КОПИЯ

"УТВЕРЖДАЮ"

Генеральный директор
ЗАО "ЭКОлаб"
_____ В.Ю.Борисов
"15" _____ 2018 г.

ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов "ИФА-ВИЧ-1,2-Ат"
Тест-система иммуноферментная для выявления суммарных антител к вирусам иммунодефицита человека типов 1 и 2 на основе рекомбинантных антигенов

Регистрационное удостоверение № ФСР 2012/13262 от 10.05.2018 г.

НАЗНАЧЕНИЕ

Выявление суммарных антител к вирусу иммунодефицита человека первого (включая группу О) и второго типов (ВИЧ-1,О и ВИЧ-2) в сыворотке (плазме) крови человека методом непрямого иммуноферментного анализа (ИФА) на твердофазном носителе при "ручной" постановке и с использованием ИФА-анализаторов[1].

СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

Набор выпускается в 2 базовых вариантах комплектации:

Иммуносорбент	рекомбинантные антигены ВИЧ-1,ВИЧ-1группы О и ВИЧ-2, сорбированные на 96-луночном разборном полистироловом планшете для иммунологических реакций с плоским дном	компл. № 1	компл. № 2	компл. № 1/2
		2 планшета (24 стрипа)	1 планшет (12 стрипов)	5 планшетов (60 стрипов)
	допускается раздельная упаковка стрипов (по 1-4 стрипа в пакете)			
Контрольный положительный образец (К$^+$)	инактивированный; содержит антитела к ВИЧ-1,О и ВИЧ-2; прозрачная жидкость красного цвета	1 фл. (2,0 мл)	1 фл. (2,0 мл)	1 фл. (6,0 мл)
Контрольный отрицательный образец (К$^-$)	инактивированный; прозрачная жидкость светло-желтого цвета	1 фл. (2,0 мл)	1 фл. (2,0 мл)	1 фл. (6,0 мл)
Конъюгат-1	меченые биотином рекомбинантные белки ВИЧ-1,О и ВИЧ-2; прозрачная жидкость синего цвета.	1 фл. (1,0 мл)	1 фл. (0,5 мл).	1 фл. (2,5 мл)
Раствор для разведения конъюгата-1 (РРК-1)	прозрачная или слегка опалесцирующая, бесцветная жидкость, допускается образование осадка, разбивающегося при встряхивании	1 фл. (13 мл).	1 фл. (7 мл).	1 фл. (30 мл)
Конъюгат 2	стрептавидин, конъюгированный с пероксидазой хрена; прозрачная или слегка опалесцирующая, бесцветная жидкость	1 фл. (1,0 мл)	1 фл. (0,5 мл)	1 фл. (2,5 мл)
Раствор для разведения конъюгата-2	прозрачная жидкость красного цвета	2 фл. (по 13 мл).	1 фл. (13 мл).	5 фл. (по 13 мл).

[1] В связи с отсутствием зарегистрированных в РФ панелей, включающих сыворотки с антителами к ВИЧ-1 группы О, возможность выявления антител этой группы подтверждается только процедурой изготовления набора, что ограничивает область его применения при выявлении указанных антител научными исследованиями.

КОПИЯ ВЕРНА
подпись
Ген. директор ЗАО "ЭКОлаб" Борисов В.Ю.
ЭКОлаб

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

КОПИЯ

(РРК-2)				
25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином **[(ФСБ-Т(х25)]**	слегка опалесцирующая пенящаяся жидкость, возможно выпадение осадка белого цвета, растворяющегося при температуре 37 °С в течение 30 мин	2 фл. (по 40 мл) или 1 фл. (80 мл)	1 фл. (40 мл)	3 фл. (по 100 мл)
Субстратный буферный раствор **(СБР)**	прозрачная бесцветная жидкость	2 фл. (по 13 мл).	1 фл. (13 мл).	5 фл. (по 13 мл).
Хромоген **(ТМБ)**	раствор тетраметилбензидина; прозрачная бесцветная или розового цвета жидкость	1 фл. (2,5 мл)	1 фл. (1,25 мл)	1 фл. (6,5 мл)
Стоп-реагент	прозрачная бесцветная жидкость	1 фл. (25 мл)	1 фл. (12,5 мл)	1 фл. (65 мл)

Вместо СБР и ТМБ в обоих комплектах может быть использован готовая смесь (СБР-ТМБ) - субстратный раствор с тетраметилбензидином:

Субстратный раствор с тетраметилбензидином **(СБР-ТМБ)**	прозрачная бесцветная или розового цвета жидкость	1 фл. (25 мл)	1 фл. (12,5 мл)	3 фл. (по 25 мл)

Примечания. 1. Набор включает все реагенты, необходимые для постановки ИФА, кроме очищенной (дистиллированной или деионизированной) воды.
2. ФСБ-Т(х25), СБР, СБР-ТМБ и стоп-реагент – унифицированы для всех наборов ЗАО "ЭКОлаб", в которых используются указанные реагенты.

По желанию потребителя набор может быть дополнительно укомплектован:
вспомогательными пластиковыми емкостями
одноразовыми наконечниками для автоматических пипеток
клейкой пленкой для планшетов

Компоненты набора упакованы в коробку, в коробку вложена инструкция по применению.

По желанию потребителя базовая комплектация набора (число индивидуальных упаковок с реагентами и их объемы) может быть изменена.

ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Базовый вариант комплекта № 1 рассчитан на исследование 192 образцов, включая контрольные.

Базовый вариант комплекта № 2 рассчитан на исследование 96 образцов, включая контрольные.

Базовый вариант комплекта № 1/2 рассчитан на исследование 480 образцов, включая контрольные.

Во всех комплектах для контрольных образцов используется 4 лунки.

Все комплекты позволяют проводить раздельные исследования с использованием необходимого количества стрипов:

Число стрипов	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Число иссл. обр.	1-4	5-12	13-20	21-28	29-36	37-44	45-52	53-60	61-68	69-76	77-84	85-92

ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

КОПИЯ ВЕРНА
подпись
Ген. директор ЗАО "ЭКОлаб" Борисов В.
РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ МОСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ г. ЭЛЕКТРОСТАЛЬ * ЗАКРЫТОЕ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО ЭКОлаб *

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

КОПИЯ

При наличии в исследуемом образце антител к ВИЧ-1,О и/или ВИЧ-2 они связываются с антигенами иммуносорбента, образующиеся комплексы связываются с конъюгатом-1 (меченые биотином рекомбинантные белки ВИЧ-1,О и ВИЧ-2), затем с конъюгатом-2 (стрептавидин, конъюгированный с пероксидазой хрена) и выявляются затем в реакции с субстратно-индикаторным раствором, содержащим хромоген – тетраметилбензидин, в результате которой меняется цвет (оптическая плотность) реакционной смеси в лунке планшета; изменение регистрируется спектрофотометрически.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диагностическая чувствительность при исследовании образцов с подтвержденным диагнозом ВИЧ-инфекции – 100%

Диагностическая специфичность при исследовании образцов крови доноров – 99,65%

ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Сыворотка (плазма) крови человека объемом не менее 50 мкл.

Образцы до исследования можно хранить не более 7 сут при температуре от 2 до 8 °С или до 3 мес при температуре минус 20 °С или более низкой. Допускается только однократное замораживание-размораживание образцов. Размороженные образцы перед исследованием тщательно перемешать.

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.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор биологически безопасен, однако с исследуемыми образцами необходимо обращаться как с потенциально инфицированным материалом, строго выполняя требования безопасности при серологических исследованиях материалов, потенциально инфицированных возбудителями I и II групп патогенности (СП 1.32322-08).

Стоп-реагент при попадании на незащищенную кожу и слизистые может вызывать химические ожоги. В случае попадания на кожу – немедленно промойте пораженный участок водой.

Класс потенциального риска применения в медицинских целях по ГОСТ Р 51609-2000 – 3.

СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

"РУЧНАЯ" ПОСТАНОВКА

Оборудование и материалы

Дозаторы пипеточные (пипетки полуавтоматические одно- и многоканальные переменного объема) для внесения реагентов в лунки планшета с погрешностью дозирования не более 5 % с наконечниками полипропиленовыми одноразовыми.

Ручные, или автоматические промыватели, или восьми- и двенадцатиканальные пипеточные дозаторы для промывания лунок планшета.

Спектрофотометр вертикального сканирования для измерения оптической плотности в лунках планшета при 450 нм и/или в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620-650 нм.

Центрифуга лабораторная на 2,5-3,0 тыс. об/мин, термостат на 37 °С, холодильник бытовой, фильтровальная бумага.

Вода очищенная (дистиллированная или деионизированная).

70 %-ный раствор спирта этилового и 6 %-ный раствор перекиси водорода (дез.растворы) или растворы иных дезинфектантов, разрешенных к применению СП 1.32322-08, кроме хлорсодержащих.

Приготовление рабочих растворов реагентов для ИФА

КОПИЯ ВЕРНА
подпись
Зам. ген. директора
Борисов В.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

КОПИЯ

Перед работой извлечь набор из холодильника, вскрыть упаковку и выдержать все реагенты перед проведением анализа не менее 30 мин при температуре от 18 до 25 °С.

Приготовление рабочего промывочного раствора (ФСБ-Т)

При выпадении осадка солей в ФСБ-Т(х25) прогреть его при температуре 37 °С до полного растворения осадка.

Для приготовления использовать соотношения объемов ФСБ-Т(х25) и воды, указанные в табл. 1 для разного числа стрипов.

Таблица 1

Число стрипов	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
ФСБ-Т(х25), мл	5	7	10	13	17	20	23	27	30	33	37	40
Вода очищенная, мл	до 125	до 175	до 250	до 325	до 425	до 500	до 575	до 675	до 750	до 825	до 925	до 1000

Готовый рабочий промывочный раствор хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 14 сут.

Приготовление рабочего раствора конъюгата-1

Готовить не менее чем за 10 мин до использования.

Для приготовления использовать соотношения объемов конъюгата-1 и РРК-1, указанные в табл. 2 для разного числа стрипов.

Таблица 2

Число стрипов	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Конъюгат-1, мкл												
РРК-1, мл	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	5,5	6,0

Примечание: объемы конъюгата-1 указываются для каждой серии набора.

Рабочий раствор конъюгата-1 допускается хранить перед употреблением не менее 3 ч при температуре от 18 до 25 °С, раствор стабилен в течение 6 ч при температуре от 2 до 8 °С.

Приготовление рабочего раствора конъюгата-2

Готовить не менее чем за 10 мин до использования.

Для приготовления использовать соотношения объемов конъюгата-2 и РРК-2, указанные в табл. 3 для разного числа стрипов.

Таблица 3

Число стрипов	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Конъюгат-2, мкл												
РРК-2, мл	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

Примечание: объемы конъюгата-2 указываются для каждой серии набора.

Рабочий раствор конъюгата-2 допускается хранить перед употреблением не менее 3 ч при температуре от 18 до 25 °С, раствор стабилен в течение 6 ч при температуре от 2 до 8 °С.

Приготовление субстратно-индикаторного раствора (при раздельной комплектацией СБР и ТМБ)

Готовить перед использованием в месте, защищенном от воздействия прямого солнечного света. Во вспомогательную пластиковую емкость внести вначале СБР, а затем ТМБ, тщательно перемешать полученный раствор.

Для приготовления использовать соотношения объемов СБР и ТМБ, указанные в табл. 4 для разного числа стрипов.

Таблица 4

Число стрипов	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

КОПИЯ ВЕРНА
подпись
Ген. директор ЗАО "ЭКОлаб" Борисов Б.М.
ЭКОлаб

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

КОПИЯ

СБР, мл	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
ТМБ, мкл	80	160	240	320	400	480	560	640	720	800	880	960

Субстратно-индикаторный раствор допускается хранить перед употреблением не менее 3 ч при температуре от 18 до 25 °С в защищенном от света месте, раствор стабилен в течение 6 ч при температуре от 2 до 8 °С.

Приготовление остальных реагентов

$К^-$, $К^+_{АТ}$, СБР-ТМБ (при комплектации готовым субстратным раствором с тетраметилбензидином) стоп-реагент готовы к использованию.

Неиспользованные реагенты хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности.

Проведение ИФА

Внимание! Соблюдение указанных ниже температуры и времени инкубации планшетов на каждой стадии постановки крайне важно для получения достоверных результатов.

1. Извлечь рамку планшета с необходимым числом стрипов. Неиспользованные стрипы из вскрытого пакета хранить в плотно закрытом пакете с влагопоглотителем при температуре от 2 до 8 °С.

Планшет промыть один раз рабочим промывочным раствором, внося в лунки 350-370 мкл раствора. При наличии промывателя, позволяющего производить промывку в режиме "Overflow", использовать именно этот режим. По окончании промывки удалить остатки влаги из лунок, постукивая планшетом по сложенной в несколько раз фильтровальной бумаге.

2. Во все лунки внести по 50 мкл рабочего раствора конъюгата-1.

В две лунки (напр., A1, B1) внести по 50 мкл $К^+$, в две лунки (напр., C1, D1) – по 50 мкл $К^-$, в остальные – по 50 мкл исследуемых образцов, перемешивая раствор в лунках пипетированием.

3. Планшет закрыть крышкой или клейкой пленкой. Инкубировать 30 мин при температуре 37 °С в защищенном от света месте.

4. С помощью промывателя удалить образцы из лунок, 6 раз промыть планшет промывочным раствором, как указано в п. 1.

5. Во все лунки внести по 100 мкл рабочего раствора конъюгата-2.

6. Планшет закрыть крышкой или клейкой пленкой. Инкубировать 30 мин при температуре 37 °С в защищенном от света месте.

7. С помощью промывателя удалить жидкость из лунок, 6 раз промыть планшет как указано в п. 1.

8. Во все лунки внести по 100 мкл субстратно-индикаторного раствора, планшет накрыть крышкой или заклеить клейкой пленкой, немедленно поместить в защищенное от света место и выдержать 15 мин при температуре 37 °С.

9. Во все лунки (в той же последовательности, с которой вносился субстратно-индикаторный раствор) внести по 100 мкл стоп-реагента, осторожно (постукиванием по планшету) перемешать содержимое лунок и через 5 мин, но не позднее чем через 20 мин приступить к учету результатов.

Регистрация и учет результатов

Результаты ИФА регистрировать спектрофотометрически, измеряя оптическую плотность (ОП) при длине волны 450 нм (допустимо использование фильтра сравнения с длиной волны 620 или 630 нм). Нулевой уровень ("бланк") установить по воздуху.

Результаты ИФА учитываются при следующих условиях:

среднее значение ОП в лунках с $К^-$ ($ОП_{К\text{-}ср}$) не более 0,2;

значение ОП в лунках с $К^+$ ($ОП_{К+}$) не менее 1,0.

Рассчитать $ОП_{крит}$ по формуле

$ОП_{крит} = ОП_{К\text{-}ср} + А$, где А = ……(указывается в паспорте для каждой серии набора).

КОПИЯ ВЕРНА
подпись
Ген. директор
ЭКОлаб
Борисов В.
РОССИЯ, МОСКОВСКАЯ ОБЛАСТЬ, г. ЭЛЕКТРОСТАЛЬ, ЗАКРЫТОЕ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО «ЭКОлаб»

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

КОПИЯ

Исследуемую сыворотку расценивать как ***положительную,*** т.е. содержащую антитела к ВИЧ-1,О, и/или к ВИЧ-2, если ОП исследуемой сыворотки равна или превышает $ОП_{крит.}$

Исследуемую сыворотку расценивать как ***отрицательную,*** если значение ОП сыворотки ниже $ОП_{крит.}$

ПОСТАНОВКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИФА-АНАЛИЗАТОРОВ

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

СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности набора – 1 год. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ

Хранение

В упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8 °С. Замораживание не допускается.

Транспортирование

При температуре от 2 до 8 °С. Замораживание не допускается. Допускается транспортирование при температуре от 9 до 25 °С в течение 10 сут.

УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для лечебно-профилактических и санитарно-эпидемиологических учреждений.

По вопросам, касающимся качества набора "ИФА-ВИЧ-1,2-Ат", следует обращаться по адресу 142530, Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д.1, тел: (49643)3-1374, 3-2311, факс 3-3143.

Директор ЗАО "ЭКОлаб" по научной работе С.Г.Марданлы

КОПИЯ ВЕРНА
ПОДПИСЬ
Зам. директора ЗАО "ЭКОлаб" Берлов В.А.
ЭКОлаб
ЗАКРЫТОЕ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО * ЭЛЕКТРОГОРСК * РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ МОСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

КОПИЯ

Сводная таблица приготовления рабочих разведений реагентов при дробных постановках

Число стрипов	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Рабочий промывочный раствор (ФСБ-Т)												
ФСБ-Т(х25), мл	5	7	10	13	17	20	23	27	30	33	37	40
Вода очищенная, мл	до 125	до 175	до 250	до 325	до 425	до 500	до 575	до 675	до 750	до 825	до 925	до 1000
Рабочий раствор конъюгата-1												
Конъюгат-1, мкл												
РРК-1, мл	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	5,5	6,0
Рабочий раствор конъюгата-2												
Конъюгат-2, мкл												
РРК-2, мл	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Субстратно-индикаторный раствор												
СБР, мл	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
ТМБ, мкл	80	160	240	320	400	480	560	640	720	800	880	960

Примечание: объемы конъюгата-1 и конъюгата-2 указываются для каждой серии набора

КРАТКАЯ СХЕМА ПОСТАНОВКИ ИФА

("ИФА-ВИЧ-1,2Ат")

Промыть	1 раз промывочным раствором
Внести	Во все лунки планшета – по 50 мкл рабочего раствора конъюгата-1. В две лунки – по 50 мкл $К^+$, в две лунки - по 50 мкл $К^-$. В остальные лунки - по 50 мкл исследуемых образцов
Инкубация	30 мин, 37 ^{0}С
Промыть	6 раз промывочным раствором
Внести	по 100 мкл рабочего раствора конъюгата-2 в каждую лунку
Инкубация	30 мин, 37 ^{0}С
Промыть	6 раз промывочным раствором
Внести	по 100 мкл субстратно-индикаторного раствора в каждую лунку
Инкубация	15 мин, 37 ^{0}С
Внести	по 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку
Измерить	ОП при 450 нм (референс 620-650 нм), «бланк» - по воздуху

КОПИЯ ВЕРНА
подпись
Ген. директор
ЗАО "ЭКОлаб"
Борисов В.Ю.
ЭКОлаб
ЗАО "ЭКОЛАБ" РОССИЯ МОСКОВСКАЯ ОБЛАСТЬ г. ЭЛЕКТРОСТАЛЬ

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru