «Стрипы с рекомбинантными антигенами ВИЧ-1 и ВИЧ-2 и моноклональными антителами к р24» – 1 упаковка или 2 упаковки в зависимости от варианта комплектации (Таблица 1);
- отрицательная контрольная проба (ОКП), не содержащая антиген р24 и антитела к ВИЧ-1,2. Флакон маркирован «Отрицательная контрольная проба» – 1 флакон или 2 флакона в зависимости от варианта комплектации (лиофилизованный препарат или жидкость, 0,8 мл) (Таблица 1);
- ВИЧ-1 положительная контрольная проба (ВИЧ-1 ПКП), содержащая антитела к ВИЧ-1. Флакон маркирован «ВИЧ-1 положительная контрольная проба» – 1 флакон или 2 флакона в зависимости от варианта комплектации (лиофилизованный препарат или жидкость, 0,5 мл) (Таблица 1);
- ВИЧ-2 положительная контрольная проба (ВИЧ-2 ПКП), содержащая антитела к ВИЧ-2. Флакон маркирован «ВИЧ-2 положительная контрольная проба» – 1 флакон или 2 флакона в зависимости от варианта комплектации (лиофилизованный препарат или жидкость, 0,5 мл) (Таблица 1);
- р24 положительная контрольная проба (Р24 ПКП), содержащая антиген ВИЧ-1 р24. Флакон маркирован «Р24 положительная контрольная проба» – 1 флакон или 2 флакона в зависимости от варианта комплектации (лиофилизованный препарат или жидкость, 0,5 мл) (Таблица 1);
- конъюгат gp41-gp36-анти-р24-пероксидаза, маркирован «Конъюгат Е» — 1 флакон или 2 флакона в зависимости от варианта комплектации (лиофилизованный препарат или жидкость, 7 мл) (Таблица 1);
- водно-солевой раствор для разведения конъюгата, маркирован «Буфер Е» (при включении в набор лиофилизованного конъюгата) — 1 флакон или 2 флакона в зависимости от варианта комплектации (9 мл) (Таблица 1);
- аналитический водно-солевой раствор, маркирован «Буфер А» - 1 флакон или 2 флакона в зависимости от варианта комплектации (7 мл) (Таблица 1);
- концентрированный водно-солевой раствор для промывки лунок, маркирован «Буфер Р» — 1 флакон или 2 флакона в зависимости от варианта комплектации (14 мл) (Таблица 1);
- раствор тетраметилбензидина, маркирован «Раствор ТМБ» — 1 флакон или 2 флакона в зависимости от варианта комплектации (14 мл) (Таблица 1);
- стоп-реагент (1 Н соляная кислота), маркирован «Стоп-реагент» — 1 флакон или 2 флакона в зависимости от варианта комплектации (14 мл) (Таблица 1);
- прозрачный пластиковый пакет с замком (при упаковке стрипов в пакет из 2-слойного полиэтилена) – 1 штука или 2 штуки в зависимости от варианта комплектации (Таблица 1).

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Таблица 1 Варианты комплектации

Название компонента	96 определений (лиофилизованный конъюгат)	96 определений (жидкий конъюгат)	192 определения (лиофилизованный коиъюгат)	192 определения (жидкий конъюгат)
Комплект стрипов в рамке	1 шт.	1 шт.	2 шт.	2 шт.
Отрицательная контрольная проба	1 фл.	1 фл.	2 фл.	2 фл.
ВИЧ-1 положительная контрольная проба	1 фл.	1 фл.	2 фл.	2 фл.
ВИЧ-2 положительная контрольная проба	1 фл.	1 фл.	2 фл.	2 фл.
Р24 положительная контрольная проба	1 фл.	1 фл.	2 фл.	2 фл.
Конъюгат Е	1 фл. (3 мл)	1 фл. (20 мл)	2 фл. (3 мл)	2 фл. (20 мл)
Буфер Е	1 фл.	-	2 фл.	-
Буфер А	1 фл.	1 фл.	2 фл.	2 фл.
Буфер Р	1 фл.	1 фл.	2 фл.	2 фл.
Раствор ТМБ	1 фл.	1 фл.	2 фл.	2 фл.
Стоп-реагент	1 фл.	1 фл.	2 фл.	2 фл.
Пакет полиэтиленовый закрывающийся	1 шт.	2 шт.	1 шт.	2 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Диагностическая специфичность. Определяется как доля полученных отрицательных результатов в исследуемых образцах, не содержащих антиген ВИЧ-1 р24 и антитела к ВИЧ-1,2. Диагностическая специфичность набора «ВичИФА-HIV-Аг/Ат» по ОСО 42-28-214-02П составляет 100%.

3.2. Диагностическая чувствительность. Определяется как доля полученных положительных результатов в исследуемых образцах, содержащих антитела к ВИЧ-1,2. Диагностическая чувствительность набора «ВичИФА-HIV-Аг/Ат» по ОСО 42-28-212-02П и ОСО 42-28-216-02 составляет 100%.

3.3. Предел обнаружения антигена ВИЧ-1 р24 с использованием набора «ВичИФА-HIV-Аг/Ат» по ОСО 42-28-375-05 не превышает 25 пг/мл.

3.4. Коэффициент вариации оптической плотности в одном и том же образце сыворотки крови человека при определении антигена ВИЧ-1 р24 и антител к ВИЧ-1,2 с использованием набора «ВичИФА-HIV-Аг/Ат» не превышает 8%.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

3.5. Хук-эффект высоких концентраций. В наборах реагентов, основанных на «сэндвич»-принципе анализа, при высоких концентрациях аналита зависимость величины оптической плотности от концентрации становится обратно пропорциональной (так называемый хук-эффект высоких концентраций). При использовании набора «ВичИФА-HIV-Аг/Ат» хук-эффект не был обнаружен.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора — класс 3.

4.2. Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

4.3. При работе с набором следует соблюдать требования ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

4.4. Стоп-реагент представляет собой 1 И раствор соляной кислоты. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента на кожу и слизистые необходимо промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.

4.5. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, т.к. производные крови, входящие в состав набора, и исследуемые образцы являются потенциально инфицированным материалом, способным длительное время сохранять и передавать возбудителей различных вирусных инфекций.

4.6. Химическая посуда и оборудование, которые используются в работе с набором, должны быть соответствующим образом маркированы и храниться отдельно.

4.7. Запрещается прием пищи, использование косметических средств и курение в помещениях, предназначенных для работы с наборами.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность раствора в лунках при длине волны 450 нм;
- прибор для встряхивания рамки со стрипами (термостатируемый шейкер), позволяющий производить встряхивание со скоростью 400–800 об/мин при температуре +37°С;
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками с изменяемым объемом отбора жидкостей: на 5–50 мкл; на 40–200 мкл; на 200–1000 мкл; на 1000–5000 мкл;
- пипетка полуавтоматическая восьмиканальная со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объемы жидкости до 300 мкл;
- цилиндр мерный, позволяющий отмерять 50-600 мл;
- стакан стеклянный подходящего объема;
- вода дистиллированная;
- бумага фильтровальная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- 1% раствор гипохлорита натрия или 6% раствор перекиси водорода;

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

- контейнер для дезинфекции;
- ванночки для внесения реагентов восьмиканальной пипеткой.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Забор крови из вены осуществляют с соблюдением правил асептики. После формирования сгустка сыворотку отделяют путем центрифугирования. Забор крови для получения плазмы осуществляют в пробирку, содержащую антикоагулянт. После центрифугирования сыворотку или плазму переносят в отдельную пробирку.

6.2. Для проведения анализа не следует использовать гемолизированную или мутную сыворотку и плазму, а также образцы сыворотки, содержащие азид натрия.

6.3. Образцы сыворотки и плазмы крови разрешается хранить при температуре +2...8°С не более 2 дней; при необходимости более длительного хранения рекомендуется аликвотировать образец и хранить в замороженном виде при температуре –20°С и ниже. Не допускается повторное замораживание образца.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Подготовка реагентов

7.1.1. Стрипы. Перед вскрытием пакет со стрипами необходимо выдержать при комнатной температуре (+18…25°С) не менее 30 мииут. Вскрыть пакет и переставить на свободную рамку необходимое количество стрипов.

7.1.2. Жидкие контрольные пробы готовы к использованию.

Для восстановления лиофилизованных контрольных проб перед вскрытием флаконов легким постукиванием стряхнуть частицы, прилипшие к стенкам флаконов или к крышкам. Открыть флаконы и положить крышки перевернутыми на сухую поверхность. Во флакон **с лиофилизованной отрицательной контрольной пробой внести 0,8 мл** дистиллированной воды, **во флаконы с лиофилизованными ВИЧ-1 положительной контрольной пробой, ВИЧ-2 положительной контрольной пробой и Р24 положительной контрольной пробой внести по 0,5 мл** дистиллированной воды и закрыть крышками. Выдержать флаконы в течение 10 минут при комнатной температуре без перемешивания. Затем, аккуратно наклоняя и вращая флаконы, перемешать их содержимое до полного растворения, избегая пенообразования. В течение следующих 10 минут выдержать флаконы при комнатной температуре, периодически перемешивая.

7.1.3. Буфер Е готов к использованию.

7.1.4. Жидкий конъюгат Е готов к использованию. Расход конъюгата на один стрип составляет 0,58 мл.

Для восстановления лиофилизованного конъюгата перед вскрытием флакона легким постукиванием стряхнуть частицы, прилипшие к стенке флакона или к крышке. Открыть флакон и положить крышку перевернутой на сухую поверхность.

ВНИМАНИЕ: во флакон с конъюгатом внести **1 мл** дистиллированной воды и закрыть крышкой. Выдержать флакои в течение 10 минут при комнатной температуре без перемешивания. Затем, аккуратно наклоняя и вращая флакон, перемешать его содержимое до полного растворения, избегая пенообразования. В течение следующих 10 минут выдержать флакон при комнатной температуре, периодически перемешивая.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Количественно перенести содержимое флакона во флакон с буфером Е. Тщательно перемешать, избегая пенообразования. Расход конъюгата на один стрип составляет 0,83 мл.

7.1.5. Буфер А готов к использованию. Расход буфера А на один стрип составляет 0,58 мл.

7.1.6. Промывочный раствор. Необходимое количество Буфера Р развести дистиллированной водой в 20 раз.

Например:

5 мл Буфера Р+95 мл дистиллированной воды

Тщательно перемешать, избегая пенообразования.

7.1.7. Раствор тетраметилбензидина (ТМБ) готов к использованию. Расход ТМБ на один стрип составляет 1,15 мл.

7.1.8. Стоп-реагент готов к использованию. Расход стоп-реагента на один стрип составляет 1,15 мл.

7.1.9. Все реагенты перед проведением анализа должны быть тщательно перемешаны и доведены до комнатной температуры (+18...25°С).

В Приложении 1 приведена схема проведения анализа.

7.2. Постановка анализа

7.2.1. Составить протокол маркировки лунок.

ВНИМАНИЕ: схема маркировки и нанесения образцов отличается от стандартной схемы.

Лунки промаркировать следующим образом:

A1 – №1 - для измерения величины оптической плотности раствора ТМБ;

A2, B1, B2 – №2 - для измерения величины оптической плотности ОКП;

C1, C2 –№3 - для измерения величины оптической плотности ВИЧ-1 ПКП;

D1, D2 –№4 - для измерения величины оптической плотности ВИЧ-2 ПКП;

E1, E2 - №5 - для измерения величины оптической плотности Р24 ПКП.

7.2.2. Во все лунки, кроме лунки А1, внести по 50 мкл Буфера А.

7.2.3. Внести в соответствующие лунки по 50 мкл контрольных проб, в оставшиеся лунки по 50 мкл исследуемых образцов в дубликатах.

Примечание: *общее время внесения контрольных проб и исследуемых образцов не должно превышать 15 минут, иначе время инкубации различных образцов будет значительно отличаться, что в конечном итоге может привести к получению неправильного «диагноза».*

7.2.4. Во все лунки, кроме лунки А1, внести по 50 мкл конъюгата Е.

7.2.5. Инкубировать стрипы в течение 60 минут при встряхивании **в термостатируемом шейкере при температуре +37°С со скоростью 500-700 об/мин.**

7.2.6. По окончании инкубации удалить содержимое лунок в контейнер с дезинфицирующим раствором (1% раствором гипохлорита натрия или 6% раствором перекиси водорода) и промыть лунки 4 раза. При каждой промывке во все лунки добавить по 300 мкл промывочного раствора, приготовленного по **п. 7.1.6,** встряхнуть рамку на шейкере в течение 5-10 секунд с последующим декантированием. После последнего декантирования тщательно удалить остатки жидкости из лунок постукиванием рамки со стрипами в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.

Допускается промывка лунок при помощи автоматического промывочного устройства.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

7.2.7. Немедленно внести во все лунки по 100 мкл раствора ТМБ. Инкубировать стрипы в темноте при комнатной температуре (+18…25°С) в течение 20 минут.

7.2.8. Добавить во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор ТМБ, по 100 мкл стоп-реагента для остановки ферментной реакции, перемешать на шейкере в течение 1-2 минут при комнатной температуре (+18…25°С).

7.2.9. Если невозможно измерить оптическую плотность в лунках планшета непосредственно после выполнения п. **7.2.8.**, то следует иметь в виду, что окраска в лунках планшета стабильна не более 20 минут при температуре +18…25°С.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Измерить на фотометре вертикального сканирования оптическую плотность в лунках при длине волны 450 нм.

При регистрации результатов **необходимо вычитать** величину оптической плотности в лунке А1 из значений оптических плотностей всех остальных лунок.

Примечание: *значение оптической плотности в лунке А1 не должно превышать 0,09 ед.ОП.*

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

9.1. Оценить оптическую плотность в лунках, содержащих ОКП, для каждой лунки в отдельности. ОП должна быть не более 0,2 ед.опт.пл. Если значение ОП в одной из лунок не удовлетворяет этому критерию, то это значение можно исключить из расчета среднего арифметического значения ОП ОКП. **Исключить можно только одно значение ОП из трех. В случае если критерию не удовлетворяют ОП в двух или более лунках, результаты анализа считают недостоверными и анализ повторяют.**

9.2. По трем или двум значениям, в зависимости от выполнения условий, описываемых в **п. 9.1.**, определить среднее арифметическое значение ОП в лунках, содержащих ОКП.

9.3. Определить допустимый диапазон разброса значений ОП ОКП, для чего умножить среднее значение ОП ОКП на 0,6 и 1,4. Сравнить ОП в каждой лунке с расчетным диапазоном. Оптическая плотность каждой лунки, содержащей ОКП, должна попадать в полученный диапазон. Если значение ОП в одной из лунок не удовлетворяет этому критерию, то это значение можно исключить и повторить операции, описанные в п. 9.2 и 9.3. **Исключить одно значение ОП можно только в том случае, если в п. 9.1. ни одно из значений ОП исключено не было, иначе, результаты анализа считают недостоверными и анализ повторяют.**

9.4. Определить среднее арифметическое значение ОП, в лунках содержащих ВИЧ-1 ПКП. Полученное значение ОП должно быть больше 0,4 ед.опт.пл. Если полученное значение ОП меньше 0,4 ед.опт.пл., результаты анализа считают недостоверными и анализ повторяют.

9.5. Определить среднее арифметическое значение ОП, в лунках содержащих ВИЧ-2 ПКП. Полученное значение ОП должно быть больше 0,4 ед.опт.пл. Если полученное значение ОП меньше 0,4 ед.опт.пл., результаты анализа считают недостоверными и анализ повторяют.

9.6. Определить среднее арифметическое значение ОП, в лунках содержащих Р24 ПКП. Полученное значение ОП должно быть больше 0,4 ед.опт.пл. Если полученное

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

значение ОП меньше 0,4 ед.опт.пл., результаты анализа считают недостоверными и анализ повторяют.

9.7. Определить значение ОПкрит., для чего к среднему значению ОП ОКП прибавить Ккрнт.

Примечание: *Ккрит. – коэффициент, определяемый на предприятии-изготовителе, и указанный в аналитическом паспорте.*

9.8. Разделить средние значения ОП каждого исследуемого образца на получившееся значение ОПкрит.

Примечание: *Если значение оптической плотности, полученное вычитанием ОП лунки А1 из ОП анализируемого образца, - отрицательное, то принять его равным нулю.*

Если полученное значение **меньше 1**, то считают, что исследуемый образец не содержит антигена ВИЧ-1 р24 и антител к ВИЧ-1,2.

Примечание: *Следует с осторожностью относиться к результатам, которые немногим ниже ОПкрит. Если полученное значение больше или равно 0,9, рекомендуется исследовать образец повторно.*

Если полученное значение **больше или равно 1**, то образец должен быть исследован повторно. **Только при иолучении аналогичных результатов считают, что образец содержит антиген ВИЧ-1 р24 и/или антитела к ВИЧ-1,2.**

Пример учета результатов:

1) ОП лунок, содержащих ОКП:
   ОКП№1 → 0,027 < 0,2;
   ОКП№2 → 0,033 < 0,2;
   ОКП№3 → 0,03 < 0,2.
2) Среднее значение ОП ОКП:
   (0,027 + 0,033 + 0,03) / 3 = 0,03.
3) Допустимый диапазон разброса значений ОП ОКП:
   0,03 x 0,6 = 0,018;
   0,03 x 1,4 = 0,042.
   ОКП№1 → 0,018 ≤ 0,027 ≤ 0,042;
   ОКП№2 → 0,018 ≤ 0,033 ≤ 0,042;
   ОКП№3 → 0,018 ≤ 0,03 ≤ 0,042.
4) Среднее значение ОП ВИЧ-1 ПКП → 1,2 (>0,4).
5) Среднее значение ОП ВИЧ-2 ПКП → 0,8 (>0,4).
6) Среднее значение ОП Р24 ПКП → 0,6 (>0,4).
7) Значение ОПкрит.:
   ОП ОКП + Ккрит. = 0,03 + 0,075 = 0,105.
8) Средние значения ОП исследуемых образцов:

№ 1 → 0,04;
№ 2 → 0,105;
№ 3 → 1,32.

«Диагноз» исследуемых образцов:

№ 1 → 0,04/0,105 = 0,4 (меньше 1, отрицательный образец (не содержит антитела к ВИЧ-1,2);

№ 2 → 0,105/0,105 = 1,0 (равно 1, требует повторного измерения);

№ 3 → 1,32/0,105 = 12,6 (больше 1, требует повторного измерения).

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Набор «ВичИФА-HIV-Аг/Ат» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2...8°С в течение всего срока годности. Допускается хранение набора при температуре до +25°С не более 5 суток.

Срок годности набора — 12 месяцев.

10.2. Набор следует вынимать из холодильника не более чем за 1 час до начала анализа, но не позже, чем за 30 минут до проведения анализа.

10.3. В случае дробного использования компоненты набора необходимо хранить следующим образом:

- стрипы поместить сначала в пакет с этикеткой, затем в пластиковый пакет с замком и герметично закрыть. Хранить в герметично закрытом пакете при температуре +2...8°С в течение всего срока годности;
- жидкие, готовые к использованию, контрольные пробы после вскрытия флаконов хранить при температуре +2...8°С не более 1 месяца;
- восстановленные (растворенные) из лиофилизованных препаратов контрольные пробы хранить при температуре +2...8°С не более 1 месяца;
- восстановленный (растворенный) из лиофилизованного препарата и разведенный в буфере Е конъюгат хранить при температуре +2...8°С не более 1 месяца;
- жидкий конъюгат Е, буфер А и раствор ТМБ после вскрытия флаконов хранить при температуре +2...8°С не более 1 месяца;
- промывочный раствор, подготовлениый к использованию, хранить закрытым при комнатной температуре (+18…25°С) не более 5 суток;
- буфер Р и стоп-реагент после вскрытия флаконов хранить при температуре +2...8°С в течение всего срока годности.

10.4. При использовании набора для проведения нескольких независимых анализов необходимо иметь в виду следующее:

- количество независимых экспериментов, которое можно провести с помощью данного набора (4 эксперимента), ограничено объемом контрольных проб;
- для каждого независимого эксперимеита необходимо определять оптические плотности контрольных проб и ОПкрит.;
- запрещается возвращать избыток конъюгата, ТМБ и стоп-реагента из ванночек во флаконы;
- из флаконов с открытыми крышками происходит испарение, которое может привести к получению иекорректных результатов при повторием использовании реагентов. После окончания внесения реагентов в лунки планшета на каждой стадии анализа необходимо плотно закрывать крышки флаконов и помещать в рекомендуемые условия хранения.

10.5. Не допускается смешивание или одновременное использование реагентов из разных партий, за исключением ТМБ, стоп-реагента и концентрированного промывочного раствора, входящего в состав данного набора реагентов.

10.6. Запрещается использовать концентрированный промывочный раствор, стоп-реагенты и ТМБ из наборов реагентов других фирм-производителей.

10.7. К работе с набором допускается только специально обученный персонал.

10.8. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

По вопросам качества набора «ВичИФА-HIV-Аг/Ат» следует обращаться в ООО «Компания Алкор Био» по адресу: 197758, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, д. 70, телефон/факс: (812) 677-87-79.

Генеральный директор
ООО «Компания АлкорБио» Шкырев М.В.

Руководитель лаборатории разработки ИФА-систем
ООО «Компания АлкорБио» Сусорова А.С.

СОГЛАСОВАНО:
Директор ФГУН НИИЭМ
имени Пастера Роспотребнадзора,
член-корр. РАН, профессор Жебрун А.Б.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

СХЕМА ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА

Приложение 1

№	Стадия (операция)	Реагенты	Температура	Время	Примечания
1	Внесение реагентов	**50 мкл** Буфера А	**КТ** +18 …25°С	Внесение контрольных проб и исследуемых образцов не более 15’	В лунку для определения ОП ТМБ ничего не вносить. ОКП внести в трипликате, ВИЧ-1 ПКП, ВИЧ-2 ПКП и Р24 ПКП - в дубликатах.
2		**50 мкл** *контрольных проб*			
3		**50 мкл** *исследуемых образцов*			
		50 мкл конъюгата gp41-gp36-анти-р24-пероксидаза			
4	**Инкубация**	—	**+37°С**	60’	Термостатируемый **шейкер**, 500-700об/мин
5	Промывка	**300 мкл** в лунку *1*промывочного раствора* (4 раза)			1*промывочный раствор = 14 мл буфера Р+266 мл H_2O
6	Внесение хромогена	**100 мкл** *ТМБ*			
7	**Инкубация с ТМБ**	—	**КТ**	20’	В темноте
8	Остановка ферментной реакции	**100 мкл** *стоп-реагента*			
9	Перемешивание		**КТ**	1 - 2’	**шейкер**
10	Регистрация результатов	—		В течение 20’ после остановки ферментной реакции	**Фотометр**, 450 нм
11	Обработка результатов				Калькулятор, соответствующее ПО

Примечание: *КТ — комнатная температура (+18...25°С); ОП — оптическая плотность; ПО – программное обеспечение.*

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Прошито, пронумеровано, скреплено
печатью 12 (двенадцать) лист 06

Генеральный директор
ООО «Компания Алкор Био»
_____ М.В. Швырев

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU