

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора
от _____ 20__ г.
№ _____

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель генерального директора
ООО «Научно-производственное объединение
«Диагностические системы»



О. Н. Шлюндин
2010 г.

ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов
«Стандарт ВИЧ-1 АГ p24(+)»

Стандартный биологический материал, содержащий антиген p24
вируса иммунодефицита человека 1 типа (ВИЧ-1)

Разработана впервые

Содержание

I. Назначение.....	3
II. Состав набора	3
III. Меры предосторожности.....	3
IV. Инструкции по безопасности.....	3
V. Необходимые материалы и оборудование, не предоставляемые с набором реагентов.....	4
VI. Подготовка образца и реагентов	4
VII. Проведение анализа и учет результатов.....	5
VIII. Срок годности. Условия хранения и транспортировки.....	6
IX. Объяснение символов на внутренней упаковке.....	6

Набор реагентов выпускается в одном комплекте.

«Стандарт ВИЧ-1 АГ p24(+)»- представляет собой препарат рекомбинантного антигена p24gag в 1% растворе альбумина, лиофилизированный.

Реагент 1 – пул негативных сывороток (плазм) крови человека, используемый для разведения «Стандарт ВИЧ-1 АГ p24(+)», инактивированный, лиофилизированный.

В комплект входит 1 флакон «Стандарт ВИЧ-1 АГ p24(+)» и 10 флаконов Реагент 1.

I. НАЗНАЧЕНИЕ

«Стандарт ВИЧ-1 АГ p24(+)» Стандартный биологический материал, содержащий антиген p24 вируса иммунодефицита человека 1 типа (ВИЧ-1) предназначен для оценки чувствительности иммуноферментных тест- систем, выявляющих антиген p24 (ВИЧ-1); для контроля тест-систем на стадиях производства и выпуска; для научно-производственных целей, внешнего и внутреннего контроля качества работы диагностических лабораторий; для количественного определения антигена p24 (ВИЧ-1) в исследуемой сыворотке (плазме) крови человека методом ИФА.

II. СОСТАВ НАБОРА «Стандарт ВИЧ-1 АГ p24(+)»

Таблица 1

Характеристика реагента	Форма выпуска
«Стандарт ВИЧ-1 АГ p24(+)» – рекомбинантный антиген p24gag вируса иммунодефицита человека 1 типа (ВИЧ-1) в концентрации 200 пг/мл, лиофилизированный. Сухая пористая масса белого цвета.	1 флакон -1 мл
Реагент 1 - пул негативных сывороток (плазмы) крови человека, инактивированный, лиофилизированный. Сухая пористая масса белого или светло-желтого цвета.	10 флаконов – 1 мл

III. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Достоверность результатов зависит от правильного выполнения следующих правил лабораторной практики:

- Нельзя использовать реагенты с истекшим сроком годности.
- Нельзя использовать реагенты из наборов разных серий и смешивать их в процессе приготовления растворов.
- Лабораторная посуда должна быть тщательно промыта. Предпочтительно применять посуду одноразового использования.
- Необходимо использовать новый наконечник для каждого образца.
- Необходимо использовать только валидированные пипетки и оборудование.
- Необходимо использовать воду высокого качества.
- Нельзя подвергать реагенты воздействию тепла во время хранения.

IV. ИНСТРУКЦИИ ПО БЕЗОПАСНОСТИ

- Все реагенты набора предназначены для диагностики “in vitro”.
- Реагент 1 изготовлен из термоинактивированных сывороток или плазмы крови.
- После вскрытия коробки необходимо проверить флаконы с реагентами на целостность и наличие на них этикеток. Повреждённые флаконы и флаконы без этикеток использовать нельзя.
- Для предотвращения выброса лиофилизированных препаратов при разгерметизации флаконов пробку необходимо слегка приоткрыть, а затем извлечь полностью.

- При работе с исследуемыми образцами нужно обращаться как с потенциально опасными материалами, т.к. ни один известный метод тестирования не может гарантировать отсутствие инфекционных агентов.
- В помещении с иммунодиагностическими материалами нельзя употреблять пищу, пить, курить, применять косметику.
- Нельзя пипетировать ртом.
- При работе с набором реагентов и исследуемыми образцами необходимо использовать спецодежду и одноразовые перчатки, тщательно промывать руки после работы с ними.
- Необходимо избегать распыливания растворов, регидратированных реагентов набора. При распыливании немедленно дезактивировать поверхность 3 % раствором хлорамина Б.
- После проведения ферментативной реакции необходимо нейтрализовать и/или автоклавировать растворы, отходы или любые жидкости, содержащие биологические образцы до сброса в сточную трубу. Твердые отходы (использованные планшеты, наконечники к дозаторам, флаконы, лабораторная посуда, одноразовые перчатки и т.д.) должны быть обеззаражены погружением в 6 % раствор перекиси водорода с 0,5 % синтетического моющего средства (СМС) или в 3 % раствор хлорамина Б. Длительность дезактивации – не менее 1 ч. Допустимо применение другого разрешенного к применению дез. средства. Твердые отходы также следует обезвреживать автоклавированием в течение часа при температуре от 124 до 128 °С под давлением 1,5 кгс/см² (0,15 МПа). Жидкие отходы (промывочные воды) следует обеззараживать добавлением сухого хлорамина Б из расчета 30 г/л (длительность дезактивации – не менее 2 ч) или кипячением в течение 30 мин, или автоклавированием в течение 1 ч под давлением 1,5 кгс/см² (0,15 МПа) при температуре от 124 до 128 °С. Инструменты и оборудование до и после работы необходимо протирать 2 раза 70 % этиловым спиртом.

V. НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ, НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЕМОЕ С НАБОРОМ РЕАГЕНТОВ

- Спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность раствора в лунках планшета при длинах волн 450 нм и 620-680 нм.
- Пипетки переменного объема (одно- и многоканальные).
- Наконечники одноразовые для пипеток переменного объема.
- Термостат.
- Устройство для промывания планшетов (вошер).
- Шейкер.
- Автоматический анализатор для иммуноферментного анализа открытого типа.
- Вода дистиллированная.
- Бумага фильтровальная лабораторная.
- Перчатки медицинские.

VI. ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦА И РЕАГЕНТОВ

1. Приготовление исходного раствора «Стандарт ВИЧ-1 АГ р24(+)» в концентрации 200 пг/мл: во флакон с лиофилизированным «Стандарт ВИЧ-1 АГ р24(+)» внести дистиллированную воду в объеме, указанном на этикетке флакона. Содержимое флакона тщательно перемешать до полного растворения. После растворения контрольный образец выдержать 20 мин при температуре от 18 °С до 24 °С, затем использовать для анализа.

Регидратированный «Стандарт ВИЧ-1 АГ р24(+)» должен представлять собой прозрачный бесцветный или светло-желтого цвета раствор, без осадка, допускается опалесценция.

Возможно хранение исходного раствора «Стандарт ВИЧ-1 АГ р24(+)», предварительно разлитого по аликвотам (в объеме не меньше 200 мкл), при температуре не выше минус 18 °С в течение 1,5 месяцев или при минус 70 °С – до конца срока годности препарата. Допускается однократное оттаивание-замораживание препарата.

2. Приготовление раствора Реагента 1: в каждый флакон с лиофилизированным Реагентом 1 внести по 1,0 мл воды дистиллированной и тщательно перемешать до полного растворения содержимого флакона. После растворения выдержать образец при температуре от 18 до 24 °С в течение 20 мин.

Регидратированный Реагент 1 должен представлять собой прозрачный бесцветный или светло-желтого цвета раствор, без осадка, допускается опалесценция.

3. Приготовление стандартных разведений (проб) «Стандарт ВИЧ-1 АГ р24(+)»: использовать исходный раствор «Стандарт ВИЧ-1 АГ р24(+)» (п. 1) и раствор Реагента 1 (п. 2). Каждое разведение (пробу) «Стандарт ВИЧ-1 АГ р24(+)» готовят в отдельном флаконе с раствором Реагента 1: необходимое количество исходного раствора «Стандарт ВИЧ-1 АГ р24(+)» вносят в каждый флакон с раствором Реагента 1 в объемах, указанных в таблице 1.

Для приготовления концентрации 100 пг/мл необходимо отобрать 750 мкл из флакона с Реагентом 1, а затем в оставшиеся 250 мкл Реагента 1 внести 250 мкл исходного раствора «Стандарт ВИЧ-1 АГ р24(+)».

Таблица 2

Приготовление стандартных разведений «Стандарт ВИЧ-1 АГ р24(+)»

№№	Концентрация р24 (ВИЧ-1) (пг/мл), которую необходимо получить	Исходный раствор «Стандарт ВИЧ-1 АГ р24(+)» (мкл)	Раствор Реагента №1 (мкл)
1	0	0	1000
2	100*	250	250
3	50*	330	1000
4	20*	111	1000
5	10,0* **	53	1000
6	5,0* **	26	1000
7	2,5 * **	13	1000
8	1,0 **	5,0	1000
9	0,5 **	2,5	1000
10	0,25 **	1,3	1000

* для тест-систем с чувствительностью по р24 ВИЧ-1 5 - 8 пг/мл и ниже.

** для тест-систем с чувствительностью по р24 ВИЧ-1 0,5 - 1 пг/мл и ниже.

Разведения «Стандарт ВИЧ-1 АГ р24(+)» (п.2) вносить в лунки иммуносорбента используемой тест-системы в 2-х повторностях.

4. Приготовление разведений исследуемого образца (сыворотки или плазмы крови человека). При определении количественного содержания р24 (ВИЧ-1) в исследуемом образце величина ОП образца при используемых длинах волн должна находиться в линейной области. Если ОП исследуемого образца выходит за рамки указанного диапазона, подбирают эмпирическим путем разведение образца (обычно достаточно исследовать следующие разведения сыворотки или плазмы: (1:10; 1:100; 1:1000; 1:10000). Подобранный разведение исследуемого образца вносить в лунки в 2-х повторностях.

5. Приготовление рабочих растворов реагентов из наборов иммуноферментных тест-систем проводят согласно инструкциям по применению данных тест-систем.

VII. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА И УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. Постановку ИФА проводят в соответствии с инструкцией по применению используемой тест-системы.

2. При определении чувствительности тест-системы стандартные разведения «Стандарт ВИЧ-1 АГ р24(+)» (п. VI, п.п. 5) вносят в лунки иммуносорбента в 2-х повторностях.

3. При определении количественного содержания p24 ВИЧ-1 в исследуемом образце, разведения исследуемого образца и стандартные разведения «Стандарт ВИЧ-1 АГ p24(+)» (п. VI, п. п. 5) вносят в лунки иммуносорбента в 2-х повторностях параллельно на одном планшете.

4. При оценке чувствительности иммуноферментных тест-систем, выявляющих антиген p24 (ВИЧ-1), показатель чувствительности тест-системы соответствует наименьшему количеству антигена p24 (ВИЧ-1), которое определяется данной тест-системой.

5. Для количественного определения антигена p24 (ВИЧ-1) в исследуемом образце необходимо построить калибровочный график на бланке для построения калибровочной кривой, нанеся на ось Y средние значения ОП стандартных разведений «Стандарт ВИЧ-1 АГ p24(+)», а по оси X соответствующие концентрации антигена p24. Определить концентрацию в исследуемом образце по полученной калибровочной кривой. Для этого найти точку на калибровочной кривой, соответствующую значению ОП образца. Значение абсциссы этой точки будет равно содержанию антигена p24 (ВИЧ-1) (пг/мл) в исследуемом образце. Если показатель ОП исследуемого образца превышает верхний предел полученной кривой, необходимо развести образец и повторить тестирование. Если исследуемый образец предварительно был разведен, то значение концентрации, полученной на оси абсцисс, умножают на кратность разведения. При этом надо иметь в виду, что погрешность данной оценки может быть 10-20%.

6. Для точного количественного определения концентрации антигена p24 (ВИЧ-1) в исследуемых образцах необходимо использовать метод серийных разведений этих образцов параллельно с серийными разведениями «Стандарт ВИЧ-1 АГ p24(+)».

VIII. СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

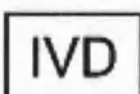
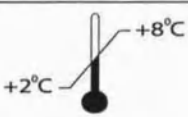
Срок годности – 3 года. Набор с истекшим сроком годности использованию не подлежит.

Хранение - в соответствии с СП 3/3.2.1248-03 в сухом, защищенном от света месте при температуре от 2 до 8 °С.

Транспортирование - в соответствии с СП 3.3.2.1248-03 при температуре от 2 до 8 °С. Допустимо транспортирование от 9 до 20 °С и не более 10 суток. Замораживание не допускается.

Рекламации на специфические и физические свойства препарата направлять в адрес предприятия-изготовителя - ООО «Научно производственное объединение «Диагностические системы» 603093, Россия, Нижний Новгород, ул. Яблонева, 22, тел./факс: (831) 434-86-83 или тел.: (831) 434-97-12. E-mail: info@npods.nnov.ru, www.npods.ru.

IX. ОБЪЯСНЕНИЕ СИМВОЛОВ НА ВНУТРЕННЕЙ УПАКОВКЕ

	ЕС Маркировка (Европейская директива 98/79/CE по in vitro диагностическим МУ)
	Только для лабораторного использования (in vitro diagnostic)
	Код партии (номер серии)
	Температурные пределы хранения

	Срок годности дата/месяц/год
	Используйте инструкцию по применению

Директор по производству
ООО «Научно-производственное объединение
«Диагностические системы»



В. К. Пименов

Главный врач
ГУЗ «Республиканский центр по профилактике
и борьбе со СПИДом
и инфекционными заболеваниями»



П. В. Сергеев



Исполнитель
Исполнитель
(с. 10)
Исполнитель
Александр