



"УТВЕРЖДАЮ"

Генеральный директор
ЗАО "ЭКОлаб"

В.Ю.Берисов

"20" 04 2020 г.

**Инструкция
по применению набора реагентов
«Тест-система иммуноферментная для выявления антител к
индивидуальным белкам вируса иммунодефицита человека 1 и 2 типа (ВИЧ-1,
ВИЧ-1 группы О, ВИЧ-2) методом иммунного блоттинга»
"ИФА-Блот-ВИЧ-1,2"**

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител к индивидуальным белкам вируса иммунодефицита человека 1 и 2 типа (ВИЧ-1, ВИЧ-1 группы О, ВИЧ-2) методом иммунного блоттинга» "ИФА-Блот-ВИЧ-1,2" предназначен для качественного подтверждения выявления антител к отдельным антигенам вируса иммунодефицита человека типов 1 и 2 (ВИЧ-1, ВИЧ-1 группы О, ВИЧ-2) методом иммунного блоттинга в образцах сыворотки (плазмы) крови человека при «ручной» постановке или с использованием систем для автоматизации иммуноблоттинга.

Для однократного применения набора по назначению.

Для клинической лабораторной диагностики in vitro.

Потенциальные потребители изделия

Лабораторные подразделения лечебно-профилактических учреждений.

Профессиональный уровень потенциальных пользователей

Врач клинической лабораторной диагностики, медицинский лабораторный техник.

Показания и противопоказания к применению изделия

Показания: изделие предназначено для подтверждения результатов скринингового обследования на ВИЧ. Позволяет определить иммунный статус пациента в отношении ВИЧ-1, ВИЧ-1 группы О и ВИЧ-2. Позволяет дифференцировать ВИЧ-1 и ВИЧ-2.

Противопоказания: изделие не предназначено для дифференцирования разных групп и субтипов ВИЧ-1.

Описание целевого анализа, сведения о его научной обоснованности

ВИЧ-инфекция – болезнь, вызванная вирусом иммунодефицита человека, – антропонозное инфекционное хроническое заболевание, характеризующееся специфическим поражением иммунной системы, приводящим к медленному ее разрушению до формирования синдрома приобретенного иммунодефицита (СПИД), сопровождающегося развитием оппортунистических инфекций и вторичных злокачественных новообразований.

Возбудитель ВИЧ-инфекции – вирус иммунодефицита человека – относится к подсемейству лентивирусов семейства ретровирусов. Существует два типа вируса: ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Выделяют четыре группы ВИЧ-1: группу «М» – основная или Major, группу «О» – редкая или Outlier, группу «N» – не относящаяся к группам «М» и «О» или «Non M/Non O» и относительно недавно (2009 г.)

идентифицированную группу «Р». М — основная группа вирусов, ответственных за пандемию ВИЧ-инфекции. ВИЧ-1 группы М является причиной более 90% случаев инфекции в мире. В группе «М» выделяют несколько субтипов, имеющих буквенное англоязычное обозначение: от А до К. На территории России и ближнего зарубежья были обнаружены 8 субтипов ВИЧ-1 (А, В, С, D, Е, F, G и Н), в связи с чем важным является выявление ВИЧ-1 всех перечисленных субтипов. ВИЧ-1 группы О генетически сильно отличается от ВИЧ-1 групп М, N и Р, в связи с чем предъявляются особые требования к используемым диагностическим наборам по выявлению ВИЧ-1 группы О.

Диагноз ВИЧ-инфекции устанавливается на основании эпидемиологических, клинических и лабораторных данных.

Лабораторная диагностика ВИЧ-инфекции основана на выявлении антител к ВИЧ и вирусных антигенов, а также, в особых случаях, выявлении провирусной ДНК ВИЧ и вирусной РНК ВИЧ (у детей первого года жизни и у лиц, находящихся в инкубационном периоде).

Стандартным методом лабораторной диагностики ВИЧ-инфекции служит одновременное определение антител к ВИЧ-1,2 и антигена р24/25 ВИЧ с помощью диагностических тестов ИФА и ИХЛА (иммунохемилюминесцентный анализ), разрешенных к применению в Российской Федерации в установленном порядке. Для подтверждения результатов в отношении ВИЧ применяются подтверждающие тесты (иммунный, линейный блот). У детей первого года жизни и лиц, находящихся в инкубационном периоде, для подтверждения диагноза и своевременного назначения АРТ может быть использовано определение РНК или ДНК ВИЧ молекулярно-биологическими методами.

Лабораторная диагностика ВИЧ-инфекции может осуществляться только при использовании сертифицированных стандартизованных диагностических тест-систем (наборов), разрешенных к использованию на территории Российской Федерации в установленном порядке (СП 3.1.5.2826-10 «Профилактика ВИЧ-инфекции»).

СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

Набор выпускается в 2 базовых вариантах комплектации:

Иммуносорбент	Полоски (стрипы) из нитроцеллюлозной мембраны с сорбированными на них методом электропереноса индивидуальными белками (антигенами) ВИЧ-1 (Env gp160, Env gp110/120, Pol p68/66, Gag p55, Pol p52/51, Env gp41, Gag p40, Int p34/31, Gag p24/25, Gag p18/17) и нанесенными в виде отдельных линий синтетическими пептидами ВИЧ-2 (Env gp36 и Env gp105); в виде контрольной линии нанесены козы антитела против IgG человека — для контроля правильности проведения реакции	компл. №1	компл. №2
		18 стрипов	24 стрипа
		стрипы – в пластиковом контейнере с крышкой	
Контрольный положительный образец (K ⁺)	Сыворотка крови человека, содержащая антитела к ВИЧ-1 и ВИЧ-2 в высокой концентрации (титр не менее 1:10000, реагирует со всеми антигенами иммуносорбента), не содержащая HBsAg, антигены ВИЧ, антитела к ВГС и Treponema pallidum; инактивированная; прозрачная жидкость светло-желтого цвета	1 фл. (0,2 мл)	1 фл. (0,2 мл)
Контрольный слабоположительный образец (K ⁺ _{сн})	Сыворотка крови человека, содержащая антитела к ВИЧ-1 в низкой концентрации (титр не более 1:200), не содержащая HBsAg, антигены ВИЧ, антитела к ВГС и Treponema pallidum; инактивированная; прозрачная жидкость светло-желтого цвета	1 фл. (0,2 мл)	1 фл. (0,2 мл)

Контрольный отрицательный образец (К ⁻)	Сыворотка крови человека, не содержащая антитела к ВИЧ-1,2, ВГС, Treponema pallidum, антигены ВИЧ и HBsAg; инактивированная; прозрачная жидкость светло-желтого цвета	1 фл. (0,2 мл)	1 фл. (0,2 мл)
Конъюгат	Козьи антитела против иммуноглобулинов G человека, конъюгированные со щелочной фосфатазой; непрозрачная пенящаяся жидкость светло-желтого цвета	1 фл. (45 мл)	2 фл. (по 30 мл)
Окрашивающий раствор	Раствор 5-бром-4-хлор-3-индолилфосфата и нитроголубого тетразолия; прозрачная светло-зеленого цвета жидкость	1 фл. (50 мл)	2 фл. (по 30 мл)
5-кратный концентрат промывочного раствора [PP(x5)]	Непрозрачная пенящаяся жидкость светло-желтого цвета; возможно выпадение осадка, растворяющегося при встряхивании	2 фл. (по 50 мл)	3 фл. (по 50 мл)
Раствор для разведения сывороток (PPC)	Непрозрачная пенящаяся жидкость светло-желтого цвета; возможно выпадение осадка, растворяющегося при встряхивании	1 фл. (45 мл)	2 фл. (по 30 мл)
Фотография референс-стрипа	Фотография стрипа с проявленным белковым профилем ВИЧ-1 и ВИЧ-2 и контрольной линией	1 шт.	1 шт.
Пинцет пластиковый		1 шт.	1 шт.

Примечания:

1. Набор включает все реагенты, необходимые для постановки анализа, кроме очищенной (дистиллированной или деионизированной) воды.
2. Допускается использование неспецифических реагентов из разных серий.
3. В составе изделия отсутствуют материалы, вступающие в непосредственный или опосредованный контакт с организмом пациента и персонала, использующего изделие, при выполнении требований эксплуатационной документации (инструкции по применению).
4. В составе изделия отсутствуют лекарственные средства и фармацевтические субстанции.

Набор дополнительно комплектуется принадлежностями - ванночками пластмассовыми с лунками для проведения реакции (на 6 стрипов каждая): комплект № 1 - 3 шт., комплект № 2 - 4 шт.

Компоненты набора упакованы в коробку, в коробку вложены инструкция по применению и протокол учета результатов исследования.

ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Базовые варианты комплектации набора позволяют исследование 18 (комплект № 1) и 24 (комплект № 2) образцов, включая контрольные (на контрольные образцы используется 3 стрипа). Предусмотрена возможность проведения отдельных исследований с использованием необходимого количества стрипов. При этом допускается исследование контрольных образцов только в первой постановке после вскрытия набора.

Набор позволяет проведение анализа по двум протоколам: протокол № 1 - длительность инкубаций 2 часа 15 минут; протокол № 2 - длительность инкубаций 16-20 часов.

Методы стерилизации изделия

Изделие не требует стерилизации.

Программное обеспечение работы изделия

Отсутствует.

Техническое обслуживание и ремонт изделия

Изделие не требует технического обслуживания и не подлежит ремонту.

Введена впервые 20.04.2020г.

ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

В основе теста лежит метод непрямого иммуноферментного анализа на нитроцеллюлозной мембране, на которую методом электропереноса нанесены основные индивидуальные белки ВИЧ-1, полученные при электрофоретическом разделении лизатного антигена ВИЧ-1, а также нанесены синтетические пептиды ВИЧ-2 в виде отдельных линий и контрольная линия (козы антитела к IgG человека).

Антитела к ВИЧ-1 и/или ВИЧ-2 (при их наличии в исследуемом образце) связываются с индивидуальными белками ВИЧ-1 и/или ВИЧ-2, сорбированными на стрипе. Полученные комплексы затем связываются с конъюгатом, ферментативная активность которого приводит к появлению окрашенных полос на стрипах в зонах локализации соответствующих индивидуальных белков ВИЧ-1 и/или ВИЧ-2.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Аналитическая чувствительность набора по выявлению антител к ВИЧ-1, ВИЧ-1 группы О и ВИЧ-2 определяется по стандартным панелям положительных сывороток предприятия, содержащих антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-1 группы О и ВИЧ-2 (СОП⁺_{ВИЧ-1-041}, СОП⁺_{ВИЧ-1-О-044}, СОП⁺_{ВИЧ-2-042} или по коммерческим стандартным образцам, содержащим антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-1 группы О и ВИЧ-2, допущенным к использованию в РФ), как процентное содержание образцов, определенных набором как положительные, и составляет 100%.

Аналитическая чувствительность набора по выявлению ВИЧ-1 группы М субтипов А, В, С, Е определяется по международной панели сывороток «WHO International Standard HIV (antibody), 1st International Reference Panel» («NIBSC», Великобритания), как процентное содержание образцов, определенных набором как положительные, и составляет 100%.

Аналитическая специфичность набора определяется по стандартной панели отрицательных сывороток предприятия, не содержащих антитела к ВИЧ (СОП_{ВИЧ-040} или по коммерческим стандартным образцам, не содержащим антитела к ВИЧ, допущенным к использованию в РФ), как процентное содержание образцов, определенных набором как отрицательные, и составляет 100%.

Диагностическая чувствительность набора реагентов: 99,82% - 100% (с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическая специфичность набора реагентов: 99,83% - 100% (с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическая чувствительность для каждого вида биологического материала составила:

Сыворотка крови человека: 99,66 % - 100%

Плазма крови человека: 99,64% - 100%

Диагностическая специфичность для каждого вида биологического материала составила:

Сыворотка крови человека: 99,76 % - 100%

Плазма крови человека: 99,60% - 100%

Диагностическая специфичность оцененная на 640 образцах доноров составила 99,53%.

Диагностическая специфичность оцененная на 510 образцах пациентов с не связанными с ВИЧ-инфекцией заболеваниями составила: 99,41%.

Воспроизводимость результатов составила 100%.

ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Нативная сыворотка, плазма (с гепарином, ЭДТА, цитратом натрия) крови человека объемом не менее 20 мкл.

Сбор образцов крови должен производиться в соответствии с надлежащей практикой методом венепункции (ГОСТ Р 53079.4-2008 «Обеспечение качества клинических лабораторных исследований»).

Образцы до исследования хранить при температуре от 2 до 8 °С. При необходимости хранения образцов более 7 дней рекомендуется разделить их на аликвоты и хранить при температуре от минус 20 до минус 70 °С. Размороженные образцы перед исследованием нужно тщательно перемешать. При работе с размороженными образцами следует учитывать, что каждый цикл оттаивания-замораживания

приводит к разрушению выявляемых антител, снижая качество исследуемого материала. С целью получения достоверных результатов исследования рекомендуется использовать только однократное замораживание-оттаивание образцов.

Не допускается использование для исследования образцов с повышенным содержанием липидов и (или) с признаками гемолиза, и (или) с видимым микробным проростом.

Образцы, содержащие осадок, перед анализом отцентрифугировать в течение 10-15 мин при 2500-3000 об/мин.

Если образцы необходимо транспортировать, они должны быть упакованы в соответствии с правилами транспортировки инфекционного материала.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор биологически безопасен, однако исследуемые образцы следует считать потенциально инфицированными.

Потенциальный риск применения набора – класс 3 (Приказ МЗ РФ №4н от 6 июня 2012 г.), ГОСТ 31508.

Меры предосторожности при работе с набором – соблюдение правил "Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений" (Утв. Минздравом СССР 17 января 1991 г.), ГОСТ Р 52905–2007 (ИСО 15190:2003).

Конъюгат, ПР(х5) (5-кратный концентрат промывочного раствора), РРС (раствор для разведения сывороток) содержат натрия мертиолят в безопасной концентрации.

Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов 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".

Набор реагентов, в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» относится - к классу В – чрезвычайно эпидемиологически опасные отходы.

Перечень рисков, идентифицированных в процессе анализа риска, и описание способов управления этими рисками в целях снижения их до допустимого уровня представлен отдельным документом.

СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

Оборудование, материалы и реагенты

- пипетки автоматические или полуавтоматические с переменным или постоянным объемом, позволяющие дозировать 20-200, 100-1000 мкл и 5,0 мл;
- наконечники одноразовые для автоматических (полуавтоматических) пипеток;
- спирт этиловый 70%;
- раствор перекиси водорода 6%;
- резиновые перчатки;
- вата гигроскопическая;
- бумага фильтровальная;
- центрифуга настольная на 2500–3000 об/мин;
- мерный стакан или цилиндр необходимого объема;
- контейнеры для сбора отходов (отдельно для жидких и твердых);
- аспиратор вакуумный;
- шейкер-качалка с углом наклона платформы 6-8° и частотой качания 30-40 об/мин или орбитальный шейкер с диаметром орбиты 10-22 мм и частотой вращения 90-160 об/мин, или система для автоматизации процедуры исследования методом иммуноблоттинга
- вода очищенная (дистиллированная или деионизованная).

1. Приготовление растворов и реагентов

1.1. Приготовление рабочего промывочного раствора

Введена впервые 20.04.2020г.

ПР(х5) развести водой очищенной, используя соотношения реагентов, указанные в табл. 1.

Таблица 1

Реагент	Ед. изм.	Количество компонента при использовании стрипов			
		6	12	18	24
ПР(х5)	мл	20	40	60	80
Вода очищенная	мл	80	160	240	320

Готовый раствор хранить при комнатной температуре не более 48 ч, при температуре от 2 до 8 °С - не более 2 мес.

1.2. Подготовка остальных реагентов

Иммуносорбент, РРС, K^+ , $K^+_{сл}$, K^- , конъюгат, окрашивающий раствор готовы к применению.

После вскрытия упаковок неиспользованные реагенты допускается хранить в плотно закрытых упаковках при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности.

2. Проведение анализа методом иммунного блоттинга

Качество полученных результатов зависит от точного соблюдения следующих правил:

- перед использованием набор реагентов следует выдержать при комнатной температуре (от 18 до 25 °С) не менее 30 мин;
- при работе со стрипами пользоваться резиновыми перчатками и пластмассовым пинцетом.

Протокол № 1 (длительность инкубаций 2 часа 15 минут)

2.1. Вскрыть упаковку стрипов. Осторожно, пластмассовым пинцетом, переложить стрипы маркированной стороной вверх в лунки ванночек для проведения иммунного блоттинга, чтобы стрипы были покрыты растворами реагентов в течение всего исследования. Лунки ванночек промаркировать в соответствии с номерами исследуемых образцов.

Внимание! Прикосновение пальцев может оставить пятна на стрипе.

2.2. Внести в каждую лунку ванночки по 2,0 мл РРС и инкубировать 5 мин при температуре от 18 до 25 °С на шейкере.

Внимание! При инкубациях и отмывках стрипы должны быть полностью погружены в жидкость.

Рекомендуется использовать шейкер-качалку с углом наклона платформы 6-8° и частотой качания 30-40 об/мин или орбитальный шейкер с диаметром орбиты 10-22 мм и частотой вращения 90-160 об/мин.

Во избежание перекрёстной контаминации и перелива через бортики канавок, установить оптимальные параметры шейкера.

2.3. Добавить отдельными наконечниками по 20 мкл каждого из исследуемых и контрольных (K^+ , $K^+_{сл}$ и K^-) образцов в соответственно промаркированные лунки.

Внимание! Внесение сывороток должно сопровождаться быстрым и тщательным перемешиванием автоматической пипеткой.

При внесении каждой сыворотки необходимо регистрировать номер соответствующего ей стрипа.

2.4. Инкубировать в течение 1 ч при температуре от 18 до 25 °С на шейкере.

2.5. После инкубации, используя вакуумный насос, полностью удалить жидкость из каждой лунки в емкость с дезинфицирующим раствором.

Внимание! Соблюдать осторожность, чтобы при удалении растворов не выпали стрипы. Во избежание перекрестной контаминации наконечник отсасывающего устройства после каждого контакта с различными образцами сывороток промывать дистиллированной водой или использовать для каждого образца отдельный одноразовый наконечник. Следить, чтобы капли влаги не оставались под стрипом. При необходимости осторожно приподнимать стрипы пинцетом и удалять из-под них остатки влаги.

2.6. Внести в каждую лунку по 2,0 мл рабочего промывочного раствора и промыть стрипы в течение 5 мин на шейкере. Промывку выполнить 3 раза по 5 мин (суммарное время промывок – 15 мин). После последней промывки раствор удалить из лунок.

2.7. Внести в каждую лунку по 2,0 мл конъюгата. Инкубировать в течение 1 ч при температуре от 18 до 25 °С на шейкере.

2.8. 3 раза промыть каждый стрип, как указано в пп. 2.5-2.6.

Внимание! Промывку и удаление жидкости после реакции с конъюгатом выполнять особенно аккуратно, т.к. даже небольшие следы конъюгата при контакте с хромогеном могут привести к неспецифическому окрашиванию всего стрипа, а не отдельных полос.

2.9. Внести в каждую лунку по 2,0 мл окрашивающего раствора. Инкубировать в защищенном от света месте в темноте (например, накрыв планшеты сложенной в несколько слоев фильтровальной бумагой) при температуре от 18 до 25 °С на шейкере в течение 10 мин., до появления на стрипе, прореагировавшем с K^+ , четких окрашенных полос.

2.10. Для остановки реакции удалить из лунок окрашивающий раствор и промыть стрипы 3 раза очищенной водой, наливая в каждую лунку по 2,0 мл воды.

2.11. Осторожно, пинцетом, извлечь стрипы из лунок ванночки. Осушить стрипы между двумя листами фильтровальной бумаги при комнатной температуре. Расположить их маркированной стороной вверх для оценки результатов. Последующее хранение стрипов должно осуществляться в темноте.

Протокол № 2 (длительность инкубаций 16-20 часов)

Выполнить операции, описанные для протокола № 1 в п.п. 2.1-2.3.

В операции по п. 2.4 протокола № 1 инкубировать в течение 16-20 часов при температуре 18-25 °С на шейкере.

Выполнить операции, описанные для протокола № 1 в п.п. 2.5-2.6.

В операции по п. 2.7 протокола № 1 во все лунки планшета внести по 2,0 мл конъюгата. Поместить планшет на шейкер. Инкубировать в течение 30 мин при температуре 18-25 °С.

Выполнить операции, описанные для протокола № 1 в п.п. 2.8-2.11.

УЧЕТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Интенсивность окрашивания линий на стрипах иммуносорбента оценивается визуально для каждого исследуемого образца отдельно.

Для облегчения учета результатов рекомендуется использовать фотографию референс-стрипа, входящую в состав набора.

Учет результатов проводят при следующих условиях:

1. Контрольные образцы дали окрашивание полос стрипов строго в соответствии с требованиями, содержащимися в таблице 3:

Таблица 3

Контроль- ный образец	Полосы иммуносорбента												
	Антигены ВИЧ-1										Антигены ВИЧ-2		Контроль- ная линия Кр
	Env gp160	Env gp110/120	Pol p68/66	Gag p55	Pol p52/51	Env gp41	Gag p40	Int p34/31	Gag p24/25	Gag p18/17	Env gp36	Env gp105	
К-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
К ⁺	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
К ⁺ _{сл}	+	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+/-	+/-	+	+/-	-	-	+

Примечание:

1. "-" – отсутствие окрашивания полосы;
2. "+" – окрашивание полосы любой интенсивности;
3. "+/-" – возможно как окрашивание полосы любой интенсивности, так и отсутствие окрашивания;
4. присутствие или отсутствие полосы, соответствующей антигену Gag p18/17 ВИЧ-1, не является необходимым условием для оценки достоверности полученных результатов.

Введена впервые 20.04.2020г.

2. На стрипе четко окрашена контрольная линия (Кр).

При несоблюдении хотя бы одного из этих условий исследование необходимо повторить.

Интерпретация результатов

Проводится по критериям, разработанным Всемирной организацией здравоохранения (WHO), либо по критериям Консорциума по стандартизации исследования ретровирусов (CRSS):

Результат	Критерии WHO	Критерии CRSS
Положительный ВИЧ-1	2 ENV (Env gp160 и/или Env gp 110/120 и/или Env gp41) $\pm$ GAG $\pm$ POL	1 ENV (Env gp160 и/или Env gp110/120 и/или Env gp41) + (1 GAG или 1 POL)
Положительный ВИЧ-2	2 ENV (Env gp36 и Env gp105) $\pm$ GAG $\pm$ POL	1 ENV (Env gp36 или Env gp105) $\pm$ GAG $\pm$ POL
Неопределенный	1 ENV + GAG + POL GAG + POL GAG POL	GAG + POL или GAG или POL
Отрицательный	Отсутствие полос. Полосы, не соответствующие белкам ВИЧ-1 и ВИЧ-2.	Отсутствие полос. Полосы, не соответствующие белкам ВИЧ-1 и ВИЧ-2.

Примечания:

- Неопределенный результат может означать, что образец получен в период сероконверсии либо наблюдается неспецифическая реакция, вызванная наличием антител к другим ретровирусам. Необходимо повторить с образцом, полученным от пациента через 3-4 недели после первого исследования.

- В случае исследования сывороток стандартных панелей допускается очень слабое окрашивание антигенных полос на иммуносорбенте в связи со слабой реактивностью сывороток стандартных панелей.

- Образцы сыворотки (плазмы), при исследовании которых проявились полосы, соответствующие антигенам ВИЧ-2, должны быть дополнительно протестированы в тест-системе, предназначенной для выявления антител к индивидуальным белкам ВИЧ-2 методом иммунного блоттинга.

Постановка с использованием систем для автоматизации иммуноблоттинга

Подготовить прибор в соответствии с инструкцией по его эксплуатации, ввести программу анализа, соответствующую используемому набору, и провести анализ.

Набор совместим с системами автоматизации иммуноблоттинга «Profiblot 48» ф. «Tecan» (Швейцария), «AutoBlot 3000» ф. «MedTec» (США) и другими аналогичными.

СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности набора – 1,5 года.

Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ

Замораживание не допускается.

Введена впервые 20.04.2020г.

Хранение

Хранение наборов должно осуществляться в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности.

После вскрытия упаковок неиспользованные реагенты допускается хранить герметично закрытыми в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности.

Транспортирование

При температуре от 2 до 8 °С транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. Замораживание не допускается. Допускается транспортирование при температуре от 9 до 25 °С в течение 15 сут.

УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для учреждений здравоохранения.

ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител к индивидуальным белкам вируса иммунодефицита человека 1 и 2 типа (ВИЧ-1, ВИЧ-1 группы О, ВИЧ-2) методом иммунного блоттинга» "ИФА-Блот-ВИЧ-1,2", соответствует ТУ 21.20.23-293-70423725-2020, Национальным стандартам РФ и нормативным документам в части требований безопасности и эффективности (см. Сведения о нормативной документации).

По вопросам, касающимся качества и обращения набора реагентов "ИФА-Блот-ВИЧ-1,2", следует обращаться по адресу 142530 Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1-1а, Закрытое Акционерное Общество «ЭКОлаб» (ЗАО "ЭКОлаб"); тел. (49643) 3-23-11, факс (49643) 3-30-93 – отдел сбыта, (49643) 3-37-30 – ОБТК, ekolab-sekretar@mail.ru.

Директор ЗАО "ЭКОлаб"

по научной работе

"СОГЛАСОВАНО"

Генеральный директор

ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

« 03 » 09 2020 г.



С.Г. Марданлы

П.К. Варнавичус

КРАТКАЯ СХЕМА ПОСТАНОВКИ (ИФА-Блот-ВИЧ-1,2)

	Протокол анализа № 1 Длительность инкубаций 2 часа 15 минут	Протокол анализа № 2 Длительность инкубаций 16-20 часов
Внести	в лунки планшета по одному стрипу для каждого контрольного и исследуемого образца; в каждую лунку – по 2 мл РРС	в лунки планшета по одному стрипу для каждого контрольного и исследуемого образца; в каждую лунку – по 2 мл РРС
Инкубировать	5 мин, при 18-25 °С, на шейкере	5 мин, при 18-25 °С, на шейкере
Внести	по 20 мкл контрольных и исследуемых образцов	по 20 мкл контрольных и исследуемых образцов
Инкубировать	1 ч, при 18-25 °С, на шейкере	16-20 ч, при 18-25 °С, на шейкере
Промыть	3 раза по 2,0 мл ПР по 5 мин на шейкере	3 раза по 2,0 мл ПР по 5 мин на шейкере
Внести	в каждую лунку по 2 мл конъюгата	в каждую лунку по 2 мл конъюгата
Инкубировать	1 ч, 18-25 °С, на шейкере	30 мин, 18-25 °С, на шейкере
Промыть	3 раза по 2,0 мл ПР по 5 мин на шейкере	3 раза по 2,0 мл ПР по 5 мин на шейкере
Внести	в каждую лунку по 2 мл окрашивающего раствора	в каждую лунку по 2 мл окрашивающего раствора
Инкубировать	10 мин, 18-25 °С, на шейкере	10 мин, 18-25 °С, на шейкере
Промыть	3 раза водой очищенной по 2,0 мл	3 раза водой очищенной по 2,0 мл
Высушить стрипы между листов фильтровальной бумаги и зарегистрировать результаты проведенного исследования		

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 10 ЛИСТОВ

«03» _____ 201__ год

Ген. Директор
ООО «ВИМЧЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичус П.К.

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

10 лист 06
Ген. Директор ЗАО "ЭКОлаб"
Борисов В.Ю.
"03" _____ 2020 г.

"СОГЛАСОВАНО"

Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДИЦЕНТР»

"03" 09 2020 г.

П.К. Варнавичус



"УТВЕРЖДАЮ"

Генеральный директор
ЗАО «ЭКОлаб»

"03" 09 2020 г.

В.Ю.Борисов

2020 г.



ИЗВЕЩЕНИЕ № 1 ОБ ИЗМЕНЕНИЯХ

в ТУ 21.20.23-293-70423725-2020

НАБОР РЕАГЕНТОВ

**«ТЕСТ-СИСТЕМА ИММУНОФЕРМЕНТНАЯ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ
АНТИТЕЛ К ИНДИВИДУАЛЬНЫМ БЕЛКАМ ВИРУСА
ИММУНОДЕФИЦИТА ЧЕЛОВЕКА 1 и 2 ТИПА (ВИЧ-1, ВИЧ-1
ГРУППЫ О, ВИЧ-2) МЕТОДОМ ИММУННОГО БЛОТТИНГА»**

"ИФА-Блот-ВИЧ-1,2"

2020 г.

ЗАО "ЭКОлаб"		ОНД	ИЗВЕЩЕНИЕ № 1 ОБ ИЗМЕНЕНИЯХ		ТУ 21.20.23-293-70423725-2020	
20.04.2020 г.					Лист 2	Листов 4
ПРИЧИНА		Устранение опечаток в тексте ТУ				
Старая редакция				Новая редакция		
Лист 4				Лист 4		
... 1.2. По показателям качества набор должен соответствовать требованиям и нормам, указанным в таблице: 				... 1.2. По показателям качества набор должен соответствовать требованиям и нормам, указанным в таблице: ...		
1.9. Фотография референс-стрипа		Фотография стрипа с проявленным при помощи K ⁺ профилем антител к антигенам ВИЧ-1 (gp160, gp120, p68, p55, p52, gp41, p40, p34, p24, p18) и ВИЧ-2 (gp36, gp105) и контрольной линией.		1.9. Фотография референс-стрипа		Фотография стрипа с проявленным при помощи K ⁺ профилем антител к антигенам ВИЧ-1 (Env gp160, Env gp110/120, Pol p68/66, Gag p55, Pol p52/51, Env gp41, Gag p40, Int p34/31, Gag p24/25, Gag p18/17) и ВИЧ-2 (Env gp36 и Env gp105) и контрольной линией.
Листы 5,7				Листы 5,7		
1.3.2. В состав набора реагентов входят следующие реагенты: Иммуносорбент – полоски (стрипы) из нитроцеллюлозной мембраны (фирма «Sartorius», Германия, кат. № 11306) с сорбированными на них методом электропереноса индивидуальными белками ВИЧ-1: gp160, p110/120, p68/66, p55, p52/51, gp41, p40, p34/31, p24/25, p18/17 (после электрофоретического разделения в полиакриламидном геле нативного лизата ВИЧ-1 штамма ПИВ (фирма «Zepto Metrix», США, кат. № 0801032 или аналог); нанесенными в виде отдельных линий синтетическими пептидами ВИЧ-2: gp36 (фирма ЗАО «ЭКОлаб», Россия, кат. № 41.42 или аналог) и gp105 (фирма ЗАО «ЭКОлаб», Россия, кат. № 41.43 или аналог) и контрольной линией, которая представляет собой козьи антитела к IgG человека (фирма ЗАО «ЭКОлаб», Россия, кат. № 40.31 или аналог), комплект № 1 - 18 стрипов, комплект № 2 - 24 стрипа.				1.3.2. В состав набора реагентов входят следующие реагенты: Иммуносорбент – полоски (стрипы) из нитроцеллюлозной мембраны (фирма «Sartorius», Германия, кат. № 11306) с сорбированными на них методом электропереноса индивидуальными белками ВИЧ-1: Env gp160, Env gp110/120, Pol p68/66, Gag p55, Pol p52/51, Env gp41, Gag p40, Int p34/31, Gag p24/25, Gag p18/17 (после электрофоретического разделения в полиакриламидном геле нативного лизата ВИЧ-1 штамма ПИВ (фирма «Zepto Metrix», США, кат. № 0801032 или аналог); нанесенными в виде отдельных линий синтетическими пептидами ВИЧ-2: Env gp36 (фирма ЗАО «ЭКОлаб», Россия, кат. № 41.42 или аналог) и Env gp105 (фирма ЗАО «ЭКОлаб», Россия, кат. № 41.43 или аналог) и контрольной линией, которая представляет собой козьи антитела к IgG человека (фирма ЗАО «ЭКОлаб», Россия, кат. № 40.31 или аналог),		

ЗАО "ЭКОлаб"	ОНД	ИЗВЕЩЕНИЕ № 1 ОБ ИЗМЕНЕНИЯХ	ТУ 21.20.23-293-70423725-2020		
20.04.2020 г.				Лист 3	Листов 4
.... Фотография референс-стрипа - фотография стрипа с проявленным белковым профилем ВИЧ-1 (gp160, gp120, p68, p55, p52, gp41, p40, p34, p24, p18) и ВИЧ-2 (gp36, gp105) и контрольной линией (K_p), выполненная на фотобумаге (фирма «Lomond», Россия, кат. № 0102015 или аналог) - 1 шт. во всех комплектах.			комплект № 1 - 18 стрипов, комплект № 2 - 24 стрипа. Фотография референс-стрипа - фотография стрипа с проявленным белковым профилем ВИЧ-1 (Env gp160, Env gp110/120, Pol p68/66, Gag p55, Pol p52/51, Env gp41, Gag p40, Int p34/31, Gag p24/25, Gag p18/17) и ВИЧ-2 (Env gp36 и Env gp105) и контрольной линией (K_p), выполненная на фотобумаге (фирма «Lomond», Россия, кат. № 0102015 или аналог) - 1 шт. во всех комплектах.		
Лист 9			Лист 9		
1.5.3. На каждую пачку должна быть наклеена этикетка из бумаги этикеточной (ГОСТ 7625), или бумаги писчей (ГОСТ 18510), или термоэтикетка (ГОСТ 17586) с указанием: - даты изготовления (год, месяц); - срока годности (год, месяц); - предупреждающих символов «Биологический риск», «Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению»; 			1.5.3. На каждую пачку должна быть наклеена этикетка из бумаги этикеточной (ГОСТ 7625), или бумаги писчей (ГОСТ 18510), или термоэтикетка (ГОСТ 17586) с указанием: - даты изготовления (год, месяц, число); - срока годности (год, месяц, число); - предупреждающих символов «Биологический риск», «Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению», «Для профессионального применения»; 		
Лист 11			Лист 11		
3. Правила приемки 3.7. При положительных результатах контроля серии ОБТК оформляет на нее паспорт, в котором должны быть указаны: ... - дата изготовления (год, месяц); - срок годности (год, месяц); 			3. Правила приемки 3.7. При положительных результатах контроля серии ОБТК оформляет на нее паспорт, в котором должны быть указаны: ... - дата изготовления (год, месяц, число); - срок годности (год, месяц, число); 		

ЗАО "ЭКОлаб"	ОНД	ИЗВЕЩЕНИЕ № 1 ОБ ИЗМЕНЕНИЯХ	ТУ 21.20.23-293-70423725-2020		
20.04.2020 г.				Лист 4	Листов 4

Лист 14

Учет результатов проводят при следующих условиях:

1. Контрольные образцы дали окрашивание полос стрипов строго в соответствии с требованиями, содержащимися в таблице 2.

Контрольный образец	Полосы иммуносорбента												Контрольная линия
	Антигены ВИЧ-1										Антигены ВИЧ-2		
	Env Gp 160	Env gp 120	Pol p 68/66	G ag p 55	P ol p 52 / 51	Env gp 41	Ga g p40	Int p 34 / 31	G ag p 24 / 25	G ag p 18 / 17	Env gp 36	Env gp 105	
K-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
K ⁺	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
K ^c	+	+/-	+/-	+/ -	+/ -	+	+/-	+/-	+	+/ -	-	-	+

Примечание:

...

4. присутствие или отсутствие полосы, соответствующей антигену p18 ВИЧ-1, не является необходимым условием для оценки достоверности полученных результатов.

Лист 15

Интерпретация результатов проводится по критериям, разработанным Всемирной организацией здравоохранения (WHO), либо по критериям Консорциума по стандартизации исследования ретровирусов (CRSS):

Результат	Критерии WHO	Критерии CRSS
Положительный	2 ENV (Env 160	1 ENV (Env 160

Лист 14

Учет результатов проводят при следующих условиях:

1. Контрольные образцы дали окрашивание полос стрипов строго в соответствии с требованиями, содержащимися в таблице 2.

Конт роль ный образ ец	Полосы иммуносорбента												Контроль ная линия Кр
	Антигены ВИЧ-1										Антигены ВИЧ-2		
	Env Gp 160	Env gp 110 / 120	Pol p 68/ 66	G ag p 55	P ol 52 / 51	En v gp 41	Gag p40	Int p 34 / 31	G ag p 24 / 25	G ag p 18 / 17	Env gp 36	Env gp 105	
K-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
K ⁺	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
K ^с	+	+/-	+/-	+	+	+	+/-	+	+	+	-	-	+

Примечание:

...

4. присутствие или отсутствие полосы, соответствующей антигену антигену Gag p18/17 ВИЧ-1, не является необходимым условием для оценки достоверности полученных результатов.

Лист 15

Интерпретация результатов проводится по критериям, разработанным Всемирной организацией здравоохранения (WHO), либо по критериям Консорциума по стандартизации исследования ретровирусов (CRSS):

Результат	Критерии WHO	Критерии CRSS
Положительный	2 ENV (Env gp160	1 ENV (Env gp160

ЗАО "ЭКОлаб"		ОНД	ИЗВЕЩЕНИЕ № 1 ОБ ИЗМЕНЕНИЯХ		ТУ 21.20.23-293-70423725-2020	
20.04.2020 г.						Лист 5
						Листов 4
ВИЧ-1	и/или Env 120 и/или Env 41) ± GAG ± POL	и/или Env 120 и/или Env 41) + (1 GAG или 1 POL)	ВИЧ-1	и/или Env gp110/120 и/или Env gp41) ± GAG ± POL	и/или Env gp110/120 и/или Env gp41) + (1 GAG или 1 POL)	
Положительный ВИЧ-2	2 ENV (Env 36 и Env 105) ± GAG ± POL	1 ENV (Env 36 или Env 105) ± GAG ± POL	Положительный ВИЧ-2	2 ENV (Env gp36 и Env gp105) ± GAG ± POL	1 ENV (Env gp36 и Env gp105) ± GAG ± POL	
Неопределенный	1 ENV + GAG + POL GAG + POL GAG POL	GAG + POL или GAG или POL	Неопределенный	1 ENV + GAG + POL GAG + POL GAG POL	GAG + POL или GAG или POL	
Отрицательный	Отсутствие полос. Полосы, не соответствующие белкам ВИЧ-1 и ВИЧ-2.	Отсутствие полос. Полосы, не соответствующие белкам ВИЧ-1 и ВИЧ-2.	Отрицательный	Отсутствие полос. Полосы, не соответствующие белкам ВИЧ-1 и ВИЧ-2.	Отсутствие полос. Полосы, не соответствующие белкам ВИЧ-1 и ВИЧ-2.	

Изменения внести заменой документа.

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 5 ЛИСТОВ

03 09 2020 год

Ген. Директор
ООО «ВЕРМІПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Барнавичус І.К.



Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

5 лист 06
Ген. Директор ЗАО "ЭКОЛАБ"
Борисов В.Ю.
03 09 2020 г.



ЗАО "ЭКОлаб"		
Производственная инструкция		
Регламент производства ИФТС "ИФА-БЛОТ-ВИЧ-1,2" № 293-2019		
Стадия ТП-6. Приготовление контрольного положительного образца (К ⁺)		
Дата введения: 09.01.2020	СОП-ПО-11-346	Стр. 1 из 7
Версия № 1. Введено впервые	Действительно до:	Копия № 1

1. Назначение

В соответствии с СОП-АД-01-31 настоящая инструкция определяет порядок выполнения стадии ТП-6. Приготовление контрольного положительного образца (К⁺) для ИФТС "ИФА-БЛОТ-ВИЧ-1,2".

Продукт, получаемый по завершении стадии, – контрольный положительный образец – жидкая сыворотка крови человека, содержащая антитела к ВИЧ-1 и ВИЧ-2 в высокой концентрации (титр не менее 1:10000), инактивированная прогреванием в течение 2 ч при 56 °С, содержащая консервант (азид натрия) в конечной концентрации 0,1 %; реагент должен быть расфасован, укупорен и маркирован в соответствии с требованиями ТУ 21.20.23-293-70423725-2020.

2. Персонал

Требования настоящей инструкции распространяются на весь персонал, занятый выполнением указанной работы.

3. Технологическая схема стадии

ТП-6. Приготовление контрольного положительного образца	
ТП-6-1. Инактивация сырья	
ТП-6-2. Центрифугирование и фильтрация	
ТП-6-3. Добавление консерванта	
ТП-6-4. Исследование сырья в ИФА и ИБ	
ТП-6-5. Приготовление К ⁺	
ТП-6-6. Контроль К ⁺ в ИБ	
ТП-6-7. Розлив К ⁺ , укупорка, маркировка	
ТП-6-8. Хранение до комплектации набора	
ВР-6-9. Обработка отходов	

4. Спецификация оборудования

№ позиции	Наименование	Количество	Марка, фирма-изготовитель (для импортного – страна)	Техническая характеристика
Т-1	Морозильник	*	Любой марки, обеспечивающий заданный температурный режим	Температура камеры не выше минус 20 °С
ПС-2	Колба плоскодонная	*	ГОСТ 23932-90	Вместимость ** Стекло светлое
Т-3	Термостат (водяная баня)	*	Любой марки, обеспечивающей заданный температурный режим	Температура прогрева 55-57 °С
Т-2	Холодильник (холодильная камера)	*	Любой марки, обеспечивающей заданный температурный режим	Температура в камере 2-8 °С
Ф-6	Центрифуга с охлаждением	1	4K15; «SIGMA labor-zentrifugen», Германия	Максимальная вместимость: 4x500 мл

Составил (изменил)	Согласовал	Утвердил
Долж. Микробиолог ОПР	Долж. Начальник ООК	Долж.: Начальник ОПР
Подпись: <i>Сорокин</i>	ФИО Овинникова С.С.	ФИО: Амелина Е.А.
Дата: 09.01.2020	Подпись: <i>Сору</i>	Подпись: <i>Есеп</i>
	Дата: 09.01.2020	Дата: 09.01.2020

ЗАО "ЭКОлаб"		
Производственная инструкция		
Регламент производства ИФТС "ИФА-БЛОТ-ВИЧ-1,2" № 293-2019		
Стадия ТП-6. Приготовление контрольного положительного образца (К ⁺)		
Дата введения: 09.01.2020	СОП-ПО-11-346	Стр. 2 из 7
Версия № 1. Введено впервые	Действительно до:	Копия № 1

				Скорость вращения: от 100 до 15000 об/мин Диапазон температу- ры: от -20 до +40 °С
ПС-1	Цилиндр мерный 1-го класса точности	*	ГОСТ 1170-74	Вместимость ** Стекло: светлое
В-2	Весы лабораторные настольные	1	Любой марки, обеспе- чивающей заданную точность взвешивания	Заданная точность взвешивания $\pm 0,1$ г
М-5	Магнитная мешалка	5	MR 3000; «Heidolph», Германия	Диапазон регулиро- вания скорости: от 0 до 1250 об/мин Максимальный объём перемешивания: 20 л
В-3	Вортекс (встряхиватель)	1	V-3 ф. «ELMI», Лат- вия	Диапазон регулиро- вания оборотов: 50 – 3400 об/мин.
П-7	Воронка	*	ГОСТ 23932-90	Диаметр: **
ПС-4	Бутыль для приготовления растворов	*	ГОСТ 23932-90	Вместимость ** Стекло светлое
А-2	Оборудование для ИБ	1	См. ИП набора	
КХ-1	Контейнер для хранения флаконов (пакетов) с реа- гентами			Объём: 60 – 80 л

Примечания:

1. "*" в графе "Количество" означает число единиц оборудования, определяемое объ-
емом работы.
2. "Вместимость **" - определяется объемом производственного задания.

5. Сырье и материалы

№ п/п	Наименование	Спецификация*	Квалификация** (при необходи- мости)
Основное сырье и материалы (позиции, входящие в состав продукта стадии/операции)			
1.	Сыворотка (плазма) крови, не со- держащая антигены ВИЧ и антитела к ВИЧ-1,2	СПК, Россия	
2.	Сыворотка (плазма) крови человека, содержащая антитела к ВИЧ-1 и не содержащая антигены ВИЧ, HBsAg и антитела к ВГС и Treponema pallidum	СПК, Россия	-
3.	Сыворотка (плазма) крови, содер- жащая антитела к ВИЧ-2	«Biotex», Германия	

ЗАО "ЭКОлаб"		
Производственная инструкция		
Регламент производства ИФТС "ИФА-БЛОТ-ВИЧ-1,2" № 293-2019		
Стадия ТП-6. Приготовление контрольного положительного образца (K ⁺)		
Дата введения: 09.01.2020	СОП-ПО-11-346	Стр. 3 из 7
Версия № 1. Введено впервые	Действительно до:	Копия № 1

4.	Натрия азид	«Panreac», Испания, кат. № 162712	
5.	Микропробирки из прозрачного пластика с завинчивающимися крышками красного цвета	«Sarstedt», Германия, кат. № 72.694	Вместимость 2 мл
6.	Термоэтикетки	ЗАО НТЦ АТ «Форинтек», Россия	
Вспомогательное сырье и материалы (позиции, обеспечивающие производство продукта стадии/операции)			
7.	ИФТС «АГАТ-ВИЧ-1,2» ф. ЗАО «ЭКОлаб»	ТУ 9398-080-70423725-2015	
8.	ИФТС «ИФА-Блот-ВИЧ-1,2»	ТУ 21.20.23-293-70423725-2020	
9.	Марля медицинская	ГОСТ 5556-81	
10.	Фильтровальная бумага	ЗАО «База №1 Химреактивов», Россия	
11.	Вата медицинская	ГОСТ 5556-81	
12.	Спирт этиловый ректификованный	ГОСТ 5962-2013	
13.	Перекись водорода	ГОСТ 177-77	хч

Примечания

* Для отечественных материалов – ГОСТ; ТУ или наименование фирмы-производителя с указанием каталожного номера; для импортных материалов – наименование фирмы-производителя, страна, каталожный номер. При возможности использования позиции любой спецификации ставится "-".

** Сорт, артикул, чистота (ч, хч и т.п.)

6. Процедура

6.1. Подготовка к работе

Подготовить к работе помещения, оборудование и персонал в соответствии с требованиями СОП-ВП-11-01 и СОП-ВП-11-07.

Ответственному за проведение работ получить у своего непосредственного руководителя производственное задание и проверить готовность к работе помещений, оборудования и персонала. О замеченных недостатках сообщить непосредственному руководителю и принять меры к их устранению.

6.2. Ход технологического процесса

6.2.1. (ТП-6-1) Инактивация сырья

Сырьем для приготовления K⁺ служат предварительно отобранные сыворотки или плазма крови человека, содержащие антитела к ВИЧ-1 и не содержащие антигены ВИЧ, HBsAg и антитела к ВГС и *Treponema pallidum*; а также сыворотка или плазма крови человека, содержащая антитела к ВИЧ-2 и не содержащие антигены ВИЧ, HBsAg и антитела к ВГС и *Treponema pallidum*. До использования сырье может храниться при минус 20 °С (поз. Т-1).

Замороженное сырье разморозить при комнатной температуре, слить в стеклянную колбу (поз. ПС-2) необходимой вместимости. Поместить колбу в водяную баню (поз. Т-3) так, чтобы уровень воды превышал уровень сыворотки (плазмы) в колбе. Нагреть водяную баню до 56 °С. Прогреть сырье на водяной бане при температуре 56 °С в течение 120 мин. При этом

ЗАО "ЭКОлаб"		
Производственная инструкция		
Регламент производства ИФТС "ИФА-БЛОТ-ВИЧ-1,2" № 293-2019		
Стадия ТП-6. Приготовление контрольного положительного образца (К ⁺)		
Дата введения: 09.01.2020	СОП-ПО-11-346	Стр. 4 из 7
Версия № 1. Введено впервые	Действительно до:	Копия № 1

происходит инактивация сырья, сворачивание фибриногена и выпадение его в осадок (если в качестве исходного сырья используется плазма, то она становится сывороткой). Прогретое сырье охладить до комнатной температуры. Хранить до центрифугирования при 2-8 °С (поз. Т-2) не более 10 суток.

Сделать записи в маршрутной карте.

6.2.2. (ТП-6-2) Центрифугирование и фильтрация

Сырье разлить по центрифужным стаканам (поз. Ф-6) и центрифугировать со скоростью 8000 об/мин при температуре 8-10°С в течение 60 мин. Собрать супернатант (сыворотку) в колбу или бутылку для приготовления растворов (поз. ПС-2 или ПС-4), фильтруя через ватно-марлевый фильтр, измерить объем супернатанта (поз. ПС-1).

Сделать записи в маршрутной карте.

6.2.3. (ТП-6-3) Добавление консерванта

Исходя из полученного объема супернатанта, рассчитать необходимое количество азида натрия, для получения его конечной концентрации 0,1 % (0,1 г азида натрия на 100 мл сыворотки). Приготовить навеску (поз. В-2) азида натрия, внести ее в емкость с супернатантом, перемешать (поз. М-5) 15 мин.

Емкость с сывороткой, содержащей консервант, промаркировать в соответствии с требованиями СОП-АД-01-29.

Хранить до использования при 2-8 °С (поз. Т-2) не более 6 мес.

Сделать записи в маршрутной карте.

6.2.4. (ТП-6-4) Исследование сырья в ИФА и ИБ

Все обработанные сыворотки, содержащие консервант, проконтролировать в ИФА и ИБ с использованием ИФТС «АГАТ-ВИЧ-1,2» и «ИФА-Блот-ВИЧ-1,2» в соответствии с инструкциями по их применению.

Сыворотки, содержащие специфические антитела к ВИЧ-1, должны соответствовать следующим показателям: в ИФТС «АГАТ-ВИЧ-1,2» иметь ОП>3,0; в ИФТС «ИФА-Блот-ВИЧ-1,2», показать реагирование со всеми антигенами, специфичными ВИЧ-1.

Дополнительно проводят исследование сывороток, содержащих специфические антитела к ВИЧ-1, в разведении 1:10000. Для этого готовят разведение 1:100 каждой конкретной сыворотки в растворе для разведения сывороток (PPC), для чего в микропробирку вносят 1 мкл сыворотки и 100 мкл PPC и тщательно перемешивают на вортексе (поз. В-3). Приготовленное разведение исследуют в ИФТС «ИФА-Блот-ВИЧ-1,2» (с учетом дополнительного разведения исследуемого образца в PPC 1:100 согласно инструкции по применению конечное разведение сыворотки в лунке составит 1:10000).

Сыворотку считают пригодной, если ее конечное разведение в PPC 1:10000 показывает реагирование со всеми антигенами иммуносорбента, специфичными ВИЧ-1.

Сыворотки, содержащие специфические антитела к ВИЧ-2, должны соответствовать следующим показателям: в ИФТС «АГАТ-ВИЧ-1,2» иметь ОП>3,0; в ИФТС «ИФА-Блот-ВИЧ-1,2» - показать реагирование с антигенными линиями gp36 ВИЧ-2 и gp105 ВИЧ-2.

Дополнительно проводят исследование сывороток, содержащих специфические антитела к ВИЧ-2, в разведении 1:10000, как описано выше.

Сыворотку считают пригодной, если ее конечное разведение в PPC 1:10000 показывает реагирование со всеми антигенами иммуносорбента, специфичными ВИЧ-2.

Для каждой конкретной сыворотки, содержащей специфические антитела к ВИЧ-2, опытным путем подбирается оптимальное разведение в сыворотке, содержащей специфические антитела к ВИЧ-1. Для этого готовят последовательные двукратные разведения, начиная

ЗАО "ЭКОлаб"		
Производственная инструкция		
Регламент производства ИФТС "ИФА-БЛОТ-ВИЧ-1,2" № 293-2019		
Стадия ТП-6. Приготовление контрольного положительного образца (K ⁺)		
Дата введения: 09.01.2020	СОП-ПО-11-346	Стр. 5 из 7
Версия № 1. Введено впервые	Действительно до:	Копия № 1

с 1:100 (10 мкл сыворотки, содержащей специфические антитела к ВИЧ-2, + 9 мкл сыворотки, содержащей специфические антитела к ВИЧ-1) до 1:1000. Приготовленные разведения исследуют в ИФТС «ИФА-Блот-ВИЧ-1,2». Оптимальным считают разведение, которое дает реагирование с антигенными линиями gr36 ВИЧ-2 и gr105 ВИЧ-2.

Занести данные в маршрутную карту.

На ёмкости с сыворотками наклеить этикетки в соответствии с СОП-АД-01-29.

Сыворотки хранить при температуре 2- 8 °С в течение 3 месяцев.

6.2.5. (ТП-6-5) Приготовление K⁺

K⁺ готовить путем добавления в пул сывороток, содержащих специфические антитела к ВИЧ-1, сыворотки, содержащей специфические антитела к ВИЧ-2, в разведении, подобранном опытным путем (п. 6.2.4).

Исходя из производственного задания, рассчитать объемы сыворотки, содержащей специфические антитела к ВИЧ-1, и сыворотки, содержащей специфические антитела к ВИЧ-2, необходимые для приготовления заданного объема реагента.

Рассчитанные объемы с помощью мерного цилиндра (поз. ПС-1) внести в колбу или бутылку для приготовления растворов (поз. ПС-2 или ПС-4), перемешать на магнитной мешалке (поз. М-5) в течение 30 мин.

Емкость с K⁺ промаркировать в соответствии с требованиями СОП-АД-01-29. До розлива хранить при 2-8 °С (поз. Т-2) не более 3 мес.

Сделать записи в маршрутной карте.

6.2.6. (ТП-6-6) Контроль K⁺ в ИБ

Новую серию K⁺ испытать в ИБ (поз. А-2) с референс-серией ИФТС "ИФА-Блот-ВИЧ-1,2" в соответствии с инструкцией по применению набора при параллельном использовании контролируемого реагента и реагента референс-серии.

Новую серию реагента считать пригодной для использования при полном соответствии результатов ИБ в обеих постановках.

Сделать записи в маршрутной карте.

6.2.7. (ТП-6-7) Розлив K⁺, укупорка, маркировка

Провести розлив K⁺ по микропробиркам, укупорку и маркировку микропробирок в соответствии с требованиями СОП-ПО-11-76 и ТУ на набор.

Микропробирки с K⁺ сложить в маркированные контейнеры (поз. КХ-1) и передать на хранение до комплектации тест-системы.

Сделать записи в маршрутной карте.

6.2.8. (ТП-6-8) Хранение до комплектации набора

До использования при комплектации хранить при температуре 2-8 °С (поз. Т-2) не более 1 мес.

Сделать записи в маршрутной карте

6.3. Завершение работы

6.3.1. По завершении операций (ТП6-1) - (ТП-6-8) выполнить текущую уборку производственных помещений в соответствии с требованиями СОП-ТБ-11-09, СОП-ПО-15-14 и обслуживание использованного оборудования в соответствии с требованиями инструкций по его эксплуатации.

6.3.2. (ВР-6-9) Обработка отходов

Плотные и жидкие отходы собирать и обрабатывать в соответствии с требованиями СОП-ТБ-11-09, СОП-ПО-15-14.

ЗАО "ЭКОлаб"		
Производственная инструкция		
Регламент производства ИФТС "ИФА-БЛОТ-ВИЧ-1,2" № 293-2019		
Стадия ТП-6. Приготовление контрольного положительного образца (К ⁺)		
Дата введения: 09.01.2020	СОП-ПО-11-346	Стр. 6 из 7
Версия № 1. Введено впервые	Действительно до:	Копия № 1

7. Документация

Документирование процесса «Порядок приготовления контрольного положительного образца (К⁺)» для ИФТС «ИФА-Блот-ВИЧ-1,2» осуществляется в Маршрутной карте ЗФ01-ПО-11-346 Форма дана в приложении № 1 к настоящей инструкции. Заполненные маршрутные карты приобщить к "Досье на продукцию" в соответствии с требованиями СОП-АД-01-14.

8. Ответственность

Персонал, занятый на работах, описанных в настоящей инструкции, несет ответственность за выполнение ее требований в соответствии с действующими правилами.

9. Ссылки

СОП-ВП-11-01 «Правила подготовки производственных помещений».

СОП-ВП-11-07 «Правила подготовки персонала для работы в производственных помещениях».

СОП-ВП-11-09 «Приготовление дезинфицирующих растворов для производства ИФТС».

СОП-ТБ-19-16 «Инструкция по охране труда при работе с патогенными биологическими агентами III-IV групп».

СОП-ТБ-19-09 «Инструкция по охране труда при работе с производственными и бытовыми отходами».

СОП-ТБ-19-06 «Инструкция по оказанию первой доврачебной помощи при несчастных случаях».

СОП-ВП-14-08 «Инструкция по подготовке посуды, укупорочных материалов и емкостного оборудования».

СОП-ТБ-11-09 «Инструкция по охране труда при работе с опасными отходами производства, зараженными или подозрительными на зараженность возбудителями инфекционных заболеваний».

СОП-АД-01-14 «Порядок формирования досье на серию готовой продукции».

СОП-ПО-15-14 «Порядок работы с потенциально инфицированным материалом».

СОП-ВП-11-05 «Приготовление воды очищенной».

СОП-ИО-03-01 «Действия персонала при отключении электроэнергии».

СОП-ИО-03-02 «Действия персонала при отключении водоснабжения».

СОП-АД-01-04 «Порядок составления и оформления инструкций».

СОП-АД-01-03 «Порядок разработки, согласования, утверждения, внесения изменений, распределения и хранения документов на предприятии».

ПОЛ-КО-02-01 «Положение о входном контроле для ДП».

СОП-ПО-11-119 «Порядок идентификации и прослеживаемости при производстве и хранении продукции в отделениях ИФТС».

СОП-АД-01-11 «Работа с сырьем и материалами, не отвечающими требованиям нормативной документации».

СОП-АД-01-29 «Применение идентификационных и статусных этикеток на предприятии».

По эксплуатации оборудования:

СОП-ИО-11-27 «Инструкция по эксплуатации лабораторных весов».

СОП-ИО-11-08 «Инструкция по эксплуатации холодильников».

СОП-ИО-11-13 «Инструкция по эксплуатации насоса перистальтического».

ЗАО "ЭКОлаб"		
Производственная инструкция		
Регламент производства ИФТС "ИФА-БЛОТ-ВИЧ-1,2" № 293-2019		
Стадия ТП-6. Приготовление контрольного положительного образца (К ⁺)		
Дата введения: 09.01.2020	СОП-ПО-11-346	Стр. 7 из 7
Версия № 1. Введено впервые	Действительно до:	Копия № 1

СОП-ИО-11-14 «Порядок эксплуатации шейкера S-4».

СОП-ИО-11-22 «Инструкция по эксплуатации магнитных мешалок».

СОП-ИО-11-23 «Порядок эксплуатации дозаторов пипеточных».

Нормативная документация: ТУ и ИП ИФТС «ИФА-Блот-ВИЧ-1,2».

10. Распределение данной инструкции

Оригинал

ООК

Копия 1

НПО «ВИЧ, Блот»

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

лист об
Ген. Директор ЗАО "ЭКОлаб"
Борисов В.Ю.
"16" 17 2020 г.





ИНСТРУКЦИЯ
по применению Набора реагентов
для выявления антител к индивидуальным
белкам вируса иммунодефицита человека
типа 1 (ВИЧ-1) и типа 2 (ВИЧ-2)
методом иммунного блота в сыворотке или
плазме крови человека
(МПБА-Блот-ВИЧ-1, ВИЧ-2)

109147, г. Москва,
улица Марксистская, д.3, стр.2
Телефон: +7(495)604-13-44
Факс: +7(495)604-13-44
e-mail: evgenia.ermakova@mpbio.com

СОДЕРЖАНИЕ

1. Назначение	3
2. Характеристика набора	3
2.1. Принцип метода	3
2.2. Состав набора	3
3. Аналитические и диагностические характеристики	4
4. Меры предосторожности	5
4.1. Потенциальный риск применения набора - класс 3.	5
5. Оборудование и материалы	5
6. Анализируемые образцы	6
7. Подготовка к анализу	6
8. Проведение анализа	7
9. Регистрация результатов	10
10. Учет результатов реакции	10
11. Условия хранения и эксплуатации набора	12

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор «МПБА-Блот-ВИЧ-1, ВИЧ-2» предназначен для подтверждения выявления антител к индивидуальным белкам (антигенам) ВИЧ-1 и/или ВИЧ-1 гр.0, и/или ВИЧ-2 в сыворотке или плазме крови человека методом иммунного блота.

Набор рассчитан на проведение 18 исследований, включая анализ 15 неизвестных образцов, 2 положительных контрольных образцов и 1 отрицательного контрольного образца.

Набор предназначен только для диагностики in vitro.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. ПРИНЦИП МЕТОДА

На нитроцеллюлозных стрипах в зависимости от молекулярного веса, сорбированы белки ВИЧ-1, которые получены из инактивированного лизата вируса, и синтетический пептид ВИЧ-2. На каждый стрип нанесен дополнительный внутренний контроль - анти IgG человека, который служит доказательством контакта исследуемой сыворотки (плазмы) крови человека со стрипом и правильного соблюдения этапов процедуры анализа.

Каждый нитроцеллюлозный стрип инкубируется с разведенной исследуемой сывороткой или плазмой крови человека, или с контрольными образцами, входящими в состав набора. Антитела, специфические к белкам (антигенам) ВИЧ-1 или к белку ВИЧ-2, если они присутствуют в анализируемом образце крови, будут связываться с определенной областью на стрипе, соответствующей этим антигенам.

Антитела, специфически связавшиеся с антигенами ВИЧ, нанесенными на стрип, проявляются после взаимодействия с конъюгатом и затем - с субстратом (окрашивающим раствором), после чего на стрипе появляются окрашенные с различной интенсивностью полосы.

2.2. СОСТАВ НАБОРА

В состав набора реактивов входят:

- нитроцеллюлозные стрипы с сорбированными на них индивидуальными белками ВИЧ-1 (gp160, gp120, p66, p55, p51, gp41, p31,

p24, p17) и нанесенным синтетическим пептидом ВИЧ-2, аналогом белка gp36, и анти-IgG человека (внутренний контроль) - 18 шт.

- К- (контрольная отрицательная сыворотка) - сыворотка крови человека, не содержащая антитела к ВИЧ-1, 2, ВГС, антиген ВИЧ, HBsAg. - 1 пробирка (0,08 мл).

- К+с1 (контрольная слабоположительная сыворотка) - сыворотка крови человека, содержащая антитела к ВИЧ-1 (титр не менее 1:1000), не содержащая HBsAg, антиген ВИЧ, антитела к ВГС. - 1 пробирка (0,08 мл).

- К+ (контрольная положительная сыворотка) - сыворотка крови человека, содержащая антитела к ВИЧ-1, 2 (титр не менее 1:10000), не содержащая HBsAg, антиген ВИЧ, антитела к ВГС. - 1 пробирка (0,08 мл).

- конъюгат (козьи антитела к IgG человека, конъюгированные со щелочной фосфатазой) содержащий натрия азид - 1 пробирка (0,06 мл).

- субстрат (окрашивающий раствор) - раствор 5-бром-4-фтороиндолил-фосфата (BCIP) и нитросинего тетразолия (NBT). - 1 флакон (50 мл).

- (ПР) (x20) - промыочный раствор, концентрат x20, содержащий тимороксил - 1 флакон (70 мл).

- (ПРОК) (x10) - буфер для разведения образцов и конъюгата, концентрат x10 - 1 флакон (10 мл).

- порошок для иммунного биотинизма (обожженное сухое молоко) - 5 упаковок (по 1,0 г).

- планшет с крышкой для постановки реакции - 2 шт.

- планшет пластмассовый - 1 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

При использовании в качестве исследуемого образца К+ (контрольная положительная сыворотка) на стрипе должны быть видны полосы, соответствующие расположению белков: p17, p24, p31, gp41, p51, p55, p66, gp120/gp160 и полоса внутреннего контроля.

При использовании в качестве исследуемого образца К+с1 (контрольная слабоположительная сыворотка) на стрипе должны быть видны полосы соответствующие расположению белков: p24и/или gp41и gp120/gp160 и полоса внутреннего контроля.

При использовании в качестве исследуемого образца К- (контрольная

4

отрицательная сыворотка) на стрипе должна быть видна только полоса внутреннего контроля.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ РИСК ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА - КЛАСС 3.

4.2. Входящие в состав набора контрольные образцы инактивированы, однако исследуемые образцы сыворотки и плазмы крови людей, а также сточные растворы, оборудование и материалы, находящиеся в контакте с ними, представляют собой потенциально инфицированный материал, поэтому при работе следует использовать резиновые или пластиковые одноразовые перчатки, а для дозирования жидкостей - одноразовые пластиковые наконечники.

4.3. Оборудование, находившееся в контакте с биологическими образцами и реагентами, следует дезинфицировать до и после работы с использованием дезинфицирующих растворов и 70% этилового спирта.

5.4. Все сточные растворы, а также использованный загрязненный материал следует обрабатывать дезинфицирующим средством, например, 6% раствором перекиси водорода в течение 4 ч.

4.5. При работе с набором следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР», (Москва, 1981г.)

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

1. Центрифуга 3000 об/мин
2. Качающаяся платформа (встряхиватель)
3. Дозаторы (шпатели) для внесения жидкостей с переменным объемом: от 10 мкл до 100 мкл, от 100 мкл до 1,0 мл и 1,0 мл до 5,0 мл
4. Мерный стакан или цилиндр емкостью от 50 до 1000 мл, ванночки для реагентов
5. Резиновые перчатки
6. Контейнеры для сброса зараженных твердых отходов и слива

5

зараженных жидкостей

7. Дистиллированная или деионизированная вода

8. Спирт этиловый

9. Фильтровальная бумага

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Негемогенизированная сыворотка или плазма крови человека.

Образцы крови можно хранить при температуре 2-8°C не более 72 ч или в замороженном виде при температуре минус 18-20°C не более 3 месяцев. Повторное замораживание не допускается.

ВНИМАНИЕ! Каждый образец сыворотки или плазмы крови необходимо отбирать новым накопчиком!

7. ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Перед использованием комплектa набора и анализируемые образцы крови следует выдержать при комнатной температуре (18-25°C) в течение 30 мин.

7.1. Приготовление рабочего промывочного раствора (ПР)

К 1,0 мл концентрата ПР добавить 19,0 мл дистиллированной воды и тщательно перемешать. Приготовленный рабочий ПР стабилен при температуре 2-8°C не более 15 дней.

7.2. Приготовление рабочего раствора для разведения образцов и конъюгата (РРОК).

К 2,0 мл концентрата РРОК добавить 18,0 мл дистиллированной воды и тщательно перемешать.

7.3. Приготовление буфера для блоттинга.

К 1,0 г порошка для блоттинга добавить 20,0 мл рабочего раствора РРОК и тщательно перемешать. Приготовленный раствор стабилен при температуре 2-8°C в течение 24 ч.

7.4. Приготовление рабочего раствора конъюгата.

Внести 1 объем конъюгата и 1000 объемов буфера для блоттинга (п. 7.3.). Например: 10 мкл конъюгата внести в 10 мл буфера для блоттинга. Рабочий раствор конъюгата готовят непосредственно перед использованием. Не хранить.

7.5. Рабочий раствор субстрата (окрашивающего раствора) готов к использованию. Раствор отбирать только новым накопчиком, после чего флакон хорошо закрыть.

8. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Объемы реагентов, необходимые для постановки иммунного блоттинга в зависимости от используемого количества стрипов указаны в Таблице 1.

8.1. Вариант № 1 - длительность анализа 16-20 ч.

8.1.1. С помощью пинцета осторожно поместить необходимое количество стрипов в ячейки планшета стороной с номером вверх.

8.1.2. В каждую ячейку добавить по 2 мл рабочего промывочного раствора (п. 7.1)

8.1.3. Инкубировать стрипы в течение 5 мин при комнатной температуре на встряхивателе (12-16 качаний в мин), после чего полностью удалить рабочий ПР, используя для этого полуавтоматическую пипетку или вакуумный насос.

8.1.4. В каждую ячейку добавить по 2,0 мл буфера для блоттинга (п. 7.3).

8.1.5. В соответствующие ячейки добавить по 20 мкл анализируемых образцов сыворотки (плазмы) крови или контрольных образцов, исключая попадание на стрипы, и сразу аккуратно переменить.

ВНИМАНИЕ! В каждое тестирование обязательно включать контрольные сыворотки.

8.1.6. Закрывать планшет крышкой и инкубировать его в течение ночи (16-20 ч) при комнатной температуре на встряхивателе.

8.1.7. Осторожно снять крышку, избегая перемешивания образцов. Удалить раствор из инкубационных ячеек. Обязательно проводить смену накопчика при переходе от одной ячейки к другой для предотвращения контаминации.

8.1.8. Каждый стрип отмыть 3 раза добавляя в каждую ячейку по 2,0 мл рабочего промывочного раствора (п. 7.1), каждый раз инкубировать по 5 мин при комнатной температуре на встряхивателе.

8.1.9. В каждую ячейку добавить по 2,0 мл рабочего раствора конъюгата (п. 7.4). Планшет закрыть крышкой и инкубировать в течение 30 мин при комнатной температуре на встряхивателе.

8.1.10. После окончания инкубации удалить раствор из ячеек. Провести одинако отмычки так, как это указано в п. 8.1.8.

8.1.11. В каждую ячейку добавить по 2,0 мл рабочего раствора субстрата (п. 7.5). Планшет закрыть крышкой и инкубировать в течение 15 мин при комнатной температуре на встряхивателе.

8.1.12. После окончания инкубации удалить раствор из ячеек.

Промыть каждый стрип не менее трех раз в 2,0 мл дистиллированной водой для остановки реакции (на этом этапе результатом недостаточной промывки может явиться появление темного фона на стрипах).

8.1.13. Используя пинцет, осторожно извлечь из ячеек стрипы и разместить их на листе фильтровальной бумаги. Накрыть другим листом фильтровальной бумаги и высушить.

Поместить стрипы на белую бумагу (не использовать фильтровальную бумагу) и провести анализ полученных результатов. Последующее хранение стрипов должно осуществляться в темноте.

8.2. Вариант №2 – длительность анализа 2,5-3 ч.

8.2.1. С помощью пинцета осторожно поместить необходимое количество стрипов в ячейки планшета, стороной с номером вверх.

8.2.2. В каждую ячейку добавить по 2 мл рабочего промывочного раствора (п. 7.1).

8.2.3. Инкубировать стрипы 5 мин при комнатной температуре на встряхивателе (12-16 качаний в мин). Удалить промывочный рабочий раствор, полностью осушая содержимое каждой ячейки, используя для этого автоматическую пипетку или вакуумный насос.

8.2.4. В каждую ячейку добавлять по 2 мл буфера для блоттинга (п. 7.3).

8.2.5. В соответствующие ячейки добавлять по 20 мкл исследуемой сыворотки (плазмы) крови человека или контрольных образцов, исключая попадание на стрипы, и сразу аккуратно перемешать.

В каждое тестирование обязательно включать контроли (положительный, слабopоложительный и отрицательный).

8.2.6. Закрывать планшет крышкой и инкубировать его в течение 1 ч при комнатной температуре на встряхивателе.

8.2.7. Осторожно снять крышку, избегая перемешивания образцов. Удалить раствор из инкубационных ячеек. Обязательно проводить смену наконечника при переходе от одной ячейки к другой для предотвращения контаминации.

8.2.8. Каждый стрип промыть 3 раза, используя по 2 мл рабочего промывочного раствора (п. 7.1) с инкубациями между промывками в течение 5 мин на встряхивателе.

8.2.9. В каждую ячейку добавить по 2 мл рабочего раствора конъюгата (п. 7.4). Планшет закрыть крышкой и инкубировать в течение 1 ч при комнатной температуре на встряхивателе.

8.2.10. После окончания инкубации, удалить раствор из ячеек. Провести стадию отмывки, аналогично п. 8.2.8.

8.2.11. В каждую ячейку добавить по 2 мл субстрата (п. 7.5). Планшет закрыть крышкой и инкубировать в течение 15 мин при комнатной температуре на встряхивателе.

8.2.12. После окончания инкубации, удалить раствор из ячеек. Промыть каждый стрип три раза в 2 мл дистиллированной водой для остановки реакции (на этом этапе результатом недостаточной промывки может явиться появление темного фона на стрипе).

8.2.13. Используя пинцет, осторожно извлечь из ячеек и разместить стрипы на фильтровальной бумаге. Накрыть сверху другим листом фильтровальной бумаги и высушить.

Поместить стрипы на белую бумагу (не использовать фильтровальную бумагу) и провести анализ полученных результатов. Хранить стрипы в темноте.

Таблица 1

Объемы реагентов, необходимые для постановки иммунного блоттинга в зависимости от используемого количества стрипов.

Реагенты	Количество используемых стрипов		
	4	9	18
Рабочий раствор ПР, мл	60	140	280
Буфер для блоттинга, мл	20	40	80
Конъюгат, мкл	10	20	40
Субстрат, мл	10	20	40
Порошок для блоттинга, уп.	1	2	4

Объективные результаты анализа гарантируются при выполнении следующих условий:

- хранение всех реагентов набора осуществлять при температуре от 2 до 8 °С в герметично укулованном виде;
- не использовать реагенты с истекшим сроком годности;
- не использовать реагенты из наборов разных серий;
- не использовать реагенты набора при отсутствии на их упаковке соответствующей маркировки;
- использовать реагенты, входящие только в данный комплект.

9. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Регистрация результатов проводится визуально.

Необходимо включать К-, К+, К-сд в каждое исследование не зависимо от количества тестируемых образцов.

Для того чтобы полученные результаты можно было считать достоверными, необходимо выполнение ряда условий:

1. К-: на стрипе с отрицательным контролем не должно быть окрашенных полос, кроме полосы анти-IgG.

2. К+: на стрипе с положительным контролем должны проявиться полосы соответствующие сорбированным на стрипе антигенам ВИЧ-1: p17, p24, p31, gp41, p51, p55, p66, gp120 и gp160. При отсутствии полосы p17 результаты считаются достоверными.

Кроме того, возможно появление полос, характерных для смежных антигенов (p39, p42), расположенных рядом с зоной размещения полосы gp41. Важно не перепутать эти полосы с полосой gp41 (поверхностным антигеном). Антигены gp41, gp120, gp160 могут проявляться диффузными (размытыми) полосами.

Должна проявиться полоса, соответствующая нанесенному на стрип-тесту ВИЧ-2.

3. К+сд: слабоположительный контроль необходим для определения чувствительности набора. На стрипе с контрольным слабоположительным образцом должны проявиться полосы p24 и/или gp41 и gp120/gp160. Могут проявиться другие сопутствующие слабые полосы. Интенсивность окрашивания полос – слабая.

4. На всех стрипах, куда внесены образцы сывороток (плазмы) или контролей, должна присутствовать четкая полоса анти-IgG- человека (внутренний контроль внесения сыворотки), которая позволяет судить о правильном соблюдении протокола анализа.

10. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

Наличие или отсутствие антител к антигенам ВИЧ-1 и ВИЧ-2 в исследуемом образце определяют сравнением каждого интродуцированного стрипа с параллельно поставленными стрипами контролей (положительного, слабоположительного и отрицательного).

Внимание: Пронумерованный конец стрипа должен располагаться снизу, то есть полосы gp120/gp160 будут расположены на противоположном конце стрипа.

10

Основные антигены ВИЧ-1 МОГУТ быть идентифицированы как:

GAG	POL	ENV
Антигены ядра	Эндонуклеазные полимеразные антигены	Поверхностные антигены
p17, p24, p55	p31, p51, p66	gp41, gp120, gp160

В процессе интерпретации результатов тестирования необходимо выполнить следующие условия:

1. Убедиться в том, что на стрипах проявились контрольные полосы внесения сыворотки, т.е. полоса внутреннего контроля (анти-IgG человека).

2. Идентифицировать каждую полосу на стрипах тестируемых образцов путем сравнения с расположением полос на стрипах положительного и слабоположительного контролей. При этом необходимо проследить, чтобы полосы, соответствующие внутреннему контролю на каждом стрипе находились на одной линии.

3. Интерпретация результатов основывается на комбинации видимых антигенных полос. Критерии интерпретации результатов, используемые различными международными организациями:

1. Критерии рекомендованные ВОЗ	
ВИЧ-1 Положительный	Присутствуют 2 полосы ENV (gp160, gp120 или gp41). POL и GAG полосы могут присутствовать или отсутствовать.
2. Критерии рекомендованные «Американским Красным Крестом»	
ВИЧ-1 Положительный	Присутствуют, по крайней мере, 3 полосы, каждая является производной отдельного гена: GAG(p17, p24, p55) POL(p31, p51, p66) ENV(gp120, gp160, gp41)
3. Критерии рекомендованные US FDA	
ВИЧ-1 Положительный	Присутствуют: p24, и p31, и gp41 или gp120/160

11

Сыворотки, при исследовании которых проявилась полоса, соответствующая ВИЧ-2, должны быть повторно исследованы в наборе для выявления антител к индивидуальным белкам ВИЧ-2 типа методом иммуниного блоттинга.

11. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА.

Хранение набора должно осуществляться при температуре от 2 до 8 °С;

транспортирование всеми видами крытого транспорта при температуре от 2 до 8 °С.

Допускается транспортирование при температуре до 25 °С не более 120 часов. Не замораживать.

Срок годности 1 год.

По вопросам, касающимся качества набора «МПБА-Блот-ВИЧ-1, ВИЧ-2» следует обращаться:

в адрес изготовителя: ООО «МПБА диагностика» 109147, Москва, ул. Марксистская, дом 3, корп. 2, офис 2.1.20/2, тел. (495) 661-00-08 и в Лабораторию ФГУ «НЦЭСМП» Росздравнадзора по адресу: 117246, г. Москва, Научный проезд, д. 14 А, тел. (499) 120-60-95

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

7/сентябрь лист 06

Ген. Директор ЗАО "ЭКОлаб"

Борисов В.Ю.

29 09 2020 г.



ЗАО "ЭКОлаб"		
Производственная инструкция		
Регламент производства ИФТС "ИФА-БЛОТ-ВИЧ-1,2" № 293-2020		
Стадия ТП-5. Приготовление контрольного отрицательного образца (К ⁻)		
Дата введения: 09.01.2020	СОП-ПО-11-345	Стр. 1 из 5
Версия № 1. Введено впервые	Действительно до:	Копия № 1

1. Назначение

В соответствии с СОП-АД-01-31 настоящая инструкция определяет порядок выполнения стадии ТП-5. "Приготовление контрольного отрицательного образца (К⁻)" для ИФТС "ИФА-БЛОТ-ВИЧ-1,2".

Продукт, получаемый по завершении стадии, – контрольный отрицательный образец – жидкая сыворотка крови человека, не содержащая антитела к ВИЧ-1,2, вирусу гепатита С, *Treponema pallidum*, антигены ВИЧ и HBsAg, инактивированная прогреванием при температуре от 54 до 56 °С; реагент должен быть расфасован, укупорен и маркирован в соответствии с требованиями ТУ 21.20.23-293-70423725-2020.

2. Персонал

Требования настоящей инструкции распространяются на весь персонал, занятый выполнением указанной работы.

3. Технологическая схема стадии

ТП-5. Приготовление К ⁻	
ТП-5-1. Инактивация сырья	
ТП-5-2. Центрифугирование и фильтрация	
ТП-5-3. Добавление консерванта	
ТП-5-4. Контроль К ⁻ в ИБ	
ТП-5-5. Розлив К ⁻ , укупорка, маркировка	
ТП-5-6. Хранение до комплектации набора	
	ВР-5-7. Обработка отходов

4. Спецификация оборудования

№ позиции	Наименование	Количество	Марка, фирма-изготовитель (для импортного – страна)	Техническая характеристика
В-3	Весы лабораторные настольные	1	Любой марки, обеспечивающей заданную точность взвешивания	Заданная точность взвешивания $\pm 0,01$ г
ПС-2	Колба плоскодонная	*	ГОСТ 23932-90	Вместимость ** Стекло светлое
ПС-4	Бутыль для приготовления растворов	*	ГОСТ 23932-90	Вместимость ** Стекло светлое
ПС-1	Цилиндр мерный 1-го класса точности	*	ГОСТ 1170-74	Вместимость ** Стекло: светлое
Ф-1	Установка для получения воды очищенной.	1	УВОИ-«М-Ф» 2540-F-2; «Медиана Фильтр»	Производительность: 100 л/ч Максимальный объем: 810 л.

Составил (изменил)	Согласовал	Утвердил
Долж. Микробиолог ОПР	Долж. Зам. начальника ООК	Долж. Начальник ОПР
ФИО. Авдониная А.С.	ФИО Овинникова С.С.	ФИО: Амелина Е.А.
Подпись: <i>Сопы</i>	Подпись: <i>Сопы</i>	Подпись: <i>Евсеев</i>
Дата: 09.01.2020	Дата: 09.01.2020	Дата: 09.01.2020

ЗАО "ЭКОлаб"		
Производственная инструкция		
Регламент производства ИФТС "ИФА-БЛОТ-ВИЧ-1,2" № 293-2020		
Стадия ТП-5. Приготовление контрольного отрицательного образца (К)		
Дата введения: 09.01.2020	СОП-ПО-11-345	Стр. 2 из 5
Версия № 1. Введено впервые	Действительно до:	Копия № 1

М-5	Магнитная мешалка	5	MR 3000; «Heidolph», Германия	Диапазон регулирования скорости: от 0 до 1250 об/мин Максимальный объём перемешивания: 20 л
РН-2	рН-метр-милливольтметр	1	рН-410; ЗАО «Аквилон НПКФ»	Диапазон измерения рН: от 0 до 14,00 Погрешность: 0,01
Т-3	Термостат (водяная баня)	*	Любой марки, обеспечивающей заданный температурный режим	Температура 55-57 °С
Т-2	Холодильник (холодильная камера)	*	Любой марки, обеспечивающей заданный температурный режим	Температура в камере 2-8 °С
Ф-6	Центрифуга с охлаждением	1	4K15; «SIGMA laborzen-trifugen», Германия	Максимальная вместимость: 4x500 мл Скорость вращения: от 100 до 15000 об/мин Диапазон температуры: от -20 до +40 °С
Ф-2	Фильтрационная камера	1	«Sartorius Stedim», Германия	
Ф-4	Компрессор мембранный	1	НВМ 2x2-К; «Владисарт»	Производительность: 2,9 м³/час Предельный вакуум: 300 кПа
КХ-1	Контейнер для хранения флаконов (пакетов) с реагентами			Объём: 60 – 80 л

Примечания:

1. "*" в графе "Количество" означает число единиц оборудования, определяемое объемом работы.
2. "Вместимость **" - определяется объемом производственного задания.

5. Сырье и материалы

№ п/п	Наименование	Спецификация *	Квалификация ** (при необходимости)
Основное сырье и материалы (позиции, входящие в состав продукта стадии/операции)			
1.	Вода очищенная	ФС 42-2620-97 СОП-ИО-03-05	
2.	Нормальная замороженная плазма	СПК	

ЗАО "ЭКОлаб"		
Производственная инструкция		
Регламент производства ИФТС "ИФА-БЛОТ-ВИЧ-1,2" № 293-2020		
Стадия ТП-5. Приготовление контрольного отрицательного образца (К)		
Дата введения: 09.01.2020	СОП-ПО-11-345	Стр. 3 из 5
Версия № 1. Введено впервые	Действительно до:	Копия № 1

	(НЗП)		
3.	Натрия азид	«Panreac», Испания, кат. № 162712	
4.	Микропробирки из прозрачного пластика с завинчивающимися крышками зеленого цвета	«Sarstedt», Германия, кат. № 72.694	Вместимость 2 мл
5.	Термозкетки	ЗАО НТЦ АТ «Форинтек», Россия	
Вспомогательное сырье и материалы (позиции, обеспечивающие производство продукта стадии/операции)			
6.	ИФТС «ИФА-Блот-ВИЧ-1,2»	ТУ 21.20.23-293-70423725-2020	
7.	Фильтровальная бумага	ГОСТ 12026-76	
8.	Вата медицинская	ГОСТ 5556-81	
9.	Спирт этиловый 70%	Р 51652-2000, Россия	
10.	Перекись водорода	ГОСТ 177-77 хч, Россия	

Примечания

* Для отечественных материалов – ГОСТ, ТУ или наименование фирмы-производителя с указанием каталожного номера; для импортных материалов – наименование фирмы-производителя, страна, каталожный номер. При возможности использования позиции любой спецификации ставится "-".

** Сорт, артикул, чистота (ч, хч и т.п.)

6. Процедура

6.1. Подготовка к работе

Подготовить к работе помещения, оборудование и персонал в соответствии с требованиями СОП-ВП-11-01 и СОП-ВП-11-07

Ответственному за проведение работ получить у своего непосредственного руководителя производственное задание и проверить готовность к работе помещений, оборудования и персонала. О замеченных недостатках сообщить непосредственному руководителю и принять меры к их устранению.

6.2. Ход технологического процесса

6.2.1. (ТП-5-1) Инактивация сырья

Нормальную замороженную плазму разморозить при температуре 15-25°C и осторожно перелить в чистые термостойкие флаконы (поз. ПС-8).

Поместить флаконы в водяную баню (поз. Т-3) так, чтобы уровень воды превышал уровень плазмы во флаконе. Нагреть водяную баню до 55-57°C и выдержать флаконы при этой температуре 40 мин. Охладить при комнатной температуре и передать на центрифугирование.

Флаконы с инактивированным сырьем до центрифугирования можно хранить при 2-8 °C (поз. Т-2) не более 72 ч.

Сделать записи в маршрутной карте.

6.2.2. (ТП-5-2) Центрифугирование и фильтрация

Разлить инактивированное сырье по центрифужным стаканам и центрифугировать центрифугировать (поз. Ф-6) со скоростью 8000 об/мин, при температуре (8-10)°C в течение

ЗАО "ЭКОлаб"		
Производственная инструкция		
Регламент производства ИФТС "ИФА-БЛОТ-ВИЧ-1,2" № 293-2020		
Стадия ТП-5. Приготовление контрольного отрицательного образца (К ⁻)		
Дата введения: 09.01.2020	СОП-ПО-11-345	Стр. 4 из 5
Версия № 1. Введено впервые	Действительно до:	Копия № 1

40 мин. Собрать супернатант в чистую стеклянную колбу (поз. ПС-2), фильтруя каждую его порцию через ватно-марлевый фильтр.

6.2.3. (ТП-5-3) Добавление консерванта

Определить общий объем супернатанта и рассчитать количество азида натрия, необходимое для получения его конечной концентрации в сыворотке, равной 0,1 %. Приготовить навеску азида натрия (поз. В-3), внести ее в емкость с сывороткой, перемешать до полного растворения реактива (поз. М-5).

Емкость с готовым К⁻ промаркировать в соответствии с требованиями СОП-АД-01-29. До розлива хранить при 2-8 °С (поз. Т-2) не более 1 мес.

Сделать записи в маршрутной карте.

6.2.4. (ТП-5-4) Контроль К⁻ в ИБ

Новую серию К⁻ испытать в ИБ (поз. А-2) с референс-серией набора в соответствии с инструкцией по его применению.

К⁻ считать пригодным для использования, если в ИБ с ним выявляется только зона линии контроля реакции.

Сделать записи в маршрутной карте.

6.2.5. (ТП-5-5) Розлив К⁻, укупорка, маркировка

Провести розлив К⁻ по микропробиркам, укупорку и маркировку микропробирок в соответствии с требованиями СОП-ПО-11-76 и ТУ на набор.

Флаконы с К⁻ сложить в маркированные контейнеры (поз. КХ-1) передать на хранение до комплектации тест-системы.

Сделать записи в маршрутной карте.

6.2.6. (ТП-5-6) Хранение до комплектации набора

До использования при комплектации хранить при температуре 2-8 °С (поз. Т-2) не более 1 месяца.

Сделать записи в маршрутной карте

6.3. Завершение работы

По завершении операций приготовления К⁻ выполнить текущую уборку производственных помещений в соответствии с требованиями СОП-ТБ-11-09, СОП-ПО-15-14, обслуживание использованного оборудования в соответствии с требованиями инструкций по его эксплуатации и обработку отходов (Плотные и жидкие отходы собирать и обрабатывать в соответствии с требованиями СОП-ТБ-11-09, СОП-ПО-15-14).

7. Документация

Документирование процесса «Порядок приготовления контрольного отрицательного образца (К⁻)» для ИФТС «ИФА-Блот-ВИЧ-1,2» осуществляется в Маршрутной карте ЗФ01-ПО-11-345 Форма дана в приложении № 1.

8. Ссылки

СОП-ВП-11-01 «Правила подготовки производственных помещений».

СОП-ВП-11-07 «Правила подготовки персонала для работы в производственных помещениях».

СОП-ВП-11-09 «Приготовление дезинфицирующих растворов для производства ИФТС».

СОП-ТБ-19-16 «Инструкция по охране труда при работе с патогенными биологическими агентами III-IV групп».

СОП-ТБ-19-11 «Инструкция по охране труда при работе с кислотами, щелочами и другими едкими веществами».

ЗАО "ЭКОлаб"		
Производственная инструкция		
Регламент производства ИФТС "ИФА-БЛОТ-ВИЧ-1,2" № 293-2020		
Стадия ТП-5. Приготовление контрольного отрицательного образца (К)		
Дата введения: 09.01.2020	СОП-ПО-11-345	Стр. 5 из 5
Версия № 1. Введено впервые	Действительно до:	Копия № 1

СОП-ТБ-19-09 «Инструкция по охране труда при работе с производственными и бытовыми отходами».

СОП-ТБ-19-06 «Инструкция по оказанию первой доврачебной помощи при несчастных случаях».

СОП-ВП- 14-08 «Инструкция по подготовке посуды, укупорочных материалов и емкостного оборудования».

СОП-ТБ-11-09 «Инструкция по охране труда при работе с опасными отходами производства, зараженными или подозрительными на зараженность возбудителями инфекционных заболеваний».

СОП-АД-01-14 «Порядок формирования досье на серию готовой продукции».

СОП-ПО-15-14 «Порядок работы с потенциально инфицированным материалом».

СОП-АД-01-16 «Порядок работы с сильнодействующими и ядовитыми веществами».

СОП-ВП-11-05 «Приготовление воды очищенной».

СОП-ИО-03-01 «Действия персонала при отключении электроэнергии».

СОП-ИО-03-02 «Действия персонала при отключении водоснабжения».

СОП-АД-01-04 «Порядок составления и оформления инструкций».

СОП-АД-01-03 «Порядок разработки, согласования, утверждения, внесения изменений, распределения и хранения документов на предприятии».

ПОЛ-КО-02-01 «Положение о входном контроле для ДП».

СОП-АД-01-11 «Работа с сырьем и материалами, не отвечающими требованиям нормативной документации».

СОП-АД-01-29 «Применение идентификационных и статусных этикеток на предприятии».

По эксплуатации оборудования:

СОП-ИО-11-27 «Инструкция по эксплуатации лабораторных весов».

СОП-ИО-11-08 «Инструкция по эксплуатации холодильников».

СОП-ИО-11-13 «Инструкция по эксплуатации насоса перистальтического».

СОП-ИО-11-14 «Порядок эксплуатации шейкера S-4».

СОП-ИО-11-22 «Инструкция по эксплуатации магнитных мешалок».

СОП-ИО-11-23 «Порядок эксплуатации дозаторов пипеточных».

Нормативная документация: ТУ и ИП ИФТС «ИФА-Блот-ВИЧ-1,2».

9. Распределение данной инструкции

Оригинал

Копия 1

ООК

НПО «ВИЧ, Блот»

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

5 лист 06

Ген. Директор ЗАО "ЭКОлаб"

Борисов В.Ю.

2020 г.



ЗАО "ЭКОлаб"		
Производственная инструкция		
Регламент производства ИФТС "ИФА-БЛОТ-ВИЧ-1,2" № 293-2020		
Стадия ТП-7. Приготовление контрольного слабоположительного образца ($K_{сл}^+$)		
Дата введения: 09.01.2020	СОП-ПО-11-347	Стр. 1 из 7
Версия № 1. Введено впервые	Действительно до:	Копия № 1

1. Назначение

В соответствии с СОП-АД-01-31 настоящая инструкция определяет порядок выполнения стадии ТП-7. Приготовление контрольного слабоположительного образца ($K_{сл}^+$) для ИФТС "ИФА-БЛОТ-ВИЧ-1,2".

Продукт, получаемый по завершении стадии, – контрольный слабоположительный образец – жидкая сыворотка крови человека, содержащая антитела к ВИЧ-1 в низкой концентрации (титр не более 1:200), инактивированная прогреванием в течение 2 ч при 56 °С, содержащая консервант (азид натрия) в конечной концентрации 0,1 %; реагент должен быть расфасован, укупорен и маркирован в соответствии с требованиями ТУ 21.20.23-293-70423725-2020.

2. Персонал

Требования настоящей инструкции распространяются на весь персонал, занятый выполнением указанной работы.

3. Технологическая схема стадии

ТП-7. Приготовление контрольного положительного образца	
ТП-7-1. Инактивация сырья	
ТП-7-2. Центрифугирование и фильтрация	
ТП-7-3. Добавление консерванта	
ТП-7-4. Исследование сырья в ИФА и ИБ	
ТП-7-5. Приготовление $K_{сл}^+$	
ТП-7-6. Контроль $K_{сл}^+$ в ИБ	
ТП-7-7. Розлив $K_{сл}^+$, укупорка, маркировка	
ТП-7-8. Хранение до комплектации набора	
ВР-7-9. Обработка отходов	

4. Спецификация оборудования

№ позиции	Наименование	Количество	Марка, фирма-изготовитель (для импортного – страна)	Техническая характеристика
Т-1	Морозильник	*	Любой марки, обеспечивающий заданный температурный режим	Температура камеры не выше минус 20 °С
ПС-2	Колба плоскодонная	*	ГОСТ 23932-90	Вместимость ** Стекло светлое
Т-3	Термостат (водяная баня)	*	Любой марки, обеспечивающей заданный температурный режим	Температура прогрева 55-57 °С
Т-2	Холодильник (холодильная камера)	*	Любой марки, обеспечивающей заданный температурный режим	Температура в камере 2-8 °С
Ф-6	Центрифуга с охлаждением	1	4K15; «SIGMA labor-zentrifugen», Германия	Максимальная вместимость: 4x500 мл Скорость вращения:

Составил (изменил)	Согласовал	Утвердил
Долж. Микробиолог ОПР	Долж. Начальник ООК	Долж.: Начальник ОПР
ФИО. Авдонина А.С.	ФИО Овинникова С.С.	ФИО: Амелина Е.А.
Подпись: <i>Авдонина А.С.</i>	Подпись: <i>Овинникова С.С.</i>	Подпись: <i>Амелина Е.А.</i>
Дата: 09.01.2020	Дата: 09.01.2020	Дата: 09.01.2020

ЗАО "ЭКОлаб"		
Производственная инструкция		
Регламент производства ИФТС "ИФА-БЛОТ-ВИЧ-1,2" № 293-2020		
Стадия ТП-7. Приготовление контрольного слабоположительного образца (K ⁺ _{сл})		
Дата введения: 09.01.2020	СОП-ПО-11-347	Стр. 2 из 7
Версия № 1. Введено впервые	Действительно до:	Копия № 1

				от 100 до 15000 об/мин Диапазон температуры: от -20 до +40 °C
ПС-1	Цилиндр мерный 1-го класса точности	*	ГОСТ 1170-74	Вместимость ** Стекло: светлое
В-2	Весы лабораторные настольные	1	Любой марки, обеспечивающей заданную точность взвешивания	Заданная точность взвешивания $\pm 0,1$ г
М-5	Магнитная мешалка	5	MR 3000; «Heidolph», Германия	Диапазон регулирования скорости: от 0 до 1250 об/мин Максимальный объем перемешивания: 20 л
П-7	Воронка	*	ГОСТ 23932-90	Диаметр: **
ПС-4	Бутыль для приготовления растворов	*	ГОСТ 23932-90	Вместимость ** Стекло светлое
А-2	Оборудование для ИБ	1	См. ИП набора	
КХ-1	Контейнер для хранения флаконов (пакетов) с реагентами			Объем: 60 – 80 л

Примечания:

1. "*" в графе "Количество" означает число единиц оборудования, определяемое объемом работы.
2. "Вместимость **" - определяется объемом производственного задания.

5. Сырье и материалы

№ п/п	Наименование	Спецификация *	Квалификация ** (при необходимости)
Основное сырье и материалы (позиции, входящие в состав продукта стадии/операции)			
1.	Сыворотка (плазма) крови, не содержащая антигены ВИЧ и антитела к ВИЧ-1,2	СПК, Россия	
2.	Сыворотка (плазма) крови человека, содержащая антитела к ВИЧ-1 и не содержащая антигены ВИЧ, HBsAg и антитела к ВГС и Treponema pallidum	СПК, Россия	-
3.	Натрия азид	«Panreac», Испания, кат. № 162712	
4.	Микропробирки из прозрачного пластика с завинчивающимися крышками красного цвета	«Sarstedt», Германия, кат. № 72.694	Вместимость 2 мл
5.	Термоэтикетки	ЗАО НТЦ АТ «Форинтек»,	

ЗАО "ЭКОлаб"		
Производственная инструкция		
Регламент производства ИФТС "ИФА-БЛОТ-ВИЧ-1,2" № 293-2020		
Стадия ТП-7. Приготовление контрольного слабоположительного образца ($K_{сл}^{+}$)		
Дата введения: 09.01.2020	СОП-ПО-11-347	Стр. 3 из 7
Версия № 1. Введено впервые	Действительно до:	Копия № 1

		Россия	
Вспомогательное сырье и материалы (позиции, обеспечивающие производство продукта стадии/операции)			
6.	ИФТС «АГАТ-ВИЧ-1,2» ф. ЗАО «ЭКОлаб»	ТУ 9398-080-70423725-2015	
7.	ИФТС «ИФА-Блот-ВИЧ-1,2»	ТУ 21.20.23-293-70423725-2020	
8.	Марля медицинская	ГОСТ 5556-81	
9.	Фильтровальная бумага	ЗАО «База №1 Химреактивов», Россия	
10.	Вата медицинская	ГОСТ 5556-81	
11.	Спирт этиловый ректификованный	ГОСТ 5962-2013	
12.	Перекись водорода	ГОСТ 177-77	хч

Примечания

* Для отечественных материалов – ГОСТ, ТУ или наименование фирмы-производителя с указанием каталожного номера; для импортных материалов – наименование фирмы-производителя, страна, каталожный номер. При возможности использования позиции любой спецификации ставится "-".

** Сорт, артикул, чистота (ч, хч и т.п.)

6. Процедура

6.1. Подготовка к работе

Подготовить к работе помещения, оборудование и персонал в соответствии с требованиями СОП-ВП-11-01 и СОП-ВП-11-07.

Ответственному за проведение работ получить у своего непосредственного руководителя производственное задание и проверить готовность к работе помещений, оборудования и персонала. О замеченных недостатках сообщить непосредственному руководителю и принять меры к их устранению.

6.2. Ход технологического процесса

6.2.1. (ТП-7-1) Инактивация сырья

Сырьем для приготовления $K_{сл}^{+}$ служат предварительно отобранные сыворотки или плазма крови человека, содержащие антитела к ВИЧ-1 и не содержащие антигены ВИЧ, HBsAg и антитела к ВГС и *Treponema pallidum*. До использования сырье может храниться при минус 20 °С (поз. Т-1).

Замороженное сырье разморозить при комнатной температуре, слить в стеклянную колбу (поз. ПС-2) необходимой вместимости. Поместить колбу в водяную баню (поз. Т-3) так, чтобы уровень воды превышал уровень сыворотки (плазмы) в колбе. Нагреть водяную баню до 56 °С. Прогреть сырье на водяной бане при температуре 56 °С в течение 120 мин. При этом происходит инактивация сырья, сворачивание фибриногена и выпадение его в осадок (если в качестве исходного сырья используется плазма, то она становится сывороткой). Прогретое сырье охладить до комнатной температуры. Хранить до центрифугирования при 2-8 °С (поз. Т-2) не более 10 суток.

Сделать записи в маршрутной карте.

6.2.2. (ТП-7-2) Центрифугирование и фильтрация

ЗАО "ЭКОлаб"		
Производственная инструкция		
Регламент производства ИФТС "ИФА-БЛОТ-ВИЧ-1,2" № 293-2020		
Стадия ТП-7. Приготовление контрольного слабоположительного образца (K ⁺ _{сл})		
Дата введения: 09.01.2020	СОП-ПО-11-347	Стр. 4 из 7
Версия № 1. Введено впервые	Действительно до:	Копия № 1

Сырье разлить по центрифужным стаканам (поз. Ф-6) и центрифугировать со скоростью 8000 об/мин при температуре 8-10°C в течение 60 мин. Собрать супернатант (сыворотку) в колбу или бутылку для приготовления растворов (поз. ПС-2 или ПС-4), фильтруя через ватно-марлевый фильтр, измерить объем супернатанта (поз. ПС-1).

Сделать записи в маршрутной карте.

6.2.3. (ТП-7-3) Добавление консерванта

Исходя из полученного объема супернатанта, рассчитать необходимое количество азида натрия, для получения его конечной концентрации 0,1 % (0,1 г азида натрия на 100 мл сыворотки). Приготовить навеску (поз. В-2) азида натрия, внести ее в емкость с супернатантом, перемешать (поз. М-5) 15 мин.

Емкость с сывороткой, содержащей консервант, промаркировать в соответствии с требованиями СОП-АД-01-29.

Хранить до использования при 2-8 °С (поз. Т-2) не более 6 мес.

Сделать записи в маршрутной карте.

6.2.4. (ТП-7-4) Исследование сырья в ИФА и ИБ

Все обработанные сыворотки, содержащие консервант, проконтролировать в ИФА и ИБ с использованием ИФТС «АГАТ-ВИЧ-1,2» и «ИФА-Блот-ВИЧ-1,2» в соответствии с инструкциями по их применению.

Сыворотки, содержащие специфические антитела к ВИЧ-1, должны соответствовать следующим показателям: в ИФТС «АГАТ-ВИЧ-1,2» иметь оптическую плотность не выше ОП=2,0, но не ниже ОП=1,0; в ИФТС «ИФА-Блот-ВИЧ-1,2», показать реагирование не более чем с двумя гликопротеинами ВИЧ-1 (gp160 и/или gp120 и/или gp41) (при этом допускается как наличие, так и отсутствие реагирования с остальными антигенами, специфичными ВИЧ-1).

Дополнительно проводят исследование титра сывороток, содержащих специфические антитела к ВИЧ-1, в ИФТС «ИФА-Блот-ВИЧ-1,2», внося при этом исследуемый образец в раствор для разведения сывороток (PPC) в разведении 1:100 (согласно ИП: 20 мкл образца + 2 мл PPC), 1:200 (10 мкл образца + 2 мл PPC), 1:400 (5 мкл образца + 2 мл PPC). Сыворотку считают пригодной, если ее конечное разведение в PPC 1:200 показывает реагирование не более чем с двумя гликопротеинами ВИЧ-1 (gp160 и/или gp120 и/или gp41) (при этом допускается как наличие, так и отсутствие реагирования с остальными антигенами, специфичными ВИЧ-1), а разведение 1:400 показывает реагирование только с одним из гликопротеинов ВИЧ-1 или отсутствие реагирования с гликопротеинами ВИЧ-1 (при этом допускается как наличие, так и отсутствие реагирования с остальными антигенами, специфичными ВИЧ-1).

Если разведение 1:400 показывает результат, аналогичный разведению 1:200, значит сыворотку, содержащую антитела к ВИЧ-1, необходимо развести в контрольном отрицательном образце K⁻ (СОП-ПО-11-...). Разведение подбирается опытным путем. Для этого готовят последовательные двукратные разведения, начиная с 1:1 (1 мл сыворотки, содержащей специфические антитела к ВИЧ-1, + 1 мл K⁻) до 1:10. Приготовленные пробы исследуют в ИФТС «ИФА-Блот-ВИЧ-1,2» в разведении 1:200 (10 мкл образца + 2 мл PPC) и 1:400 (5 мкл образца + 2 мл PPC). Оптимальным считают вариант, при котором конечное разведение пробы в PPC 1:200 показывает реагирование не более чем с двумя гликопротеинами ВИЧ-1 (gp160 и/или gp120 и/или gp41) (при этом допускается как наличие, так и отсутствие реагирования с остальными антигенами, специфичными ВИЧ-1), а разведение 1:400 показывает реагирование только с одним из гликопротеинов ВИЧ-1 или отсутствие реагирования с гликопротеинами

ЗАО "ЭКОлаб"		
Производственная инструкция		
Регламент производства ИФТС "ИФА-БЛОТ-ВИЧ-1,2" № 293-2020		
Стадия ТП-7. Приготовление контрольного слабоположительного образца ($K^+_{сл}$)		
Дата введения: 09.01.2020	СОП-ПО-11-347	Стр. 5 из 7
Версия № 1. Введено впервые	Действительно до:	Копия № 1

ВИЧ-1 (при этом допускается как наличие, так и отсутствие реагирования с остальными антигенами, специфичными ВИЧ-1).

Занести данные в маршрутную карту.

На ёмкости с сыворотками наклеить этикетки в соответствии с СОП-АД-01-29.

Сыворотки хранить при температуре 2- 8 °С в течение 3 месяцев.

6.2.5. (ТП-7-5) Приготовление $K^+_{сл}$

$K^+_{сл}$ готовить путем разбавления сывороток, содержащих специфические антитела к ВИЧ-1, контрольным отрицательным образцом K^- (СОП-ПО-11-...), в разведении, подобранном опытным путем (п. 6.2.4).

Исходя из производственного задания, рассчитать объемы сыворотки, содержащей специфические антитела к ВИЧ-1, и K^- , необходимые для приготовления заданного объема реагента.

Рассчитанные объемы с помощью мерного цилиндра (поз. ПС-1) внести в колбу или бутылку для приготовления растворов (поз. ПС-2 или ПС-4), перемешать на магнитной мешалке (поз. М-5) в течение 30 мин.

Ёмкость с $K^+_{сл}$ промаркировать в соответствии с требованиями СОП-АД-01-29. До розлива хранить при 2-8 °С (поз. Т-2) не более 3 мес.

Сделать записи в маршрутной карте.

6.2.6. (ТП-7-6) Контроль $K^+_{сл}$ в ИБ

Новую серию $K^+_{сл}$ испытать в ИБ (поз. А-2) с референс-серией ИФТС "ИФА-Блот-ВИЧ-1,2" в соответствии с инструкцией по применению набора при параллельном использовании контролируемого реагента и реагента референс-серии.

Новую серию реагента считать пригодной для использования при полном соответствии результатов ИБ в обеих постановках.

Сделать записи в маршрутной карте.

6.2.7. (ТП-7-7) Розлив $K^+_{сл}$, укупорка, маркировка

Провести розлив $K^+_{сл}$ по микропробиркам, укупорку и маркировку микропробирок в соответствии с требованиями СОП-ПО-11-76 и ТУ на набор.

Микропробирки с $K^+_{сл}$ сложить в маркированные контейнеры (поз. КХ-1) и передать на хранение до комплектации тест-системы.

Сделать записи в маршрутной карте.

6.2.8. (ТП-7-8) Хранение до комплектации набора

До использования при комплектации хранить при температуре 2-8 °С (поз. Т-2) не более 1 мес.

Сделать записи в маршрутной карте

6.3. Завершение работы

6.3.1. По завершении операций (ТП-7-1) - (ТП-7-8) выполнить текущую уборку производственных помещений в соответствии с требованиями СОП-ТБ-11-09, СОП-ПО-15-14 и обслуживание использованного оборудования в соответствии с требованиями инструкций по его эксплуатации.

6.3.2. (ВР-7-9) Обработка отходов

Плотные и жидкие отходы собирать и обрабатывать в соответствии с требованиями СОП-ТБ-11-09, СОП-ПО-15-14.

7. Документация

Документирование процесса «Порядок приготовления контрольного слабоположительного образца ($K^+_{сл}$)» для ИФТС «ИФА-Блот-ВИЧ-1,2» осуществляется в Маршрутной

ЗАО "ЭКОлаб"		
Производственная инструкция		
Регламент производства ИФТС "ИФА-БЛОТ-ВИЧ-1,2" № 293-2020		
Стадия ТП-7. Приготовление контрольного слабоположительного образца (K⁺_{сл})		
Дата введения: 09.01.2020	СОП-ПО-11-347	Стр. 6 из 7
Версия № 1. Введено впервые	Действительно до:	Копия № 1

карте ЗФ01-ПО-11-347 Форма дана в приложении № 1 к настоящей инструкции. Заполненные маршрутные карты приобщить к "Досье на продукцию" в соответствии с требованиями СОП-АД-01-14.

8. Ответственность

Персонал, занятый на работах, описанных в настоящей инструкции, несет ответственность за выполнение ее требований в соответствии с действующими правилами.

9. Ссылки

СОП-ВП-11-01 «Правила подготовки производственных помещений».

СОП-ВП-11-07 «Правила подготовки персонала для работы в производственных помещениях».

СОП-ВП-11-09 «Приготовление дезинфицирующих растворов для производства ИФТС».

СОП-ТБ-19-16 «Инструкция по охране труда при работе с патогенными биологическими агентами III-IV групп».

СОП-ТБ-19-09 «Инструкция по охране труда при работе с производственными и бытовыми отходами».

СОП-ТБ-19-06 «Инструкция по оказанию первой доврачебной помощи при несчастных случаях».

СОП-ВП-14-08 «Инструкция по подготовке посуды, укупорочных материалов и емкостного оборудования».

СОП-ТБ-11-09 «Инструкция по охране труда при работе с опасными отходами производства, зараженными или подозрительными на зараженность возбудителями инфекционных заболеваний».

СОП-АД-01-14 «Порядок формирования досье на серию готовой продукции».

СОП-ПО-15-14 «Порядок работы с потенциально инфицированным материалом».

СОП-ВП-11-05 «Приготовление воды очищенной».

СОП-ИО-03-01 «Действия персонала при отключении электроэнергии».

СОП-ИО-03-02 «Действия персонала при отключении водоснабжения».

СОП-АД-01-04 «Порядок составления и оформления инструкций».

СОП-АД-01-03 «Порядок разработки, согласования, утверждения, внесения изменений, распределения и хранения документов на предприятии».

ПОЛ-КО-02-01 «Положение о входном контроле для ДП».

СОП-ПО-11-119 «Порядок идентификации и прослеживаемости при производстве и хранении продукции в отделениях ИФТС».

СОП-АД-01-11 «Работа с сырьем и материалами, не отвечающими требованиям нормативной документации».

СОП-АД-01-29 «Применение идентификационных и статусных этикеток на предприятии».

По эксплуатации оборудования:

СОП-ИО-11-27 «Инструкция по эксплуатации лабораторных весов».

СОП-ИО-11-08 «Инструкция по эксплуатации холодильников».

СОП-ИО-11-13 «Инструкция по эксплуатации насоса перистальтического».

СОП-ИО-11-14 «Порядок эксплуатации шейкера S-4».

СОП-ИО-11-22 «Инструкция по эксплуатации магнитных мешалок».

СОП-ИО-11-23 «Порядок эксплуатации дозаторов пипеточных».

Нормативная документация: ТУ и ИП ИФТС «ИФА-Блот-ВИЧ-1,2».

ЗАО "ЭКОлаб"		
Производственная инструкция		
Регламент производства ИФТС "ИФА-БЛОТ-ВИЧ-1,2" № 293-2020		
Стадия ТП-7. Приготовление контрольного слабоположительного образца (К ⁺ _{сл})		
Дата введения: 09.01.2020	СОП-ПО-11-347	Стр. 7 из 7
Версия № 1. Введено впервые	Действительно до:	Копия № 1

10. Распределение данной инструкции

Оригинал

ООК

Копия 1

НПО «ВИЧ, Блот»

Ген. Директор ЗАО "ЭКОлаб"
Борисов В.Ю.
2020 г.

Ген. Директор ЗАО "ЭКОлаб" _____
Борисов В.Ю. _____
"16" 11 2020 г.

