

ВЕКТОР



Набор реагентов  
для иммуноферментного  
выявления суммарных  
антител к ВИЧ-1,2

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

---

---

**УниБест ВИЧ-1,2 АТ (комплект 2)**

НАБОР РЕАГЕНТОВ

**D-0192**

**«УниБест ВИЧ-1,2 АТ (комплект 2)»** представляет собой набор, основой которого являются рекомбинантные антигены вирусов иммунодефицита человека 1 и 2 типов (*ВИЧ-1 и ВИЧ-2*), иммобилизованные на поверхности лунок планшета и входящие в состав конъюгата.

Основным свойством набора является способность выявлять в сыворотке или плазме крови человека суммарные антитела к ВИЧ-1 и ВИЧ-2 за счёт их специфического взаимодействия с рекомбинантными антигенами, иммобилизованными на поверхности лунок планшета и входящими в состав конъюгата.

Набор содержит все необходимые для проведения анализа реагенты, кроме дистиллированной воды.

Один набор рассчитан на проведение 96 анализов, включая контроли. Возможны 12 независимых постановок ИФА, при каждой из которых 3 лунки используют для постановки контролей.

## 1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для выявления суммарных антител к ВИЧ-1 и ВИЧ-2 в сыворотке или плазме крови человека.

## 2. СОСТАВ НАБОРА

- планшет разборный с иммобилизованными рекомбинантными антигенами ВИЧ-1, ВИЧ-2 – 1 шт.;
- положительный контрольный образец, инактивированный ( $K^+$ ) – 1 фл., 1 мл;
- отрицательный контрольный образец, инактивированный ( $K^-$ ) – 2 фл. по 1 мл;
- конъюгат (рекомбинантные белки ВИЧ-1 и ВИЧ-2, меченные пероксидазой хрена) – 1 фл. или 2 фл.;
- раствор для предварительного разведения (РПР) – 1 фл., 3 мл;
- раствор для разведения сывороток (РС) – 1 фл., 9 мл;
- раствор для разведения конъюгата (РК) – 1 фл., 13 мл;
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 2 фл. по 28 мл;
- субстратный буферный раствор (СБР) – 1 фл., 13 мл;
- тетраметилбензидин (ТМБ), концентрат – 1 фл., 1,5 мл;
- стоп-реагент – 1 фл., 12 мл;
- ванночка для реагентов – 2 шт.;
- наконечники для пипетки – 16 шт.;
- плёнка для заклеивания планшета – 4 шт.

### 3. СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

При работе с исследуемыми сыворотками и контрольными образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом:

- \* работать в резиновых перчатках;
- \* не пипетировать растворы ртом;
- \* все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями СП 1.3.2322-08 и МУ-287-113.

**Внимание!** Тщательное соблюдение описанных ниже требований позволит избежать искажения результатов ИФА.

- Для приготовления растворов и проведения ИФА следует использовать чистую мерную посуду и автоматические пипетки с погрешностью измерения объёмов не более 5%.
- Желательно использовать свежееотобранные образцы сыворотки (*плазмы*) крови. Допускается использование образцов, хранившихся при (2- 8)°С не более 5 суток, либо при минус (20±3)°С, если необходимо более длительное хранение.
- Сыворотки, содержащие взвешенные частицы, могут дать неправильный результат. Такие образцы перед использованием следует центрифугировать 10-15 мин при 3000 об/мин.
- Нельзя использовать проросшие, гемолизи-

рованные, гиперлипидные сыворотки или подвергавшиеся многократному замораживанию и оттаиванию.

- Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать не менее 30 мин при комнатной температуре (18-25)°С.
- Лиофилизированные компоненты должны быть восстановлены, как минимум, за 15 минут до их использования.
- После отбора необходимого количества стрипов, оставшиеся сразу упаковать в пакет с осушителем. Упакованные стрипы, плотно закрытые флаконы с исходными компонентами сразу после постановки реакции поместить в холодильник (2-8)°С.
- Растворы ТМБ и конъюгата в рабочем разведении готовить непосредственно перед использованием. Необходимо исключить воздействие прямого света на раствор ТМБ .
- При промывке лунки (*стрипа, планшета*) заполнять полностью, не допуская переливания промывочного раствора через края лунок, и не касаясь лунок наконечником пипетки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек.
- При использовании автоматического или ручного промывателя необходимо следить за состоянием ёмкости для промывочного раствора

и соединительных шлангов: в них не должно быть «заростов». Раз в неделю желательно ёмкость для промывочного раствора и шланги промывать 70% спиртом.

- Не допускать высыхания лунок стрипов между отдельными операциями.
- При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (*ФСБ-Т×25, СБР, концентрат ТМБ, стоп-реагент*), которые взаимозаменяемы во всех наборах ЗАО «Вектор-Бест».
- Запрещается повторное использование планшета для предварительного нанесения сывороток.
- При приготовлении растворов и проведении ИФА следует использовать **одноразовые** наконечники для дозаторов.
- Посуду (*ванночки*), используемую для работы с растворами конъюгата и ТМБ, не обрабатывать дезинфицирующими растворами и моющими средствами.
- В случае повторного использования посуду (*ванночки*) для раствора конъюгата промыть проточной водой и тщательно ополоснуть дистиллированной водой; посуду (*ванночки*) для раствора ТМБ сразу после работы промыть 50% раствором этилового спирта, а затем дис-

тиллированной водой.

- Для дезинфекции посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, рекомендуем использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС (*четвертичных аммониевых соединений*), спиртов, третичных аминов.
- Пипетки и рабочие поверхности обрабатывать только 70% раствором этилового спирта. Не использовать во время проведения ИФА перекись водорода, хлорамин и т.д.

### 3.1. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

#### 3.1.1. Промывочный раствор

Взболтать содержимое флакона с ФСБ-Т×25. При выпадении в концентрате осадка солей прогреть его до полного растворения осадка.

В соответствии с числом используемых стрипов отобрать необходимое количество ФСБ-Т×25 (см. таблицу, стр. 11) и развести его дистиллированной водой до указанного в таблице объёма или содержимое одного флакона – до **700 мл**.

*Хранение:* при (2-8)°С до 72 ч.

#### 3.1.2. Раствор конъюгата

**Внимание!** Для работы с конъюгатом рекомендуем использовать одноразовые наконечники для пипеток.

Приготовить **концентрированный раствор конъюгата** путём растворения содержимого флакона с конъюгатом в **1 мл РПР**.

*Хранение:* концентрированный раствор конъюгата – при (2-8)°С до 2 недель или при минус 20°С в течение 2-х месяцев. Допускается 5-кратное замораживание.

**Внимание! Раствор конъюгата в рабочем разведении** готовить в пластиковой баночке, входящей в состав набора, непосредственно перед использованием!

Таблица расхода реагентов

	Количество используемых стрипов											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Промывочный раствор											
ФСБ-Т×25, мл	4	8	12	16	20	24	28	32	36	40	44	48
Дистиллированная вода, мл	до 100	до 200	до 300	до 400	до 500	до 600	до 700	до 800	до 900	до 1000	до 1100	до 1200
	Раствор конъюгата в рабочем разведении											
Конъюгат (концентрат), мкл	α*	2×α	3×α	4×α	5×α	6×α	7×α	8×α	9×α	10×α	11×α	12×α
РК, мл	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0
	Раствор ТМБ в рабочем разведении											
ТМБ (концентрат), мкл	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500	550	600
СБР, мл	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0

α = ▲▲▲ МКЛ

Тщательно взболтать содержимое флакона с раствором для разведения конъюгата (РК).

В пластиковую ванночку отобрать необходимое количество концентрированного раствора конъюгата, добавить соответствующее количество РК (см. таблицу), тщательно перемешать пипетированием.

*Раствор конъюгата в рабочем разведении хранению не подлежит.*

### 3.1.3. Раствор ТМБ в рабочем разведении

**Внимание!** Раствор ТМБ в рабочем разведении готовить в пластиковой ванночке, входящей в состав набора, непосредственно перед использованием!

Рекомендуем выделить наконечники для пипеток, которые использовать только для работы с ТМБ.

В пластиковую ванночку отобрать необходимое количество концентрата ТМБ (см. таблицу), добавить к нему соответствующее количество СБР, тщательно перемешать.

*Раствор ТМБ стабилен до 3-х ч в защищённом от света месте при (18-25)°С.*

## 3.2. ПРОВЕДЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

3.2.1. Подготовить необходимое количество стрипов к работе. Оставшиеся – сразу упаковать во избежание губительного воздействия влаги. Для этого стрипы поместить в цефленовый пакет с влагопоглотителем, тщательно закрыть пакет пластиковой застёжкой. Упакованные таким образом стрипы хранить при (2-8)°С до 1 месяца.

Приготовить промывочный раствор (п. 3.1.1), концентрированный раствор конъюгата (п. 3.1.2).

3.2.2. Во все лунки внести по **30 мкл** раствора для разведения сывороток (РС).

В 1 лунку стрипа внести **70 мкл K<sup>+</sup>**, в 2 лунки – по **70 мкл K<sup>-</sup>**, в остальные лунки – по **70 мкл цельных тестируемых сывороток**.

**Внимание!** Сыворотки и контрольные образцы вносить в лунки аккуратно, избегая разбрызгивания.

Лунки заклеить плёнкой и инкубировать **1 час** при 37°С.

За 1-2 мин до окончания инкубации приготовить раствор конъюгата в рабочем разведении (п. 3.1.2).

3.2.3. По окончании инкубации содержимое лунок собрать в сосуд с дезинфицирующим рас-

твором, промыть лунки стрипов 7 раз промывочным раствором.

**Внимание!** Каждую лунку при промывке необходимо заполнять полностью (**400 мкл промывочного раствора**). Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого их заполнения. Время между заполнением и опорожением лунок должно быть не менее 30 сек.

По окончании промывки необходимо тщательно удалить влагу из лунок, постукивая перевёрнутыми стрипами по сложенной в несколько слоёв фильтровальной бумаге. *Не допускать высыхания лунок стрипов между отдельными операциями при постановке реакции.*

3.2.4. Во все лунки внести по **100 мкл раствора конъюгата в рабочем разведении**.

**Внимание!** Для внесения раствора конъюгата использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

Лунки заклеить плёнкой и инкубировать **30 мин** при 37°C.

3.2.5. По окончании инкубации содержимое лунок собрать в сосуд с дезинфицирующим раствором, промыть лунки 7 раз промывочным раствором и удалить влагу, как описано выше (п. 3.2.3).

3.2.6. Приготовить раствор ТМБ в рабочем разведении (п. 3.1.3).

Во все лунки внести по **100 мкл раствора ТМБ в рабочем разведении**.

**Внимание!** Для внесения раствора ТМБ использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

Стрипы поместить на 30 мин в защищённое от света место при (18-25)°С.

3.2.7. Остановить реакцию добавлением в каждую лунку по **100 мкл стоп-реагента** и через 2-3 мин измерить оптическую плотность (ОП).

**Внимание!** Следует избегать попадания стоп-реагента (0,5 М  $H_2SO_4$ ) на одежду и открытые участки тела. При попадании – промыть большим количеством воды.

#### 4. РЕГИСТРАЦИЯ И ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты ИФА регистрировать с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр в диапазоне 620-650 нм. Допустима регистрация результатов только с фильтром 450 нм. Выведение спектрофотометра на нулевой уровень («бланк») осуществлять по воздуху.

Результаты исследований учитывать только при соблюдении следующих условий:

- среднее значение ОП в лунках с отрицательным контрольным образцом ( $ОП_{cp} K^-$ ) не более 0,25.
- значение ОП в лунке с положительным контрольным образцом ( $ОП K^+$ ) не менее 0,8.

Исследуемую сыворотку расценивать как положительную, если соответствующее ей значение  $ОП \geq ОП_{крит}$ , которую рассчитать по формуле:

$$ОП_{крит} = ОП_{cp} K^- + 0,15.$$

#### 5. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Наборы хранить и транспортировать при (2-8)°С. Допускается транспортирование при температуре до 25°С не более 10 суток. Не допускать замораживания.

Срок годности набора – 18 месяцев со дня выпуска.

Рекламации на качество набора направлять:

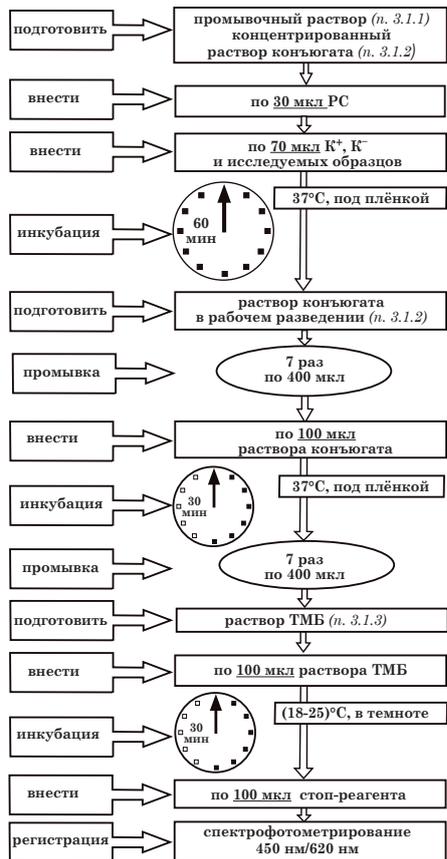
в **Государственный НИИ стандартизации и контроля медицинских препаратов (ГИСК) им. Л.А. Тарасевича** по адресу:

*119002, Москва, пер. Сивцев Вражек, 41,  
тел. (495) 241-39-22;*

в **ЗАО «Вектор-Бест»** по адресу:  
*630559, п. Кольцово Новосибирской обл., Новосибирского района, а/я 121,  
тел.: (383) 332-92-49, 227-60-30, 227-67-64,  
тел./факс: (383) 332-94-47, 332-94-44, 336-73-46,  
E-mail: vbobtk@vector-best.ru*

**02.11.09**

## Схема анализа D-0192



**ЗАКРЫТОЕ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО  
«ВЕКТОР-БЕСТ»**

Федеральная лицензия № 99-04-000086  
на производство, хранение и реализацию  
лекарственных средств

**КРУПНЕЙШИЙ В РОССИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЬ  
ИММУНОФЕРМЕНТНЫХ  
ДИАГНОСТИКУМОВ**

Вирусные гепатиты А, В, С, D  
Инфекции, передаваемые  
половым путём  
ВИЧ-инфекция  
TORCH-инфекции  
Клещевой энцефалит  
Паразитарные болезни  
Диагностика беременности  
Лабораторное оборудование

***Стабильное качество  
и точный результат  
для Вашей лаборатории!***

**Наш адрес:** 630117, Новосибирск-117, а/я 492

Тел.: (383) 332-37-58, 332-37-10, 332-36-34,  
332-67-49, 332-67-52

Тел./факс: (383) 227-73-60 (многоканальный)

E-mail: [vbmarket@online.nsk.su](mailto:vbmarket@online.nsk.su)

Internet: [www.vector-best.ru](http://www.vector-best.ru)