

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ООО «Фактор-Мед Продакшн»



Н.П. Пришляк

« 20 » июля 2014 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению «Набора реагентов для
иммуноферментного одновременного определения
антител к ВИЧ 1/2 и антигена ВИЧ 1 p24
«ИФА-ВИЧ 1/2-АГ/АТ-ФАКТОР»».

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. «Набор реагентов для иммуноферментного одновременного определения антител к ВИЧ 1/2 и антигена ВИЧ-1 p24 «ИФА-ВИЧ 1/2-АГ/АТ-ФАКТОР»» (далее по тексту – набор реагентов «ИФА-ВИЧ 1/2-АГ/АТ-ФАКТОР») предназначен для качественного одновременного выявления антигена ВИЧ-1 p24 и суммарных антител к ВИЧ-1, ВИЧ-1 группы 0 и ВИЧ-2 в сыворотке или плазме крови человека методом иммуноферментного анализа.

1.2. Диагностическая роль набора реагентов.

Набор реагентов «ИФА-ВИЧ 1/2-АГ/АТ-ФАКТОР» в клинической лабораторной практике рекомендуется использовать:

- для лабораторной диагностики ВИЧ – инфекции;
- для проведения скрининговых исследований крови;
- для мониторинга эпидемиологической ситуации среди населения.

1.3. Область применения - клиническая лабораторная диагностика. Только для диагностики in vitro.

69214

2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА.

2.1. Принцип действия.

Метод выявления основан на твердофазном иммуноферментном анализе (далее по тексту - ИФА) в «сэндвич» варианте с использованием биотин-стрептавидинового усиления специфического сигнала.

На внутренней поверхности лунок иммуносорбента сорбированы моноклональные антитела к антигену p24 ВИЧ-1 и рекомбинантные антигены к ВИЧ-1 и ВИЧ-2.

На первом этапе проведения анализа в лунки иммуносорбента вносятся исследуемые образцы (сыворотка или плазма крови человека) и конъюгат №1 (смесь биотинилированных конъюгатов на основе моноклональных антител к антигену p24 ВИЧ-1 и рекомбинантных антигенов ВИЧ-1 и ВИЧ-2).

При наличии в исследуемом образце антиген p24 ВИЧ-1 и/или специфические антитела к ВИЧ-1 и ВИЧ-2 связываются с моноклональными антителами к p24 ВИЧ-1 и/или рекомбинантными антигенами ВИЧ-1 и ВИЧ-2, иммобилизованными на поверхности лунок планшета, и также входящими в состав конъюгата №1. Происходит образование иммунных комплексов «антитело/антиген/конъюгат №1» и/или «антиген/антитело/конъюгат №1».

На второй стадии анализа, после удаления несвязавшихся компонентов исследуемого образца и конъюгата №1, образовавшиеся иммунные комплексы «антитело/антиген/конъюгат №1» и/или «антиген/антитело/конъюгат №1» выявляются конъюгатом №2 (смесь пероксидазных конъюгатов стрептавидина и антигенов ВИЧ-1 и ВИЧ-2).

После отмывания несвязанных компонентов в лунки добавляют раствор субстрата с хромогеном. Пероксидазную реакцию останавливают, добавляя стоп-реагент, и измеряют оптическую плотность смеси в лунках планшета при двухволновом режиме (450 нм относительно 620-700 нм). Интенсивность окрашивания в лунках определяется присутствием специфических антител к ВИЧ-1 и ВИЧ-2 или антигена p24 ВИЧ-1. Интенсивность окрашивания прямо

пропорциональна концентрации антител к ВИЧ-1,2 и антигена p24 ВИЧ-1 в исследуемых образцах.

2.2. Состав набора:

Набор реагентов «ИФА-ВИЧ 1/2-АГ/АТ-ФАКТОР» выпускают в трех вариантах комплектации.

Комплект № 1 (вариант комплектации № 1, кат. № ИНА1) рассчитан на проведение 96 определений, включая контрольные.

Комплект № 2 (вариант комплектации № 2, кат. № ИНА2) рассчитан на проведение 192 определений, включая контрольные.

Комплект № 3 (вариант комплектации № 3, кат. № ИНА3) рассчитан на проведение 480 определений, включая контрольные.

Все комплекты предназначены для ручной постановки и для постановки на автоматических анализаторах для иммуноферментного анализа открытого типа с возможностью, как дробного использования планшета (набора), так и использования для постановки целого планшета (набора).

Код	Наименование компонента	Комплект № 1	Комплект № 2	Комплект № 3
P1	Иммуносорбент 96-луночный планшет из бесцветного полистирола, стрипированный, в лунках которого сорбированы моноклональные антитела к антигену p24 ВИЧ-1 и рекомбинантные антигены ВИЧ-1 и ВИЧ-2, готов к использованию.	1 шт	2 шт	5 шт
P2-1	Положительный контроль Ab (K+Ab) Инактивированная сыворотка крови человека, содержащая антитела к ВИЧ-1 и ВИЧ-2 и не содержащая антиген p24 ВИЧ-1, поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg), антитела к вирусу гепатита С и <i>Treponema pallidum</i> , готов к использованию. Прозрачная жидкость синего или светло-синего цвета, слегка опалесцирующая	1x2,1 мл	1x2,1 мл	1x4,1 мл
P2-2	Положительный контроль Ag (K+Ag) Инактивированная сыворотка крови человека, содержащая очищенный антиген	1x2,1 мл	1x2,1 мл	1x4,1 мл

	ВИЧ-1 p24 и не содержащая поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg), антитела к ВИЧ-1 и ВИЧ-2, вирусу гепатита С и <i>Treponema pallidum</i> , готов к использованию. Прозрачная жидкость красно-коричневого цвета, слегка опалесцирующая.			
P3	Отрицательный контроль (К-) Инактивированная сыворотка крови человека, не содержащая антиген p24 ВИЧ-1, поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg), антитела к ВИЧ-1 и ВИЧ-2, вирусу гепатита С и <i>Treponema pallidum</i> , готов к использованию. Прозрачная жидкость желтого или светло-желтого цвета, слегка опалесцирующая.	1x2,1 мл	1x2,1 мл	1x4,1 мл
P4-1	Концентрат конъюгата №1 (Кг-1(x11)) Смесь биотинилированных конъюгатов на основе МКАТ к антигену ВИЧ-1 p24 и рекомбинантных антигенов ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Прозрачная жидкость красного цвета, слегка опалесцирующая	1x0,5 мл	1x0,9 мл	1x2,1 мл
P4-2	Раствор для разведения конъюгата №1 (РКК-1) Фосфатно-солевой буфер, содержит детергент, казеиновую фракцию белков молока, блок-компоненты и консерванты, готов к использованию. Прозрачная жидкость красного цвета, слегка опалесцирующая.	1x5,0 мл	1x9 мл	1x21 мл
P5-1	Концентрат конъюгата №2 (Кг-2(x11)) Смесь пероксидазных конъюгатов на основе стрептавидина и аналогов рекомбинантных антигенов ВИЧ-1 и ВИЧ-2, готов к использованию. Прозрачная жидкость бесцветная или желтого цвета, слегка опалесцирующая	1x1,3 мл	1x2,5 мл	1x6,2 мл
P5-2	Раствор для разведения конъюгата №2 (РКК-2) Фосфатно-солевой буфер, содержит детергент, блок-компоненты и консерванты, готов к использованию. Прозрачная жидкость желтого или зеленого цвета, слегка опалесцирующая.	1x13 мл	1x25 мл	2x31 мл
P6	ТМБ-субстрат 3,3',5,5'-тетраметилбензидин в растворе, готов к использованию. Бесцветная опалесцирующая жидкость.	1x13 мл	1x25 мл	2x31 мл
P7	Концентрат промывочного раствора, 26-кратный (ПР(x26)) Концентрат фосфатно-солевого буфера, содержит детергент. Прозрачная бесцветная жидкость.	1x50 мл	2x50мл	2x250 мл

Р8	Стоп-реагент 5% раствор серной кислоты, готов к использованию. Прозрачная бесцветная жидкость.	1х6,5 мл	1х13 мл	1х31 мл
Принадлежности				
	Клейкая пленка для заклеивания иммуносорбента	3 шт.	6 шт.	15 шт.
	Одноразовые ванночки для реагентов	3 шт.	6 шт.	15 шт.
	Одноразовые сменные наконечники дозаторам пипеточным (10-300 мкл)	20 шт.	40 шт.	100 шт.
	Инструкция по применению набора реагентов	1 шт.	1 шт.	1 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ.

3.1. Чувствительность по антигену p24 ВИЧ-1 (предел обнаружения).

Чувствительность набора реагентов «ИФА-ВИЧ 1/2-АГ/АТ-ФАКТОР» по антигену p24 ВИЧ-1(предел обнаружения):

- при использовании Международного стандарта антигена p24 HIV-I (NIBSC, код 90/636) - не менее 0,5 МЕ/мл;
- при тестировании антигена p24 HIV-I (ABI, USA) или стандартной панели сывороток, содержащих антиген p24 ВИЧ-1 в различных концентрациях «АГ(+) ВИЧ-1 p24» (ЗАО «Медико-Биологический Союз», Россия, кат. № IPS-10-1, ОСО 42-28-375-05, РУ № ФСР 2007/00953) – не менее 5 пг/мл.

3.2. Диагностическая чувствительность.

Диагностическая чувствительность набора реагентов «ИФА-ВИЧ 1/2-АГ/АТ-ФАКТОР» по антителам к ВИЧ-1 при проверке на стандартной панели сывороток, содержащих антитела к вирусу иммунодефицита человека первого типа ВИЧ-1 в различных концентрациях «Стандарт АТ (+) ВИЧ-1» (ЗАО «Медико-Биологический Союз», Россия, кат.№ IBS-16-1, ОСО 42-28-212-02, РУ № ФСР 2007/00953) – 100%.

Диагностическая чувствительность набора реагентов «ИФА-ВИЧ 1/2-АГ/АТ-ФАКТОР» по антителам к ВИЧ-2 при проверке на стандартной панели сывороток, содержащих антитела к вирусу иммунодефицита человека первого типа ВИЧ-2 в различных концентрациях «Стандарт АТ(+) ВИЧ-2» (ЗАО

«Медико-Биологический Союз», Россия, кат. № IBS-8-2, ОСО 42-28-216-02, РУ № ФСР 2007/00953) – 100%.

3.3. Диагностическая специфичность.

Диагностическая специфичность набора реагентов «ИФА-ВИЧ 1/2-АГ/АТ-ФАКТОР» при проверке на стандартной панели сывороток, не содержащих антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2 и антиген р24 ВИЧ-1 «Стандарт АТ(-) ВИЧ» (ЗАО «Медико-Биологический Союз», Россия, кат. № INS-20, РУ № ФСР 2007/00953) - 100%.

3.4. Воспроизводимость.

Внутрисерийный коэффициент вариации результатов выявления антител к вирусам иммунодефицита человека 1 и 2 типов (ВИЧ-1, ВИЧ-2) ВИЧ-1 группы 0 и антигена р24 ВИЧ-1 в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием набора реагентов «ИФА-ВИЧ 1/2-АГ/АТ-ФАКТОР» не превышает 8,0 %;

Межсерийный коэффициент вариации результатов выявления антител к вирусам иммунодефицита человека 1 и 2 типов (ВИЧ-1, ВИЧ-2) ВИЧ-1 группы 0 и антигена р24 ВИЧ-1 в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием наборов реагентов «ИФА-ВИЧ 1/2-АГ/АТ-ФАКТОР» не превышает 8,0 %.

4. МЕРЫ БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ НАБОРА.

4.1. Потенциальный риск применения набора реагентов «ИФА-ВИЧ 1/2-АГ/АТ-ФАКТОР» по ГОСТ 31508–2012 «Изделия медицинские. Классификация в зависимости от потенциального риска применения. Общие требования» и Номенклатурной классификации медицинских изделий, утв. Приказом Минздрава Российской Федерации от № 4н от 6 июня 2012 года (в ред. Приказа Минздрава России от 25.09.2014 N 557н) – класс 3.

4.2. Набор реагентов «ИФА-ВИЧ 1/2-АГ/АТ-ФАКТОР» предназначен только для профессионального использования. Работу следует проводить в специально оборудованном помещении лаборатории, отвечающей требованиям

СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV группы патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней». При работе с Набором требуется соблюдать «Инструкцию по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клиническо-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утв. Минздравом СССР 17 января 1991 года; ГОСТ Р 52905–2007 (ИСО 15190:2003) «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

4.3. Все компоненты набора реагентов «ИФА-ВИЧ 1/2-АГ/АТ-ФАКТОР», за исключением стоп-реагента, являются нетоксичными. Стоп-реагент обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания стоп-реагента на кожу и слизистые. В случае попадания промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.

4.4. Все компоненты, входящие в состав набора реагентов «ИФА-ВИЧ 1/2-АГ/АТ-ФАКТОР», предназначены для диагностики «in vitro».

4.5. При работе с набором реагентов «ИФА-ВИЧ 1/2-АГ/АТ-ФАКТОР» необходимо использовать индивидуальные средства защиты: халат, головной убор, резиновые или пластиковые перчатки, специальную обувь, защитные очки или щиток), так как образцы сыворотки или плазмы крови следует рассматривать как потенциально инфицированный биоматериал.

4.6. Нельзя пипетировать растворы ртом.

4.7. Необходимо избегать контакта хромогена и стоп-реагента с кожей и слизистыми оболочками. В случае попадания промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.

4.8. Сыворотка (плазма) крови человека, использованная для приготовления отрицательного контроля, инактивирована нагреванием, тестирована и считается нереактивной к маркерам гепатита В (*HBsAg*), ВИЧ (антиген p24, суммарные антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2), гепатита С (*IgG*, *IgM* к ВГС), возбудителя сифилиса (*IgG*, *IgM* к *Treponema pallidum*).

4.9. Сыворотка (плазма) крови человека, использованная для приготовления положительных контролей, инактивирована нагреванием, тестирована и

определена нереактивной к маркерам гепатита В (HBsAg), гепатита С (IgG, IgM к ВГС), возбудителя сифилиса (IgG, IgM к *Treponema pallidum*).

4.10. С исследуемыми образцами и контролями необходимо обращаться как с потенциально инфекционным материалом, поскольку, ни один из известных методов тестирования не может гарантировать 100% выявления инфекционных агентов.

4.11. Все промывные растворы следует собирать в специальный контейнер и обрабатывать дезинфицирующими средствами, разрешенными для применения на территории РФ в установленном порядке.

4.12. Все твердые отходы следует собирать в специальный контейнер, обеззараживать в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

4.13. Лабораторную посуду многоразового использования и расходные материалы, контактирующие с исследуемыми и контрольными образцами, следует обеззараживать с использованием дезинфицирующих средств, не содержащих активный кислород и хлор, оказывающих негативное воздействие на качество ИФА.

4.14. Инструменты, оборудование, а также рабочие поверхности столов необходимо протирать 70° раствором этилового спирта.

5. УТИЛИЗАЦИЯ.

5.1. Уничтожение и утилизацию наборов реагентов «ИФА-ВИЧ 1/2-АГ/АТ-ФАКТОР» следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5.2. Все промывные растворы, собранные в специальный контейнер и обработанные дезинфицирующими средствами, разрешенными для применения

на территории РФ в установленном порядке, следует утилизировать как отходы класса В.

5.3. Все твердые отходы, собранные в специальный контейнер, обеззараженные в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» следует утилизировать как отходы класса В.

5.4. Неиспользованные наборы реагентов и наборы реагентов с истекшим сроком годности перед утилизацией необходимо разукomплектовать.

5.5. Неиспользованный концентрат промывочного раствора 26-кратный (ПР(х26)) следует утилизировать, как отходы класса А.

5.6. Неиспользованные положительные и отрицательные контроли набора, конъюгаты, растворы для разведения конъюгатов и иммуносорбент следует обеззараживать и утилизировать, как медицинские отходы класса Б.

5.7. Неиспользованные ТМБ-субстрат и Стоп-реагент следует утилизировать, как отходы, класса Г.

5.8. Утилизация проводится специализированными организациями, которые имеют лицензию на право утилизации медицинских отходов.

6. ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ.

6.1. Оборудование:

- термостат суховоздушный или термостатируемый шейкер, поддерживающие температуру ($37 \pm 2^\circ\text{C}$);
- аппарат для промывания планшетов (вошер);
- фотометр вертикального сканирования двухволновой, позволяющий проводить измерения оптической плотности в лунках планшета при длине волны 450 нм и 620-700 нм;
- дозаторы пипеточные одноканальные, позволяющие работать с объемами в диапазоне 5-1000 мкл и сменные наконечники к ним;
- дозатор пипеточный многоканальный, позволяющий работать с объемами в диапазоне 10-300 мкл и сменные наконечники к ней;

- прибор комбинированный Testo 608-H1, позволяющий измерять температуру воздуха в диапазоне $0-25^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$, относительную влажность – 20-90%.

Оборудование должно быть поверено или аттестовано в установленном порядке в соответствии с предъявляемыми требованиями.

6.2. Материалы, реагенты:

- вода дистиллированная;
- спирт этиловый, 70°;
- вата гигроскопическая;
- бумага фильтровальная;
- мерный стакан или цилиндр (1000 мл);
- ванночки для реагентов;
- контейнер для твердых загрязненных отходов;
- контейнер для загрязненных жидкостей.

7. ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

7.1. Образцы сывороток или плазмы крови хранить при температуре $2-8^{\circ}\text{C}$ не более 120 часов.

7.2. Допустимо замораживание образцов для более длительного хранения (до температуры минус 20°C и ниже) не более двух раз.

7.3. Образцы сывороток (плазмы), подвергнутые замораживанию, перед проведением исследования, следует тщательно перемешать.

7.4. Образцы сывороток (плазмы), содержащие агрегаты и осадок, осветлять с помощью центрифугирования.

7.5. Во избежание получения ложноположительных результатов образцы сывороток (плазмы) крови с выраженным гемолизом, гиперлипидемией или бактериальным рекомендуется не использовать.

8. ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Компоненты набора и анализируемые образцы сывороток крови человека

должны быть выдержаны при комнатной температуре (18-25)°С в течение времени не менее 30 минут до начала проведения анализа. После вскрытия набора компоненты набора следует хранить при температуре 2-8° С.

Жидкие реагенты, готовые к использованию:

- положительный контроль Ab (K+Ab)(P2-1), положительный контроль Ag (K+Ag)(P2-2);
- отрицательный контроль (K-)(P3);
- ТМБ-субстрат (P6);
- стоп-реагент (P8).

Унифицированные неспецифические реагенты (взаимозаменяемые реагенты для наборов разных серий набора реагентов «ИФА-ВИЧ 1/2-АГ/АТ-ФАКТОР»):

- концентрат промывочного раствора, 26-кратный (P7);
- ТМБ-субстрат (P6);
- стоп-реагент (P8).

Подготовка реагентов

8.1. Приготовление иммуносорбента (P1).

Вскройте пакет с иммуносорбентом и установите на рамку необходимое количество стрипов.

8.2. Приготовление промывочного раствора.

Отберите необходимое количество концентрата промывочного раствора (P7) и разведите дистиллированной водой в 26 раз и тщательно перемешайте (см. Таблицу № 1).

8.3. Приготовление конъюгата № 1 (P4).

Необходимое количество концентрата конъюгата №1 (Кг-1(x11))(P4-1) разведите в 11 раз раствором для разведения конъюгата №1 (РРК-1)(P4-2) (см. Таблицу № 1).

Тщательно перемешайте приготовленный **конъюгат № 1(P4)**, избегая вспенивания.

8.4. Приготовление конъюгата № 2(P5).

Необходимое количество концентрата конъюгата №2 (Кг-2(x11))(P5-1) разведите в 11 раз раствором для разведения конъюгата №2 (РРК-2)(P5-2) (см. Таблицу № 1).

Тщательно перемешайте приготовленный **конъюгат № 2 (P5)**, избегая вспенивания.

Таблица 1. Таблица расхода реагентов

Реагенты	Количество используемых стрипов											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	ПРИГОТОВЛЕНИЕ ПРОМЫВОЧНОГО РАСТВОРА											
Р7, мл	4	8	12	16	20	24	28	32	36	40	44	48
Дист. вода, мл	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000	1100	1200
	ПРИГОТОВЛЕНИЕ КОНЪЮГАТА №1											
Р4-1, мл	0.03	0.06	0.09	0.13	0.16	0.19	0.21	0.24	0.27	0.3	0.36	0.4
Р4-2, мл	0.3	0.6	0.9	1.3	1.6	1.9	2.1	2.4	2.7	3.0	3.6	4.0
	ПРИГОТОВЛЕНИЕ КОНЪЮГАТА №2											
Р5-1, мл	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1.0	1.1	1.2
Р5-2, мл	1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0	10	11	12

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

9.1. Внесите исследуемые образцы сыворотки (плазмы) и контроли:

в лунки А1-В1 – по 70 мкл положительного контроля Ab (P2-1);

в лунки С1-Д1 – по 70 мкл положительного контроля Ag (P2-2);

в лунки Е1-Ф1 – по 70 мкл отрицательного контроля (P3);

в остальные лунки – по 70 мкл исследуемых образцов сывороток (плазмы).

9.2. Внесите во все лунки по 30 мкл конъюгата №1 (P4).

Строго соблюдайте последовательность внесения реагентов в лунки иммуносорбента!

9.3. Заклейте иммуносорбент клейкой пленкой или накройте крышкой и инкубируйте в термостате при температуре $(37 \pm 2) ^\circ\text{C}$ в течение 60 минут. При

этом перед помещением планшета в термостат, после его заклеивания пленкой, перемешайте содержимое лунок иммуносорбента легким постукиванием по торцевой части, не допуская разбрызгивания.

Допускается инкубация при температуре $(37 \pm 2)^\circ\text{C}$ и постоянном встряхивании (700-800 об/мин) в течение 30 минут.*

9.4. По окончании инкубации промойте лунки планшета 6 раз.

ВНИМАНИЕ! Промывку иммуносорбента рекомендуется проводить с использованием вошера. В случае отсутствия вошера допускается промывка лунок многоканальной пипеткой.

1. Требования к качеству промывки:

- заполните лунки промывочным раствором в объеме не менее 350 мкл в лунку;
- не допускайте переполнения и перетекания жидкости в соседние лунки;
- выдержите промывочный раствор в лунках иммуносорбента не менее 30 секунд;
- полностью удалите содержимое лунок;
- по окончании промывки удалите остатки жидкости в лунках, перевернув иммуносорбент и постукивая им по фильтровальной бумаге.
- не допускайте высыхания лунок используемого иммуносорбента между отдельными стадиями.

Некачественное промывание иммуносорбента может привести к получению некорректных результатов.

9.5. Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата № 2 (P5).

9.6. Заклейте иммуносорбент клейкой пленкой или накройте крышкой и инкубируйте при температуре $(37 \pm 2)^\circ\text{C}$ в течение 10 минут. При этом перед помещением планшета в термостат, после его заклеивания пленкой, перемешайте содержимое лунок иммуносорбента легким постукиванием по торцевой части, не допуская разбрызгивания.

Допускается инкубация при температуре $(37\pm 2)^\circ\text{C}$ и постоянном встряхивании (700-800 об/мин) в течение 10 минут.*

9.7. По окончании инкубации промойте лунки планшета как указано в пункте 9.4.

9.8. Внесите во все лунки по 100 мкл раствора ТМБ-субстрата (Р6).

Заклейте иммуносорбент новой клейкой пленкой. Инкубируйте при температуре $(37\pm 2)^\circ\text{C}$ в течение 15 минут.

9.9. Внесите в лунки по 50 мкл стоп-реагента (Р8) для остановки цветной реакции.

Не более чем через 10 минут после остановки цветной реакции измерьте на фотометре вертикального сканирования оптическую плотность в лунках в двухволновом режиме (450/620-700 нм).

* позволяет сократить время проведения анализа при неизменности функциональных характеристик Набора.

10. УЧЕТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

10.1. Результаты анализа следует учитывать только при соблюдении следующих условий:

- значения оптических плотностей в лунках с отрицательным контролем (ОПК-) должны быть не выше 0,15 оптических единиц (ОЕ);
- значения оптических плотностей в лунках с положительными контролями (ОП К+ Ab и ОПК+Ag) должны быть не ниже 0,8 ОЕ.

10.2. Рассчитайте среднее значение оптической плотности в лунках с отрицательным контролем (ОПК_{ср}).

10.3. Прибавьте к полученному значению ОПК_{ср} коэффициент А, значение которого приведено в аналитическом паспорте (паспорте контроля качества).

Полученное значение называется *граничным значением оптической плотности (ГЗ)*:

$$\text{ГЗ} = \text{ОК}_{\text{ср}} + \text{А}$$

10.4. Рассчитайте индекс позитивности для каждого исследуемого образца.

$$\text{ИП} = \text{ОП}_{\text{обр}}/\text{ГЗ}$$

10.5. При значении $\text{ОП}_{\text{обр}} \geq \text{ГЗ}$ или при $\text{ИП} \geq 1,0$ исследуемый образец сыворотки (плазмы) крови следует считать **положительным**.

При значении $\text{ОП}_{\text{обр}} < \text{ГЗ}$ или при $\text{ИП} < 1,0$ исследуемый образец сыворотки (плазмы) крови следует считать **отрицательным**.

11. СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКАЯ ВЕРИФИКАЦИЯ ВНЕСЕНИЯ ОБРАЗЦОВ И РЕАГЕНТОВ.

После внесения образцов и компонентов набора возможно верифицировать факт правильного внесения путем измерения оптической плотности (ОП).

11.1. Определение правильности внесения исследуемых образцов и контрольных образцов: ОП (450 нм) в лунках с исследуемыми и контрольными образцами должно быть $> 0,07$.

11.2. Определение правильности внесения конъюгата №1 (Р4): ОП (450) в лунках с Р4 должно быть > 1 .

11.3. Определение правильности внесения конъюгата №2 (Р5): ОП (450 нм) в лунках Р5 должно быть $> 0,3$.

12. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВКИ, ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА.

12.1. Транспортирование наборов должно производиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с требованиями и правилами, установленными на данном виде транспорта, при температуре $(2-8)^{\circ}\text{C}$.

12.2. Набор реагентов «ИФА-ВИЧ 1/2-АГ/АТ-ФАКТОР» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре $(2-8)^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности (18 мес.).

12.3. Допускается хранение и транспортирование при температуре до 30°C в течение десяти суток. Замораживание не допускается

12.4. Для получения достоверных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

12.5. В случае дробного использования набора компоненты следует хранить следующим образом:

- оставшиеся неиспользованными стрипы иммуносорбента тщательно заклеить клейкой пленкой для заклеивания иммуносорбента и хранить в упаковке для планшета при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности набора;

- концентрат конъюгата №1 (КГ-1(x11))(P4-1), концентрат конъюгата №2 (КГ-2(x11))(P5-1), раствор для разведения конъюгата №1 (РРК-1)(P4-2), раствор для разведения конъюгата №2 (РРК-2)(P5-2), стоп-реагент (P8), раствор ТМБ – субстрата (P6), концентрат промывочного раствора (P7) после вскрытия флаконов хранить при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности набора;

- положительный контроль Ab (K+Ab), положительный контроль Ag (K+Ag) и отрицательный контроль (K-) после вскрытия флаконов хранить при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности набора.

12.6. Рабочие растворы компонентов:

- приготовленный промывочный раствор хранить при комнатной температуре ($+18-25^{\circ}\text{C}$) не более 15 дней или при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ не более 30 дней.

- приготовленные для использования растворы конъюгатов № 1 (P4) и № 2 (P5) хранить при комнатной температуре $+18-25^{\circ}\text{C}$ не более 12 часов или при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ не более 3 дней.

12.7. При использовании набора необходимо придерживаться следующих правил:

- не использовать набор после окончания срока годности;
- не смешивать компоненты наборов разных серий, кроме унифицированных неспецифических реагентов (концентрат промывочного раствора (ПРх26)(P7), стоп-реагента (P8), ТМБ-субстрата (P6));
- тщательно перемешивать реагенты при подготовке и проведении анализа;

- использовать для приготовления реагентов химически чистую посуду, обработанную дистиллированной водой;
- использовать только оборудование, прошедшее метрологическую поверку;
- исключить прямое воздействие солнечных лучей на планшеты во время проведения исследования;
- не допускать присутствие паров перекиси водорода и хлора в помещении при проведении ИФА.

12.8. Срок годности набора - 18 мес. от даты изготовления

По вопросам качества набора реагентов «ИФА-ВИЧ 1/2-АГ/АТ-ФАКТОР» обращаться в ООО «Фактор-Мед- Продакшн» по адресу: 119334, г. Москва, 5-ый Донской п-д., д. 15, тел/факс (495) 661-70-82.

12. ОБЪЯСНЕНИЕ СИМВОЛОВ НА ВНУТРЕННЕЙ УПАКОВКЕ.

Графический символ	Его значение и обозначение
	Дата изготовления
	Срок годности
	Номер серии
	Внимание!
	Биологические риски
	Не допускать воздействия солнечного света
	Температурный диапазон
	Изделия медицинского назначения
	Достаточно для проведения n-количества тестов
	Осторожно!
	Хранить в условиях, не допускающих намокания
	Не использовать при повреждении упаковки

Пронумеровано, прошито и скреплено печатью
ООО «Фактор-Мед Продакшн»

На 18 листах (Всесильное)
лицо

Генеральный директор:

ГП
подпись

/Пришляк Н.П./

