

## **ІНСТРУКЦІЯ З ВИКОРИСТАННЯ**

Набір реагентів  
для імуноферментного виявлення і підтвердження антитіл до ВІЛ-1,2  
та антигену р24 ВІЛ-1  
**«ВІЛ-1/2 АГ+АТ-ультра-БЕСТ»**

«ВІЛ-1/2 АГ+АТ-ультра-БЕСТ» являє собою набір, основою якого є рекомбінантні пептиди, котрі імітують антигени ВІЛ-1 та ВІЛ-2 й антитіла до ядерного антигену р24 ВІЛ-1, іммобілізовані на поверхні лунок планшета та входять до складу кон'югатів.

Один набір розрахований на проведення: (комплект 1) - 96 аналізів, (комплект 2) - 192 аналізи, (комплект 3) – 480 аналізів включаючи контролю. Всі набори стрипової комплектації. Набір адаптований для постановки ІФА на аналітичних аналізаторах відкритого типу («MULTISCAN», виробник «Labsystems», «TECAN SUNRISE», виробник «TECAN», «PR-2100», виробник «BIO-RAD» тощо).

### **1. ПРИЗНАЧЕННЯ**

Набір призначений для одночасного виявлення антигену р24 ВІЛ-1 та антитіл класів IgA, IgM, IgG до ВІЛ-1 та ВІЛ-2 в сироватці (плазмі) крові. Рекомендовано для первинної лабораторної діагностики ВІЛ-інфекції та обстеження донорів крові, органів, тканин людини.

Чутливість набору при визначенні антигену р24 ВІЛ-1 – 5 пг/мл.

Специфічність – 100%

### **2. СКЛАД НАБОРУ (з розрахунку на 1 планшет)**

- **планшет-імуносорбент** з іммобілізованими рекомбінантними антигенами ВІЛ-1,2 і антитілами до р24 ВІЛ-1 – 1шт.;
- позитивний контрольний зразок № 1, що містить антитіла до ВІЛ-1, інактивований (K1+) – 1 фл.;
- позитивний контрольний зразок № 2, що містить рекомбінантний р24 ВІЛ-1 (K2+) – 1 фл.;
- негативний контрольний зразок, інактивований (K-) – 2 фл.;
- кон'югат № 1 (біотинільовані антитіла до р24 ВІЛ-1) – 1 фл.;
- кон'югат № 2 (стрептавідін-пероксидаза і рекомбінантні білки ВІЛ-1 і ВІЛ-2, мічені пероксидазою хрину) – 1 фл.
- розчин для попереднього розведення (РПР) – 1 фл.;
- розчин для розведення кон'югату № 1 (РК1) – 1 фл.;
- розчин для розведення кон'югату № 2 (РК2) – 1 фл.;
- концентрат фосфатно-сольового буферного розчину з твіном (ФСБ-Тх25) – 2 фл.;
- субстратний буферний розчин (СБР) – 1 фл.;
- тетраметілбензідін (ТМБ), концентрат – 1 фл.;
- стоп-реагент – 1 фл., 12 мл;
- набір може додатково комплектуватися ванночками для реактивів, наконечниками для піпеток, плівкою для заклеювання планшетів.

### **3. ЗАХОДИ БЕЗПЕКИ**

При роботі з досліджувальними сироватками і контрольними зразками слід дотримуватись заходів безпеки, прийняті при роботі з потенційно інфекційним матеріалом: працювати в гумових рукавичках; не піпетувати розчини ротом; всі використані матеріали знезаразити відповідно до вимог чинного законодавства

#### **3.1. ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ (З РОЗРАХУНКУ НА 1 ПЛАНШЕТ)**

##### **3.1.1. Промиваючий розчин**

Збовтати вміст флакону з ФСБ-Тх25. При випаданні в концентраті осаду солей прогріти його до повного розчинення осаду.

У відповідності з кількістю використаних стрипів відібрати необхідну кількість ФСБ-Тх25 (див. табл.) і розвести його дистильованою водою до вказаного в таблиці об'єму. Зберігання: при (2-8)°C до 72 год.

### 3.1.2. Контрольні зразки

Розчинити контрольні зразки К1+, К2+ і К-, додавши в кожен флакон по 1,0 мл РПР.

Зберігання: при (2-8)°C до 1 місяця.

### 3.1.3. Розчини кон'югатів

**Увага!** Для роботи з кон'югатами рекомендуємо використовувати одноразові наконечники для піпеток.

Приготувати концентровані розчини кон'югатів шляхом розчинення вмісту кожного флакона з кон'югатами № 1 та № 2 в 1 мл РПР.

Зберігання: концентровані розчини кон'югатів – при (2-8)°C до 1 міс. В разі тривалішого зберігання – при мінус 20°С. Допускається 5-кратне перемороження.

**Увага!** Розчини кон'югатів № 1 і № 2 в робочих розведеннях готувати безпосередньо перед проведенням ІФА!

Ретельно збовтати вміст флаконів з РК1 і з РК2.

У пластикову ванночку відібрати необхідну кількість концентрованого розчину кон'югату № 1 (див. таблицю), додати відповідну кількість РК1, ретельно перемішати піпетуванням.

У іншу пластикову ванночку відібрати необхідну кількість концентрованого розчину кон'югата № 2 (див. таблицю), додати відповідну кількість РК2, ретельно перемішати піпетуванням.

Таблиця витрат реагентів

	Кількість використовуваних стрипів											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>Промиваючий розчин</b>												
ФСБ-Тх25, мл.	4	8	12	16	20	24	28	32	36	40	44	48
Дистильована 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
<b>Розчин кон'югату № 1 в робочому розведенні</b>												
Концентрований розчин кон'югату № 1, мкл	$\alpha^*$	2 $\alpha$	3 $\alpha$	4 $\alpha$	5 $\alpha$	6 $\alpha$	7 $\alpha$	8 $\alpha$	9 $\alpha$	10 $\alpha$	11 $\alpha$	12 $\alpha$
РК1, мл.	0,7	1,4	2,1	2,8	3,5	4,2	4,9	5,6	6,3	7,0	7,7	8,4
<b>Розчин кон'югату № 2 в робочому розведенні</b>												
Концентрований розчин кон'югату № 2, мкл	$\beta^*$	2 $\beta$	3 $\beta$	4 $\beta$	5 $\beta$	6 $\beta$	7 $\beta$	8 $\beta$	9 $\beta$	10 $\beta$	11 $\beta$	12 $\beta$
РК2, 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
<b>Розчин ТМБ в робочому розведенні</b>												
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

$$\alpha = 70 \text{ мкл} \quad \beta = 125 \text{ мкл}$$

### 3.1.4. Розчин ТМБ в робочому розведенні

**Увага!** Розчин ТМБ в робочому розведенні готувати безпосередньо перед використанням! Рекомендуємо виділити наконечники для піпеток, які використовувати лише для роботи з ТМБ.

У пластикову ванночку відібрати необхідну кількість концентрату ТМБ (див. таблицю), додати відповідну кількість СБР, ретельно перемішати піпетуванням.

**Увага!** Допустиме блакитне фарбування розчину ТМБ в робочому розведенні, яке не робить впливу на результати аналізу.

Розчин стабільний в захищеному від світла місці при (18-25)°C до 3-х год.

## 3.2. ПРОВЕДЕННЯ ІМУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛІЗУ

3.2.1. Приготувати промиваючий розчин (п. 3.1.1), контрольні зразки (п. 3.1.2), концентровані розчини кон'югатів (п. 3.1.3).

3.2.2. Приготувати розчин кон'югату № 1 в робочому розведенні (п. 3.1.3).

3.2.3. В одну лунку стрипа внести **70 мкл K1+**, в одну лунку – **70 мкл K2+**, в дві лунки – по **70 мкл K-**, в інші лунки – по **70 мкл** цільних тестованих сироваток.

Потім в усі лунки внести по **70 мкл** розчину кон'югату № 1 в робочому розведенні.

На даному етапі спостерігається зміна кольорової індикації.

Лунки заклеїти плівкою та інкубувати при **37°C 60 хв.**

За 5-10 хв. до закінчення інкубації приготувати розчин кон'югата № 2 в робочому розведенні.

3.2.4. Після закінчення інкубації вміст лунок зібрати в ємкість з дезінфікуючим розчином, промити лунки планшету 7 разів промиваючим розчином.

**Увага!** Кожну лунку при промиванні необхідно заповнювати повністю (**400 мкл промиваючого розчину**). Необхідно досягнути повного спорожнення лунок після кожного їх заповнення. Час між заповненням і спорожненням лунок має бути не менше 30 сек.

Після закінчення промивання необхідно ретельно видалити вологу з лунок, постукуючи перевернутим планшетом по складеному в декілька шарів фільтрувальному паперу. Не допускати висихання лунок планшетів між окремими операціями при постановці реакції.

3.2.5. В усі лунки планшету внести по **100 мкл розчину кон'югату № 2** в робочому розведенні.

Заклеїти лунки плівкою та інкубувати при **37°C 30 хв.**

Після закінчення інкубації вміст лунок зібрати у ємкість з дезінфікуючим розчином, лунки промити 7 разів промиваючим розчином, як описано вище.

3.2.6. Приготувати розчин ТМБ в робочому розведенні (п. 3.1.4).

В усі лунки внести по **100 мкл розчину ТМБ в робочому розведенні**.

**Увага!** Для внесення розчину ТМБ в робочому розведенні використовувати пластикову ванночку й одноразові наконечники, що входять до складу набору.

Планшет помістити в захищене від світла місце при **(18-25)°C** на **30 хв.**

3.2.7. Зупинити реакцію додаванням в усі лунки по **100 мкл** стоп-реагенту і через 2-3 хвилини виміряти оптичну густину (ОГ).

**Увага!** Слід уникати попадання стоп-реагенту на одяг і відкриті ділянки тіла. При попаданні – промити великою кількістю води.

#### 4. РЕЄСТРАЦІЯ ТА ОЦІНКА РЕЗУЛЬТАТІВ

Результати ІФА реєструвати за допомогою спектрофотометру, вимірюючи оптичну густину (ОГ) в двох хвильовому режимі: основний фільтр – 450 нм, референс-фільтр – в діапазоні 620-650 нм. Допустима реєстрація результатів лише з фільтром 450 нм. Виведення спектрофотометру на нульовий рівень («бланк») здійснювати по повітрю.

Результати досліджень враховувати лише при дотриманні наступних умов:

- середнє значення ОГ в лунках з негативним контрольним зразком (ОГ<sub>сер K-</sub>) не більше 0,25;
- значення ОГ в лунках з позитивними контрольними зразками K1+ і K2+ не менше 0,8. Досліджувану сироватку розцінювати **як позитивну**, якщо відповідне для неї значення ОГ перевищує або рівне ОГ<sub>крит</sub>, яку розрахувати за формулою:

$$ОГ_{крит} = ОГ_{сер K^-} + 0,1.$$

#### 5. УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ ТА ТРАНСПОРТУВАННЯ

Набори зберігати і транспортувати при **(2-8)°C**. Допускається транспортування при температурі до **25°C** не більше 10 діб.

**Не допускати заморожування!**

Термін придатності набору реагентів – 18 місяців з дня випуску.

З питань, що стосуються якості набору, звертатися в **ТОВ «Бест Діагностик»** за адресою:

04074, м. Київ-74, вул.Лугова, 9,

тел./факс: (044) 500-57-11

e-mail: info@bestdiagnostic.com.ua

Виробник залишає за собою право вразі вдосконалення набору вносити зміни до інструкції