«УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный директор
АО «Вектор-Бест»
_____ М.Д. Хусаинов
«03» _____ 2022 г.
м.п.

ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов
для иммуноферментного выявления антител к ВИЧ-1,2 и антигена р24 ВИЧ-1
(КомбиБест ВИЧ-1,2 АГ/АТ) (комплект 1)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор предназначен для одновременного выявления антигена р24 ВИЧ-1 и антител к ВИЧ-1 и ВИЧ-2 в сыворотке *(плазме)* крови. Рекомендуется для первичной лабораторной диагностики ВИЧ инфекции и обследования доноров крови, органов, тканей человека.

1.2. Набор рассчитан на проведение 192 анализов, включая контроли *(по 4 лунки в каждой постановке)*, возможны до 12 независимых постановок анализа в ручном режиме или 2 постановки по 96 анализов с использованием автоматических ИФА-анализаторов открытого типа.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия.

Метод выявления основан на твердофазном иммуноферментном анализе с применением рекомбинантных антигенов ВИЧ-1 и ВИЧ-2 и моноклональных антител к антигену р24 ВИЧ-1. При наличии в исследуемых образцах антител к ВИЧ-1 или ВИЧ-2 они связываются с рекомбинантными белками, иммобилизованными на поверхности лунок планшета *(первая инкубация)*, к образовавшемуся комплексу во время второй инкубации присоединяется конъюгат рекомбинантных белков ВИЧ с пероксидазой хрена. При наличии в исследуемом образце антигена р24 ВИЧ-1, он в ходе первой инкубации связывается с моноклональными антителами к р24, иммобилизованными на поверхности лунок планшета, и одновременно с биотинилированными поликлональными антителами к р24, присутствующими в растворе. В ходе второй инкубации к образовавшемуся комплексу присоединяется конъюгат стрептавидина с пероксидазой. Во время инкубации с раствором тетраметилбензидина происходит окрашивание раствора в лунках, содержащих образовавшиеся комплексы антиген-антитело. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации антител к ВИЧ-1,2 и антигена р24 ВИЧ-1 в анализируемых образцах. После измерения **оптической плотности (ОП)** раствора в лунках на основании рассчитанного значения $ОП_{крит}$ анализируемые образцы оцениваются как положительные или отрицательные.

2.2. Состав набора.

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

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

- планшет разборный с иммобилизованными рекомбинантными антигенами ВИЧ-1, ВИЧ-2 и антителами к антигену р24 ВИЧ-1, готовый для использования – 2 шт.;
- положительный контрольный образец № 1, содержащий антитела к ВИЧ-1, инактивированный ($К1^+$), готовый для использования – 1 фл., 1 мл;
- положительный контрольный образец № 2, содержащий рекомбинантный р24 ВИЧ-1, инакти-вированный ($К2^+$), готовый для использования – 1 фл., 1 мл;
- отрицательный контрольный образец, инак-тивированный ($К^-$), готовый для использования – 1 фл., 2 мл;
- конъюгат № 1 *(биотинилированные антитела к р24 ВИЧ-1)* – 1 фл.;
- конъюгат № 2 *(стрептавидин-пероксидаза и ре-ком-бинантные белки ВИЧ-1 и ВИЧ-2, меченные пероксидазой хрена)* – 1 фл. или 2 фл.;
- раствор для предварительного разведения (РПР) – 1 фл., 4 мл;
- раствор для разведения коньюгата № 1 (РК № 1) – 2 фл. по 9 мл;
- раствор для разведения конъюгата № 2 (РК № 2) – 2 фл. по 13 мл;
- 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 4 фл. по 28 мл;
- субстратный буферный раствор (СБР) – 2 фл. по 13 мл;
- тетраметилбензидин (ТМБ), концентрат – 1 фл., 1,5 мл;
- стоп-реагент – 1 фл., 21 мл.

Набор дополнительно комплектуется:

- ванночками для реагентов – 4 шт.;
- наконечниками для пипетки – 32 шт.;
- плёнками для заклеивания планшета – 4 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Результат качественного определения набором антител к ВИЧ-1 должен соответствовать требованиям СПП 05-2-380: **чувствительность** по антителам к ВИЧ-1 – 100%.

3.2. Результат качественного определения набором антител к ВИЧ-2 должен соответствовать требованиям СПП 05-2-428: **чувствительность** по антителам к ВИЧ-2 – 100%.

3.3. Минимальная концентрация антигена р24 ВИЧ-1, достоверно определяемая набором *(чувствительность по антигену р24 ВИЧ-1)*, должна быть не выше 10 пг/мл. Для определения чувствительности антигена р24 ВИЧ-1 использовать СПП 05-2-378.

3.4. Результат качественного определения набором антител к ВИЧ-1, ВИЧ-2 и антигена р24 ВИЧ-1 должен соответствовать требованиям СПП 05-2-429: **специфичность** по антителам к ВИЧ-1, ВИЧ-2 и антигену р24 ВИЧ-1 – 100%.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 3 *(ГОСТ Р 51609-2000)*.

4.2. Все компоненты набора, за исключением стоп-реагента *(раствор серной кислоты)*, являются нетоксичными. Раствор серной кислоты обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания раствора серной кислоты на кожу и слизистые необходимо промыть поражённый участок большим количеством проточной воды.

4.3. При работе с набором следует соблюдать требования МУ-287-113-00 и СП 1.3.2322-08.

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

4.4. Для дезинфекции исследуемых образцов, посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, следует использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, например, комбинированные средства на основе ЧАС *(четвертичных аммониевых соединений)*, спиртов, третичных аминов. Использование дезинфицирующих средств, содержащих кислород и хлор *(H_2O_2, деохлор, хлорамин)*, приводит к серьезному искажению результатов ИФА.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

- Спектрофотометр, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках планшета при длине волны 450 нм и/или в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–650 нм;
- термостат, поддерживающий температуру (37±1) °С или термостатируемый шейкер орбитального типа, позволяющий проводить встряхивание при 400–800 об/мин и температуре (37±1) °С;
- холодильник бытовой;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объёмом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 5 до 1000 мкл;
- пипетка полуавтоматическая многоканальная со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объёмы жидкостей до 350 мкл;
- промывочное устройство для планшетов;
- перчатки резиновые хирургические;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 100 мл;
- цилиндр вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- раствор дезинфицирующий.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

- Для внесения образцов в лунки стрипов следует использовать автоматические пипетки с погрешностью измерения объёмов не более 5%.
- 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 центрифуговать при 3000 об/мин 10–15 минут.
- Нельзя использовать проросшие, гемоли-зированные, гиперлипидные сыворотки или подвергавшиеся многократному замораживанию и оттаиванию.

7. ПРОВЕДЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

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

- Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать при температуре (18–25) °С не менее 30 минут.

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

- Для приготовления растворов и проведения ИФА следует использовать чистую мерную посуду и автоматические пипетки с погрешностью измерения объёмов не более 5%.
- Концентрированные растворы конъюгатов должны быть приготовлены, как минимум, за 15 минут до их использования.
- После отбора необходимого количества стрипов оставшиеся сразу упаковать в пакет с осушителем. Упакованные стрипы хранить при (2–8) °С, использовать в течение 1 месяца.
- Растворы ТМБ и конъюгата в рабочем разведении готовить непосредственно перед использованием. Исключить воздействие света на раствор ТМБ.
- При промывке лунки планшета заполнять полностью *(400 мкл промывочного раствора*) и не касаться лунок наконечником пипетки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 секунд.
- 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 планшета 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, ТМБ, стоп-реагент)*, которые взаимозаменяемы в наборах АО «Вектор-Бест».
- Запрещается повторное использование планшета для предварительного разведения сывороток;
- Для дезинфекции посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, использовать дезинфицирующие средства не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород или хлор, например, комбинированные средства на основе четвертичных аммониевых соединений, спиртов, третичных аминов.
- Посуду *(ванночки)*, наконечники для пипеток, используемые для работы с остальными реагентами, не обрабатывать дезинфицирующими растворами и моющими средствами, т.к. они не содержат инфекционного агента. В случае повторного использования посуду *(ванночки),* наконечники для пипеток промыть проточной водой, тщательно и многократно ополаскивая дистиллированной водой.
- Посуду *(ванночки)*, наконечники для пипеток, используемые для работы с ТМБ, в случае повторного использования, сразу после работы необходимо промыть 50% раствором этилового спирта, а затем дистиллированной водой.
- Пипетки и рабочие поверхности обрабатывать только 70% раствором этилового спирта. Не использовать перекись водорода, хлорамин и т.д.

7.2. Приготовление реагентов.

7.2.1. Промывочный раствор.

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

Содержимое 1 флакона *(28 мл)* с ФСБ-Т×25 развести дистиллированной водой **до 700 мл**. Тщательно перемешать.

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

При дробном использовании планшета в соответствии с таблицей расхода реагентов в зависимости от числа используемых стрипов отобрать необходимое количество концентрата ФСБ-Т×25 и развести его дистиллированной водой до указанного в таблице объёма.

Хранение: при (2–8) °С до 5 суток.

7.2.2. Контрольные образцы.

Контрольные образцы ($К1^+$, $К2^+$, $К^-$) готовы к использованию. Перед употреблением встряхнуть.

Хранение: после вскрытия при (2–8) °С до 3 месяцев.

7.2.3. Растворы конъюгатов.

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

Приготовить концентрированные растворы конъюгатов путём растворения содержимого каждого флакона с конъюгатами № 1 и № 2 в **1 мл РПР**.

Хранение: концентрированные растворы конъюгатов – при (2–8) °С до 1 мес. В случае более длительного хранения – при минус (18–40) °С. Допускается 5-кратное замораживание.

Внимание! *Растворы конъюгатов № 1 и № 2 в рабочих разведениях готовить непосред-ственно перед использованием!*

Отобрать из флакона **▲▲▲ мкл концентрированного раствора конъюгата № 1**, внести во флакон с РК № 1 и тщательно взболтать.

Отобрать из флакона **▲▲▲ мкл концентрированного раствора конъюгата № 2**, внести во флакон с РК № 2 и тщательно взболтать.

При дробном использовании планшета конъюгаты № 1 и № 2 в рабочих разведениях готовить в пластиковых ванночках, входящих в состав набора, в соответствии с **таблицей расхода реагентов** *(стр. 16)* в зависимости от числа используемых стрипов.

7.2.4. Раствор ТМБ в рабочем разведении.

Внимание! *Раствор ТМБ в рабочем разведении готовить непосредственно перед использованием! Рекомендуем выделить наконечники для пипеток, которые использовать только для работы с ТМБ.*

Во флакон с СБР добавить **650 мкл ТМБ** и тщательно взболтать.

При дробном использовании планшета раствор ТМБ в рабочем разведении готовить в пластиковой ванночке, входящей в состав набора, в соответствии с таблицей расхода реагентов в зависимости от числа используемых стрипов.

Хранение: в защищённом от света месте при (18–25) °С до 3 часов.

7.3. Проведение анализа.

7.3.1. Приготовить промывочный раствор *(п. 7.2.1)*, концентрированные растворы конъюгатов *(п. 7.2.3)*.

Внимание! *Промывочный раствор и концентрированные растворы конъюгатов должны быть приготовлены и выдержаны при температуре (18–25) °С, как минимум, за 15 минут до постановки ИФА.*

7.3.2. Приготовить раствор конъюгата № 1 в рабочем разведении *(п. 7.2.3)*.

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

7.3.3. В 1 лунку планшета внести **70 мкл К1^{+}**, в 1 лунку – **70 мкл К2^{+}**, в 2 лунки – по **70 мкл К$^{-}$**, в остальные лунки – по **70 мкл цельных тестируемых сывороток**.

Затем во все лунки внести по **70 мкл раствора конъюгата № 1 в рабочем разведении**.

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

При внесении раствора конъюгата нельзя касаться наконечником пипетки поверхности лунки и сыворотки, находящейся в ней. Содержимое лунок тщательно перемешать осторожным постукиванием по краям планшета.

Планшет заклеить плёнкой, инкубировать в соответствии с выбранной процедурой:

– **процедура 1** — (37±1) °С, термостат, **60 минут**;
– **процедура 2** — (37±1) °С, шейкер *(600 об/мин)*, **45 минут**.

Внимание! *При проведении анализа на автоматическом ИФА-анализаторе использовать только процедуру 2.*

За 5−10 минут до окончания инкубации приготовить раствор конъюгата № 2 в рабочем разведении.

7.3.4. По окончании инкубации содержимое лунок собрать в сосуд с дезинфицирующим раствором, промыть лунки 7 раз промывочным раствором.

Таблица расхода реагентов

Внимание! *Возможно проведение не более 12 независимых постановок анализа, независимо от числа стрипов, используемых в каждой постановке.*

	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 № 1 в рабочем разведении												
Концентрированный раствор конъюгата № 1, мкл	k_1*	$2\times k_1$	$3\times k_1$	$4\times k_1$	$5\times k_1$	$6\times k_1$	$7\times k_1$	$8\times k_1$	$9\times k_1$	$10\times k_1$	$11\times k_1$	$12\times k_1$
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
Раствор конъюгата № 2 в рабочем разведении												
Концентрированный раствор конъюгата	k2*	$2\times k_2$	$3\times k_2$	$4\times k_2$	$5\times k_2$	$6\times k_2$	$7\times k_2$	$8\times k_2$	$9\times k_2$	$10\times k_2$	$11\times k_2$	$12\times k_2$

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

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
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

k_1 = **▲▲▲ мкл** k_2 = **▲▲▲ мкл**

Значения коэффициентов k1 и k2 индивидуальны для каждой серии наборов

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 опорожнением лунок должно быть не менее 30 секунд.*

По окончании промывки необходимо тщательно удалить влагу из лунок, постукивая перевёрнутым планшетом по сложенной в несколько слоёв фильтровальной бумаге.

Не допускать высыхания лунок планшетов между отдельными операциями при постановке реакции.

7.3.5. Во все лунки планшета внести по **100 мкл раствора конъюгата № 2** в рабочем разведении.

Планшет заклеить плёнкой, инкубировать в соответствии с выбранной процедурой:

– **процедура 1** — (37±1) °С, термостат, **30 минут**;

– **процедура 2** — (37±1) °С, шейкер *(600 об/мин)*, **20 минут.**

Внимание! *При проведении анализа на автоматическом ИФА-анализаторе использовать только процедуру 2.*

По окончании инкубации содержимое лунок собрать в сосуд с дезинфицирующим раствором, лунки промыть 7 раз промывочным раствором, как описано выше.

7.3.6. Приготовить раствор ТМБ в рабочем разведении.

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

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

Планшет поместить в защищённое от света место при температуре (18–25) °С на **30 минут**.

7.3.7. Остановить реакцию добавлением во все лунки по **100 мкл стоп-реагента** и через 2–3 минуты измерить ОП.

Следует избегать попадания стоп-реагента на одежду и открытые участки тела. При попадании – промыть большим количеством воды.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты ИФА регистрировать с помощью спектрофотометра, измеряя ОП в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, рефренс-фильтр в диапазоне 620–650 нм. Допускается регистрация результатов только с фильтром 450 нм.

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

Выведение спектрофотометра на нулевой уровень *(«бланк»)* осуществлять по воздуху.

9. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

Результаты исследований учитывать только при соблюдении следующих условий:

– среднее значение ОП в лунках с К$^-$ (ОП$_{ср}$ К$^-$) не более 0,25;

– значение ОП в лунках с К1+ и К2$^+$ не менее 0,8.

Критическое значение оптической плотности (ОП$_{крит}$) рассчитать по формуле:

$$\mathbf{ОП_{крит} = ОП_{ср}\ К^- + 0{,}1.}$$

Исследуемую сыворотку расценивать как положительную, если соответствующее ей зна-чение ОП $\geq$ ОП$_{крит}$.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

10.1. Транспортирование набора должно проводиться при температуре (2–8) °С. Допускается транспортирование при температуре до 25 °С не более 10 суток.

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре (2–8) °С. Замораживание не допускается.

10.3. Срок годности набора реагентов – 12 месяцев со дня выпуска.

По вопросам, касающимся качества набора ***«КомбиБест ВИЧ-1,2 АГ/АТ»,*** *обращаться в* ***АО «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, 363-13-46.
E:mail: vbobtk@vector-best.ru

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ:

- Набор реагентов предназначен для профессионального применения и должен использоваться обученным персоналом;
- При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются *(утилизируются)* в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами». Дезинфекцию наборов следует проводить по МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения»;
- Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007;
- Не применять набор реагентов по назначению после окончания срока годности;
- Транспортирование должно проводиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида.
- Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и

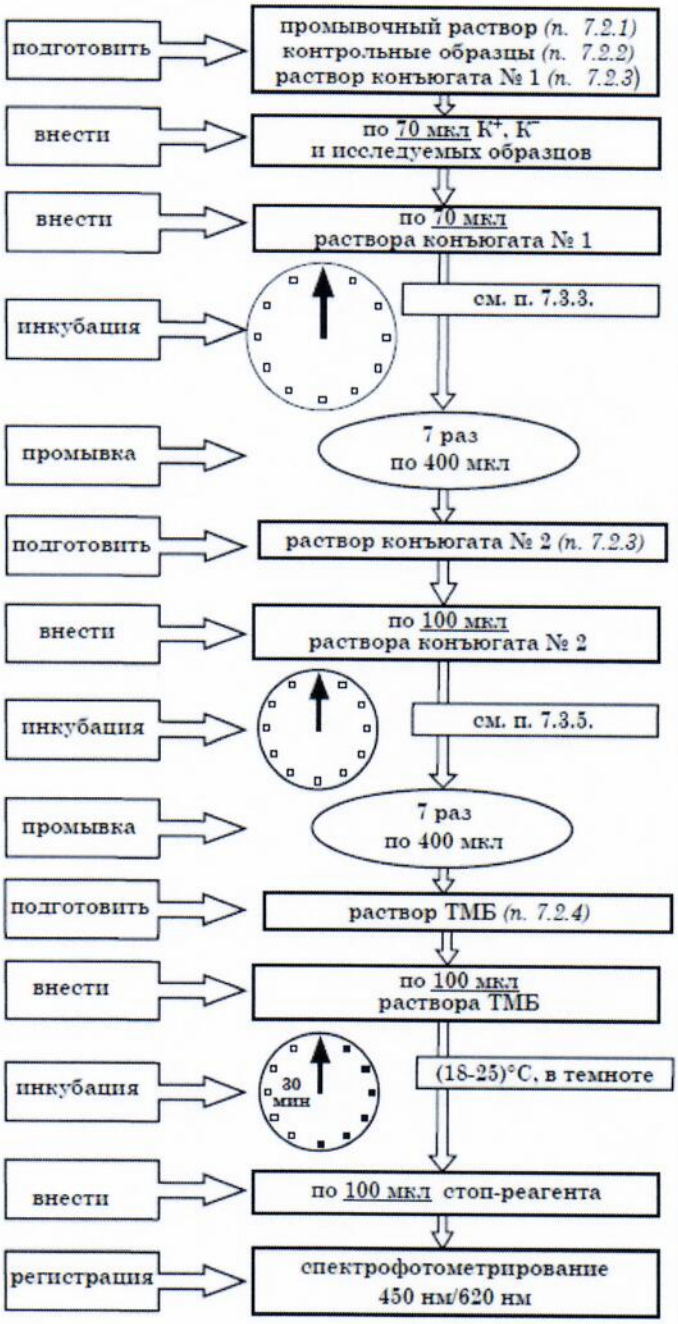
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

технической документации;

- Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности;
- Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.
- Производитель обязуется за свой счёт заменить изделие, технические и функциональные характеристики *(потребительские свойства)* которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

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

Схема анализа D-0151



ГРАФИЧЕСКИЕ СИМВОЛЫ

REF	Номер по каталогу	IVD	Медицинское изделие для диагностики *in vitro*
Σ n	Содержимого достаточно для проведения n количества тестов	NON STERILE	Не стерильно
LOT	Код партии		Температурный диапазон
	Дата изготовления: XXXX-XX-XX Формат даты: год-месяц-число		Изготовитель
	Использовать до: XXXX-XX-XX Формат даты: год-месяц-число		Обратитесь к Инструкции по применению
	Осторожно! Обратитесь к Инструкции по применению		

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 227-60-34.

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

«УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный директор
АО «Вектор-Бест»
_____ М.Д. Хусаинов
«07» октября 2022 г.
м.п.

ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов
для иммуноферментного
выявления антител к ВИЧ-1,2 и антигена р24 ВИЧ-1
(КомбиБест ВИЧ-1,2 АГ/АТ) (комплект 2)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор предназначен для одновременного выявления антигена р24 ВИЧ-1 и антител к ВИЧ-1 и ВИЧ-2 в сыворотке *(плазме)* крови. Рекомендуется для первичной лабораторной диагностики ВИЧ инфекции и обследования доноров крови, органов, тканей человека.

1.2. Набор рассчитан на проведение 96 анализов, включая контроли *(по 4 лунки в ка-ждой постановке)*, возможны 12 независимых постановок по 8 анализов в каждой в ручном режиме или 1 постановка 96 анализов с использованием автоматических ИФА-анализаторов открытого типа.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия.

Метод выявления основан на твердофазном иммуноферментном анализе с применением рекомбинантных антигенов ВИЧ-1 и ВИЧ-2 и моноклональных антител к антигену р24 ВИЧ-1. При наличии в исследуемых образцах антител к ВИЧ-1 или ВИЧ-2 они связываются с рекомбинантными белками, иммобилизованными на поверхности лунок планшета *(первая инкубация)*, к образовавшемуся комплексу во время второй инкубации присоединяется конъюгат рекомбинантных белков ВИЧ с пероксидазой хрена. При наличии в исследуемом образце антигена р24 ВИЧ-1, он в ходе первой инкубации связывается с моноклональными антителами к р24, иммобилизованными на поверхности лунок планшета, и одновременно с биотинилированными поликлональными антителами к р24, присутствующими в растворе. В ходе второй инкубации к образовавшемуся комплексу присоединяется конъюгат стрептавидина с пероксидазой. Во время инкубации с раствором тетраметилбензидина происходит окрашивание раствора в лунках, содержащих образовавшиеся комплексы антиген-антитело. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации антител к ВИЧ-1,2 и антигена р24 ВИЧ-1 в анализируемых образцах. После измерения **оптической плотности (ОП)** раствора в лунках на основании рассчитанного значения $ОП_{крит}$ анализируемые образцы оцениваются как положительные или отрицательные.

2.2. Состав набора.

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

- планшет разборный с иммобилизованными рекомбинантными антигенами ВИЧ-1, ВИЧ-2 и антителами к антигену р24 ВИЧ-1, готовый для использования – 1 шт.;
- положительный контрольный образец № 1, содержащий антитела к ВИЧ-1, инактивированный ($К1^+$), готовый для использования – 1 фл., 1,0 мл;
- положительный контрольный образец № 2, содержащий рекомбинантный р24 ВИЧ-1, инак-тивированный ($К2^+$), готовый для использования – 1 фл., 1 мл;

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

- отрицательный контрольный образец, инак-тивированный ($К^-$), готовый для использования – 1 фл., 2 мл;
- конъюгат № 1 *(биотинилированные антитела к р24 ВИЧ-1)* – 1 фл.;
- конъюгат № 2 *(стрептавидин-пероксидаза и рекомбинантные белки ВИЧ-1 и ВИЧ-2, меченные пероксидазой хрена)* – 1 фл. или 2 фл.;
- раствор для предварительного разведения (РПР) – 1 фл., 4 мл;
- раствор для разведения коньюгата № 1 (РК № 1) – 1 фл., 9 мл;
- раствор для разведения конъюгата № 2 (РК № 2) – 1 фл., 13 мл;
- 25-кратный 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.

Набор дополнительно комплектуется:

- ванночками для реагентов – 4 шт.;
- наконечниками для пипетки – 32 шт.;
- плёнками для заклеивания планшета –2 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Результат качественного определения набором антител к ВИЧ-1 должен соответствовать требованиям СПП 05-2-380: **чувствительность** по антителам к ВИЧ-1 – 100%.

3.2. Результат качественного определения набором антител к ВИЧ-2 должен соответствовать требованиям СПП 05-2-428: **чувствительность** по антителам к ВИЧ-2 – 100%.

3.3. Минимальная концентрация антигена р24 ВИЧ-1, достоверно определяемая набором, *(чувствительность по антигену р24 ВИЧ-1)* должна быть не выше 10 пг/мл. Для определения чувствительности антигена р24 ВИЧ-1 использовать СПП 05-2-378.

3.4. Результат качественного определения набором антител к ВИЧ-1, ВИЧ-2 и антигена р24 ВИЧ-1 должен соответствовать требованиям СПП 05-2-429: **специфичность** по антителам к ВИЧ-1, ВИЧ-2 и антигену р24 ВИЧ-1 – 100%.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 3 *(ГОСТ Р 51609-2000)*.

4.2. Все компоненты набора, за исключением стоп-реагента *(раствор серной кислоты)*, являются нетоксичными. Раствор серной кислоты обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания раствора серной кислоты на кожу и слизистые необходимо промыть поражённый участок большим количеством проточной воды.

4.3. При работе с набором следует соблюдать требования МУ-287-113-00 и СП 1.3.2322-08.

4.4. Для дезинфекции исследуемых образцов, посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, следует использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, например, комбинированные средства на основе ЧАС *(четвертичных аммониевых соединений)*, спиртов, третичных аминов. Использование дезинфицирующих средств, содержащих кислород и хлор *(H_2O_2, деохлор, хлорамин)*, приводит к серьёзному искажению результатов ИФА.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

- Спектрофотометр, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках планшета при длине волны 450 нм и/или в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–650 нм;
- термостат, поддерживающий температуру (37±1) °С или термостатируемый шейкер орбитального типа, позволяющий проводить встряхивание при 400-800 об/мин и температуре (37±1) °С;
- холодильник бытовой;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объёмом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 5 до 1000 мкл;

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

- пипетка полуавтоматическая многоканальная со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объёмы жидкостей до 350 мкл;
- промывочное устройство для планшетов;
- перчатки резиновые хирургические;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 100 мл;
- цилиндр вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- раствор дезинфицирующий.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Для внесения образцов в лунки стрипов следует использовать автоматические пипетки с погрешностью измерения объёмов не более 5%.

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 центрифуговать при 3000 об/мин 10–15 минут.

Нельзя использовать проросшие, гемоли-зированные, гиперлипидные сыворотки или подвергавшиеся многократному замораживанию и оттаиванию.

7. ПРОВЕДЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

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

- Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать при температуре (18–25) °С не менее 30 минут.
- Для приготовления растворов и проведения ИФА следует использовать чистую мерную посуду и автоматические пипетки с погрешностью измерения объёмов не более 5%.
- Концентрированные растворы конъюгатов должны быть приготовлены, как минимум, за 15 минут до их использования.
- После отбора необходимого количества стрипов оставшиеся сразу упаковать в пакет с осушителем. Упакованные стрипы хранить при (2–8) °С, использовать в течение 1 мес.
- Растворы ТМБ и конъюгата в рабочем разведении готовить непосредственно перед использованием. Исключить воздействие света на раствор ТМБ.
- При промывке лунки планшета заполнять полностью *(400 мкл промывочного раствора)* и не касаться лунок наконечником пипетки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 секунд.
- 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 планшета 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, ТМБ, стоп-реагент)*, которые взаимозаменяемы в наборах АО «Вектор-Бест».
- Запрещается повторное использование планшета для предварительного разведения сывороток;
- Для дезинфекции посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, использовать дезинфицирующие средства не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород или хлор, например, комбинированные средства на основе четвертичных аммониевых соединений, спиртов, третичных аминов.
- Посуду *(ванночки)*, наконечники для пипеток, используемые для работы с остальными реагентами, не обрабатывать дезинфицирующими растворами и моющими средствами, т.к. они не содержат инфекционного агента. В случае повторного использования посуду *(ванночки)*, наконечники для пипеток промыть проточной водой, тщательно и многократно ополаскивая дистиллированной водой.

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

- Посуду *(ванночки)*, наконечники для пипеток, используемые для работы с ТМБ, в случае повторного использования, сразу после работы необходимо промыть 50% раствором этилового спирта, а затем дистиллированной водой.
- Пипетки и рабочие поверхности обрабатывать только 70% раствором этилового спирта. Не использовать перекись водорода, хлорамин и т.д.

7.2. Приготовление реагентов.

7.2.1. 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)* и развести дистиллированной водой до указанного в таблице объёма или содержимое флакона *(28 мл)* – до **700 мл.**

Хранение: при (2–8) °С до 5 суток.

7.2.2. Контрольные образцы.

Контрольные образцы ($К1^+$, $К2^+$, $К^-$) готовы к использованию. Перед употреблением встряхнуть.

Хранение: после вскрытия при (2–8) °С до 3 мес.

7.2.3. Растворы конъюгатов.

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

Приготовить концентрированные растворы конъюгатов путём растворения содержимого каждого флакона с конъюгатами № 1 и № 2 в **1 мл РПР**.

Хранение: концентрированные растворы конъюгатов – при (2–8) °С до 1 мес. В случае более длительного хранения – при минус (18–40) °С. Допускается 5-кратное замораживание.

Внимание! *Растворы конъюгатов № 1 и № 2 в рабочих разведениях готовить в пластиковых ванночках, входящих в состав набора, непосредственно перед использованием!*

В пластиковую ванночку отобрать необходимое количество концентрированного раствора конъюгата № 1 *(см таблицу)*, добавить соответствующее количество РК № 1, тщательно перемешать пипетированием.

В другую пластиковую ванночку отобрать необходимое количество концентрированного раствора конъюгата № 2 *(см таблицу)*, добавить соответствующее количество РК № 2, тщательно перемешать пипетированием.

7.2.4. Приготовление раствора 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 соответствующее количество СБР, тщательно перемешать пипетированием.

Хранение: в защищённом от света месте при (18–25) °С до 3 часов.

7.3. Проведение анализа.

7.3.1. 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. 7.2.1)*, концентрированные растворы конъюгатов (*п. 7.2.3).*

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

Таблица расхода реагентов

Значения коэффициентов k1 и k2 индивидуальны для каждой серии наборов

	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	до	до	до	до	до	до	до	до	до	до	до
Раствор конъюгата № 1 в рабочем разведении												
Концентрированный раствор РК1, мл	k_1*	$2\times k_1$	$3\times k_1$	$4\times k_1$	$5\times k_1$	$6\times k_1$	$7\times k_1$	$8\times k_1$	$9\times k_1$	10×k	11×k	12×k
	0,7	1,4	2,1	2,8	3,5	4,2	4,9	5,6	6,3	7,0	7,7	8,4
Раствор конъюгата № 2 в рабочем разведении												
Концентрированный раствор РК2, мл	k_2*	$2\times k_2$	$3\times k_2$	$4\times k_2$	$5\times k_2$	$6\times k_2$	$7\times k_2$	$8\times k_2$	$9\times k_2$	10×k	11×k	12×k
	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

k_1 = **▲▲▲ мкл** k_2 = **▲▲▲ мкл**

Внимание! *Промывочный раствор и концентрированные растворы конъюгатов должны быть приготовлены, как минимум, за 15 минут до постановки ИФА и выдержаны при температуре (18–25) °С.*

7.3.2. Приготовить раствор конъюгата № 1 в рабочем разведении *(п. 7.2.3)*.

7.3.3. В 1 лунку планшета внести **70 мкл К1$^+$**, в 1 лунку – **70 мкл К2$^+$**, в 2 лунки – по **70 мкл К$^-$**, в остальные лунки – по **70 мкл цельных тестируемых сывороток**.

Затем во все лунки внести по **70 мкл раствора конъюгата № 1 в рабочем разведении**.

Внимание! *Для внесения раствора конъюгата использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, входящие в состав набора. При внесении раствора конъюгата нельзя касаться наконечником пипетки поверхности лунки и сыворотки, находящейся в ней. Содержимое лунок тщательно перемешать осторожным постукиванием по краям планшета.*

Планшет заклеить плёнкой, инкубировать в соответствии с выбранной процедурой:

процедура 1 — (37±1) °С, термостат; **60 минут**.
процедура 2 — (37±1) °С, шейкер *(600 об/мин)* **45 минут**.

Внимание! *При проведении анализа на автоматическом ИФА-анализаторе использовать только процедуру 2.*

За 5–10 мин до окончания инкубации приготовить раствор конъюгата № 2 в рабочем разведении.

7.3.4. По окончании инкубации содержимое лунок собрать в сосуд с дезинфицирующим раствором, промыть лунки стрипа 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 опорожнением лунок должно быть не менее 30 секунд.*

По окончании промывки необходимо тщательно удалить влагу из лунок, постукивая перевернутым планшетом по сложенной в несколько слоёв фильтровальной бумаге.

Не допускать высыхания лунок планшетов между отдельными операциями при постановке реакции.

7.3.5. Во все лунки планшета внести по **100 мкл раствора конъюгата № 2 в рабочем разведении**.

Планшет заклеить плёнкой, инкубировать в соответствии с выбранной процедурой:
процедура 1 — (37±1) °С, термостат, **30 минут.**

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

процедура 2 — (37±1) °С, шейкер (*600 об/мин*), **20 минут.**

Внимание! *При проведении анализа на автоматическом ИФА-анализаторе использовать только процедуру 2.*

По окончании инкубации содержимое лунок собрать в сосуд с дезинфицирующим раствором, лунки промыть 7 раз промывочным раствором, как описано выше.

7.3.6. Приготовить раствор ТМБ в рабочем разведении.

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

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

Планшет поместить в защищённое от света место при температуре (18–25) °С на **30 минут**.

7.3.7. Остановить реакцию добавлением в каждую лунку по **100 мкл стоп-реагента** и через 2–3 минуты измерить ОП.

Следует избегать попадания стоп-реагента на одежду и открытые участки тела. При попадании – промыть большим количеством воды.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты ИФА регистрировать с помощью спектрофотометра, измеряя ОП в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, рефренс-фильтр в диапазоне 620–650 нм. Допускается регистрация результатов только с фильтром 450 нм.

Выведение спектрофотометра на нулевой уровень *(«бланк»)* осуществлять по воздуху.

9. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

Результаты исследований учитывать только при соблюдении следующих условий:

– среднее значение ОП в лунках с отрицательным контрольным образцом ($ОП_{ср}$ $К^-$) **не более 0,25**;

– значение ОП в лунках с положительными контрольными образцами $К1^+$ и $К2^+$ **не менее 0,8**.

Критическое значение оптической плотности ($ОП_{крит}$)рассчитать по формуле:

$$ОП_{крит} = ОП_{ср}\ К^- + 0{,}1.$$

Исследуемую сыворотку расценивать как положительную, если соответствующее ей значение ОП $\geq ОП_{крит}$.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

10.1. Транспортирование набора должно проводиться при температуре (2–8) °С. Допускается транспортирование при температуре до 25 °С не более 10 сут.

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре (2–8) °С. Замораживание не допускается.

10.3. Срок годности набора реагентов – 12 месяцев со дня выпуска.

По вопросам, касающимся качества набора ***«КомбиБест ВИЧ-1,2 АГ/АТ»****, обращаться в* ***АО «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, 363-13-46.
E:mail: vbobtk@vector-best.ru

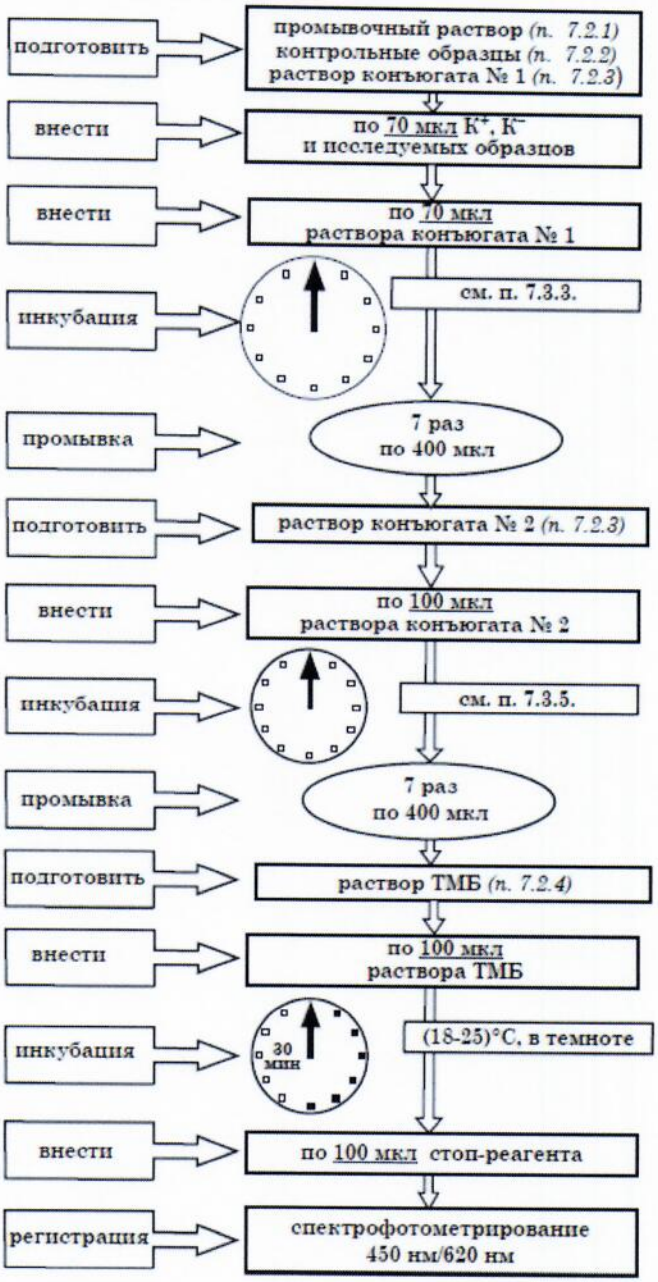
ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ:

- Набор реагентов предназначен для профессионального применения и должен использоваться обученным персоналом;
- При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются *(утилизируются)* в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами». Дезинфекцию наборов следует проводить по МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения»;

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

- Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007;
- Не применять набор реагентов по назначению после окончания срока годности;
- Транспортирование должно проводиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида.
- Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации;
- Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности;
- Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.
- Производитель обязуется за свой счёт заменить изделие, технические и функциональные характеристики *(потребительские свойства)* которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

Схема анализа D-0152



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

ГРАФИЧЕСКИЕ СИМВОЛЫ

	Номер по каталогу		Медицинское изделие для диагностики *in vitro*
	Содержимого достаточно для проведения n количества тестов		Не стерильно
	Код партии		Температурный диапазон
	Дата изготовления: XXXX-XX-XX Формат даты: год-месяц-число		Изготовитель
	Использовать до: XXXX-XX-XX Формат даты: год-месяц-число		Обратитесь к Инструкции по применению
	Осторожно! Обратитесь к Инструкции по применению		

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 227-60-34.

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