УТВЕРЖДАЮ
Заместитель Министра
Здравоохранения
Республики Беларусь

_____ В.Е.Шевчук
"09" 04 2009 г.

ИНСТРУКЦИЯ
ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ СУММАРНЫХ АНТИТЕЛ К ВИРУСУ ИММУНОДЕФИЦИТА ЧЕЛОВЕКА ПЕРВОГО И ВТОРОГО ТИПОВ В СЫВОРОТКЕ ИЛИ ПЛАЗМЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА МЕТОДОМ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

ИФА-Рекомбинант-HIV 1,2
Комплект 2

СП ООО "Фармлэнд",
Генеральный директор

_____ В.В.Голынников
"10" 01 2009 г.

КОПИЯ ВЕРНА

2009

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

1 Назначение набора

1.1 Набор предназначен для одновременного выявления антител классов A, G и M к вирусу иммунодефицита человека первого и второго типов (ВИЧ-1 и ВИЧ-2) в сыворотке или плазме крови человека “in vitro” методом твердофазного иммуноферментного «сэндвич»-анализа.

2 Характеристика и принцип работы набора

2.1 Состав набора:

Наименование компонента	Количество
Иммуносорбент	2 планшета
Положительный контрольный образец ($К^+$)	1 флакон, 3 мл
Отрицательный контрольный образец ($К^-$)	2 флакона по 3 мл
Раствор конъюгата №1 (РК-1)	1 флакон, 12 мл
Конъюгат №2 (Кг-2)	1 флакон, 1,0 мл
Раствор для разведения конъюгата №2 (РР-К2)	2 флакона по 16 мл
Раствор конъюгата №2 (РК-2) – ***вместо РР-К2 и Кг-2!***	2 флакона по 16 мл
Буферный раствор для субстрата (БРС)	2 флакона по 16 мл
Хромоген ТМБ	1 флакон, 1,0 мл
Раствор хромогена (РХ) – ***вместо БРС и хромогена ТМБ!***	2 флакона по 16 мл
25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25)	2 флакона по 50 мл
Стоп-реагент	1 флакон, 12 мл
Комплект ванночки для реагентов с наконечниками для многоканальных пипеток	3 комплекта
Клейкая пленка	6 штук

2.2 Основные компоненты набора "ИФА-Рекомбинант-HIV 1,2" – иммуносорбент, раствор конъюгата №1 и конъюгат №2 (раствор конъюгата №2).

Иммуносорбент представляет собой полистирольный планшет, в лунках которого сорбирована смесь рекомбинантных антигенов “env-I” и “env-II”, являющихся антигенными детерминантами белков ВИЧ-1 и ВИЧ-2:

а) антиген “env-I” представляет собой синтезированный в E. coli рекомбинантный полипептид, содержащий антигенные детерминанты гликопротеинов gp120 и gp41 ВИЧ-1;

б) антиген “env-II” представляет собой синтезированный в E. coli рекомбинантный полипептид, содержащий антигенные детерминанты гликопротеинов gp38 и gp110 ВИЧ-2.

Раствор конъюгата №1 представляет собой смесь меченых биотином моноклональных человеческих антител против антигена p24 ВИЧ-1 и меченых биотином рекомбинантных белков ВИЧ-1 и ВИЧ-2.

Конъюгат №2 (раствор конъюгата №2) представляет собой стрептавидин, конъюгированный с пероксидазой хрена.

Положительный контрольный образец – сыворотка крови человека, содержащая антитела к ВИЧ-1 и ВИЧ-2, не содержащая антитела к вирусу гепатита С, анти-

КОПИЯ ВЕРНА

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

ген p24 ВИЧ-1 и HBs-антиген, инактивированная прогреванием в течение 3 ч при температуре 56 °С.

Отрицательный контрольный образец – сыворотка крови человека, не содержащая антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2, ВГС, антиген p24 ВИЧ-1 и HBs-антиген, инактивированная прогреванием в течение 3 ч при температуре 56 °С.

При внесении в лунки планшета раствора конъюгата №1 и образцов сывороток инфицированной крови ВИЧ-специфические антитела связываются как с рекомбинантными антигенами ВИЧ-1 и ВИЧ-2, сорбированными на твердой фазе, так и с антигенами, входящими в состав раствора конъюгата №1, образуя комплексы антиген-антитело. Иммунные комплексы специфических антител и антигена выявляются конъюгатом №2 (раствором конъюгата №2). После отмывания несвязавшихся компонентов в лунки планшета добавляют раствор субстрата пероксидазы (перекись водорода) и хромогена ТМБ.

Пероксидазную реакцию останавливают, добавляя стоп-реагент (0,9 М раствор серной кислоты), и интенсивность окрашивания раствора в лунках измеряют на спектрофотометре как величину оптической плотности (ОП) при длине волны 450 нм.

Величина ОП прямо пропорциональна концентрации специфических антител в образце сыворотки или плазмы крови человека. Чем выше содержание антител в образце сыворотки, тем выше интенсивность окрашивания.

2.3 Набор рассчитан на проведение **24 постановок** ИФА: 1 постановка – 1 стрип (8 лунок). Всего – **192 определения**, включая контрольные образцы.

3 Меры предосторожности при работе с набором

3.1 Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными. Однако работа со всеми исследуемыми образцами сывороток (плазмы), которые следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции, с отработанными растворами и жидкостями, различным оборудованием, которое может быть загрязнено в процессе анализа, требует определенных мер безопасности при использовании набора:

- работу необходимо проводить в специально оборудованном помещении;
- работать необходимо с применением средств индивидуальной защиты и с соблюдением мер предосторожности в соответствии с требованиями [1], [2];
- в случае пролива сыворотки крови на рабочие поверхности, необходимо проводить дезинфекцию в соответствии с требованиями [3].

3.2 Стоп-реагент, содержащий серную кислоту, обладает раздражающим действием. При попадании на кожу и слизистые немедленно промыть большим количеством воды.

3.3 При работе с набором рабочие места должны быть обеспечены приточно-вытяжной вентиляцией.

3.4 Все лица, занятые при производстве наборов, должны проходить обязательный медицинский осмотр в соответствии с требованиями [4].

3.5 Утилизация медицинских отходов и/или неиспользованных наборов с истекшим сроком годности должна производиться в соответствии с требованиями [5].

Для документов
ПРОВЕРЕНА

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

4 Правила работы с набором

4.1 Для исключения ложных результатов исследуемые образцы необходимо готовить и хранить в условиях, предотвращающих бактериальный пророст. Необходимо осветлять образцы сывороток, содержащие агрегированные компоненты сыворотки или осадок, при помощи центрифугирования в течение 15 мин при скорости вращения 3000 об/мин. Образцы сывороток можно хранить при температуре (2-8) °С до 48 ч. Замороженные образцы (желательно до температуры не менее минус 20 °С) можно хранить до 3 месяцев. Необходимо избегать повторных циклов замораживания-оттаивания образцов.

Необходимо помнить, что образцы с гемолизом, гиперлипидемией, бактериальным проростом, а также длительно хранившиеся без замораживания не пригодны для анализа.

Надежность результатов зависит от выполнения следующих правил:

- не допускается использование набора после окончания срока годности, а также смешивание компонентов наборов разных серий;
- для приготовления каждого реагента должна использоваться отдельная емкость;
- всю используемую для приготовления реагентов посуду не обрабатывать дезрастворами и моющими средствами. В случае необходимости промыть водой питьевой проточной, а затем пять раз ополоснуть дистиллированной водой;
- для работы с хромогеном ТМБ и РХ необходимо использовать отдельные емкости для растворов, наконечники для пипеток, посуду.
- необходимо обратить внимание на тщательное перемешивание реагентов;
- время между заполнением и опорожнением лунок планшета растворами и реагентами должно быть не менее 30 с. Не допускается подсыхание лунок на всех этапах постановки ИФА;
- при использовании промывателя следить за состоянием емкости для раствора для промывания планшета и соединительных шлангов: в них не должно быть признаков бактериального или грибкового роста;
- необходимо использовать пипетки автоматические со сменными наконечниками, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (погрешность не более 3%);
- дозаторы и рабочие поверхности обрабатывать раствором с объемной долей спирта этилового 70 %. Не использовать хлорамин и другие хлорсодержащие вещества;
- для работы с исследуемыми сыворотками и контрольными образцами рекомендуется использовать одноразовые наконечники для пипеток. Каждый образец сыворотки, а также реагенты набора необходимо отбирать отдельным наконечником.
- при внесении в лунки РК-1 нельзя касаться наконечником пипетки поверхности планшета и раствора, находящегося в лунках.
- во время проведения анализа следует избегать попадания прямых солнечных лучей на рабочую поверхность.

5 Оборудование и материалы, необходимые для проведения анализа

5.1 Спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках планшета при длине волны 450 нм;

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

- полу- или автоматическое устройство для промывания планшетов (вошер);
- суховоздушный термостат типа ТС-80 М2, поддерживающий температуру (37±1) °С, или аналогичный ему по характеристикам;
- пипетки одноканальные автоматические со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 0,02 до 5,0 мл;
- пипетки 8-ми канальные автоматические со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости до 0,5 мл;
- мерный цилиндр вместимостью 2000 мл;
- колба лабораторная вместимостью 2000 мл;
- флаконы стеклянные вместимостью 20 мл;
- ванночки для реагентов или чашки Петри (диаметр 100 мм);
- вата медицинская гигроскопическая;
- бумага фильтровальная;
- перчатки резиновые хирургические;
- раствор с объемной долей спирта этилового 70%;
- раствор с массовой долей перекиси водорода 6 %;
- вода деионизированная или дистиллированная;
- контейнер для сбора твердых отходов;
- контейнер для слива жидких отходов.

6 Подготовка к проведению анализа

6.1 Набор реагентов перед проведением анализа извлечь из холодильника, открыть крышку коробки и выдержать компоненты набора при температуре (18-25) °С в течение 30 мин.

Все образцы сывороток (плазмы) и реагенты перед проведением анализа тщательно перемешать.

Расход реагентов набора для постановки анализа, который определяется количеством используемых стрипов, приведен в таблице 1.

6.2 Подготовка иммуносорбента

Иммуносорбент готов к использованию.

Открыть пакет и установить на рамку необходимое количество стрипов. Оставшиеся стрипы хранить в плотно закрытом пакете с влагопоглотителем при температуре (2-8) °С в течение 3 месяцев.

6.3 Приготовление раствора для промывания планшета

Внимание! Раствор для промывания планшета готовить за 15 мин до начала проведения анализа!

Если флакон с ФСБ-Т×25 содержит осадок, его необходимо прогреть перед использованием при температуре (37±1) °С до полного растворения осадка.

В мерный цилиндр вместимостью 2000 мл внести содержимое флакона с ФСБ-Т×25, затем добавить дистиллированной воды до метки 1250 мл и аккуратно перемешать раствор. Раствор можно хранить при температуре (2-8) °С в течение 72 ч.

В случае использования одного или несколько стрипов содержимое флакона с ФСБ-Т×25 интенсивно встряхнуть в течение (20-30) с, отобрать необходимый объем раствора (таблица 1) в мерный стакан или цилиндр, добавить необходимое количество дистиллированной воды и перемешать раствор.

КОПИЯ ВЕРНА

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

Неиспользованный ФСБ-Т×25 можно хранить в закрытом флаконе при температуре (2-8) °С в течение срока годности набора.

Таблица 1 – Расход реагентов набора для постановки ИФА

Объем реагента, мл	Количество используемых стрипов, шт.											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Приготовление раствора для промывания планшета												
ФСБ-Т×25	**4**	**8**	**12**	**16**	**20**	**24**	**28**	**32**	**36**	**40**	**44**	**50**
Дистиллиров. вода	**до 100**	**до 200**	**до 300**	**до 400**	**до 500**	**до 600**	**до 700**	**до 800**	**до 900**	**до 1000**	**до 1100**	**до 1250**
Приготовление раствора Кг-2 в рабочем разведении												
РР-К2	**1,3**	**2,7**	**4,0**	**5,3**	**6,6**	**8,0**	**9,3**	**10,6**	**12,0**	**13,3**	**14,6**	**16,0**
Кг-2	**a***	**a***	**a***	**a***	**a***	**a***	**a***	**a***	**a***	**a***	**a***	**a***
Приготовление рабочего раствора субстрата												
БРС	**1,3**	**2,7**	**4,0**	**5,3**	**6,6**	**8,0**	**9,3**	**10,6**	**12,0**	**13,3**	**14,6**	**16,0**
Хромоген ТМБ	**b***	**b***	**b***	**b***	**b***	**b***	**b***	**b***	**b***	**b***	**b***	**b***
* a = X мл (величина переменная, определяется для каждой серии набора). * b = X мл (величина переменная, определяется для каждой серии набора).												

6.4 Подготовка K^+, K^-, РК-1, РК-2, РР-К2, БРС, РХ и стоп-реагента

K^+, K^-, РК-1, РК-2, РР-К2, БРС, РХ и стоп-реагент готовы к использованию.

Внимание! Во флаконах с РК-1, РК-2 и РР-К2 возможно выпадение осадка. Перед использованием содержимое флаконов тщательно перемешать, не допуская образования пены.

Внимание! Необходимо исключить воздействие прямого солнечного света на флакон с РХ!

Неиспользованные РК-1, РК-2, РР-К2, БРС, РХ и стоп-реагент после вскрытия флаконов можно хранить в закрытых флаконах при температуре (2-8) °С в течение срока годности набора.

Остаток K^+ и K^- после вскрытия флакона можно хранить в закрытых флаконах при температуре (2-8) °С в течение срока годности набора.

6.5 Приготовление раствора Кг-2 в рабочем разведении

Из флакона с Кг-2 отобрать указанный в таблице 1 объем и перенести во флакон с РР-К2. Содержимое флакона тщательно перемешать, не допуская образования пены.

«ФАРМЛЭНД» Для документов
Республиканское унитарное предприятие Белорусское общество «Фармлэнд» г. Несвиж
КОПИЯ ВЕРНА
«07» 03.19

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

В случае использования одного или несколько стрипов в **чистый** флакон отобрать необходимое количество РР-К2, добавить Кг-2 в соответствии с таблицей 1 и перемешать раствор, не допуская образования пены.

Внимание! Раствор Кг-2 в рабочем разведении готовят непосредственно перед использованием! Раствор Кг-2 в рабочем разведении можно хранить в течение 15 мин при температуре (18-25) °С. Использовать только новую ванночку для реагентов и новые наконечники!

Остаток Кг-2 можно хранить в закрытом флаконе при температуре (2-8) °С в течение срока годности набора.

6.6 Приготовление рабочего раствора субстрата

Если флакон с хромогеном ТМБ содержит кристаллы, его необходимо прогреть перед использованием при температуре (37±1) °С до полного растворения кристаллов.

Из флакона с хромогеном ТМБ отобрать указанный в таблице 1 объем и перенести во флакон с БРС. Содержимое флакона тщательно перемешать, не допуская образования пены.

В случае использования одного или несколько стрипов в **чистый** флакон из темного стекла или пластика (прозрачный флакон обернуть флакон) отобрать необходимое количество БРС, добавить хромоген ТМБ в соответствии с таблицей 1 и перемешать раствор, не допуская образования пены.

Внимание! Рабочий раствор субстрата готовят непосредственно перед использованием в защищенном от света месте! Раствор можно хранить в течение 20 мин при температуре (18-25) °С в защищенном от света месте.

Раствор необходимо предохранять от попадания света и контакта с металлами или ионами металлов. Перед использованием раствор субстрата должен быть бесцветным. Посуду, которая будет в ходе реакции контактировать с раствором субстрата, отмывать без применения синтетических моющих средств. Использовать только новую ванночку для реагентов и новые наконечники!

Остаток хромогена ТМБ можно хранить в закрытом флаконе при температуре (2-8) °С в течение срока годности набора.

7 Требования к промыванию планшета

7.1 Для промывания планшета рекомендуется использовать автоматический или полуавтоматический промыватель – вошер; в случае отсутствия вошера можно промывать лунки 8-канальной пипеткой;

- на всех этапах промывания необходимо контролировать заполнение всех лунок и полное удаление (аспирацию) жидкости из них;
- необходимо при каждом промывании все лунки заполнить раствором до краев (0,30-0,35 мл в лунку), без переполнения и перетекания жидкости из соседних лунок;
- необходимо выдерживать лунки, заполненными раствором для промывания планшета, в течение 30 с;

Для документов

КОПИЯ ВЕРНА

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

- при каждой аспирации тщательно удалять остатки жидкости из лунок постукиванием рамкой со стрипами в перевернутом положении по сложенной в несколько раз фильтровальной бумаге, положенной на лист полиэтилена;
- некачественное промывание планшета приводит к получению некорректных результатов.

8 Проведение анализа

8.1 Промыть лунки планшета раствором для промывания планшета (п 6.3) **один раз.** При промывании во все лунки необходимо внести (0,30-0,35) мл раствора. По окончании промывания тщательно удалить остатки жидкости из лунок, постукивая планшетом в перевернутом положении по сложенной в несколько раз фильтровальной бумаге, положенной на лист полиэтилена.

8.2 Внести во все лунки планшетов по 0,05 мл (50 мкл) РК-1.

8.3 В любые две лунки планшета внести по **0,1 мл** (100 мкл) $К^+$, в три другие лунки планшета – по **0,1 мл** (100 мкл) $К^-$.

Внимание! При постановке ИФА на одном стрипе допускается использовать для $К^-$ – две лунки, для $К^+$ – одну лунку.

В остальные лунки планшета внести по 0,1 мл (100 мкл) исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови человека. Содержимое лунок перемешать пять раз пипетированием, при этом красный цвет РК-1 должен измениться на желтый.

Внимание! Время внесения контрольных и исследуемых образцов не должно превышать (5-10) мин! Каждый образец необходимо отбирать одноразовым наконечником!

8.4 Планшет заклеить пленкой или закрыть крышкой и инкубировать в термостате при температуре **(37±1) °С в течение 30 мин**.

Внимание! За (1-2) мин до окончания инкубации приготовить раствор Кг-2 в рабочем разведении (п 6.5).

8.5 Удалить содержимое лунок с помощью промывателя, затем промыть лунки планшета раствором для промывания планшета (п 6.3) **семь раз.**

8.6 Внести во все лунки планшета по 0,15 мл (150 мкл) раствора РК-2 или раствора Кг-2 в рабочем разведении (п 6.5) в зависимости от комплектации набора.

8.7 Планшет заклеить пленкой или закрыть крышкой и инкубировать в термостате при температуре **(37±1) °С в течение 30 мин**.

8.8 Удалить содержимое лунок планшета с помощью промывателя, затем промыть лунки планшетов раствором для промывания планшета (п 6.3) **семь раз.**

8.9 Во все лунки планшета внести по 0,15 мл (150 мкл) рабочего раствора субстрата (п 6.6) или РХ в зависимости от комплектации набора.

8.10 Планшет заклеить пленкой или закрыть крышкой и инкубировать в термостате при температуре **(37±1) °С в защищенном от света месте в течение 15 мин**.

Внимание! По окончании инкубации в лунках с образцами сывороток, содержащими антитела к ВИЧ-1 и/или ВИЧ-2, произойдет изменение окраски раствора различной интенсивности в зависимости от концентрации антител в исследуемом образце сыворотки: от бесцветной до голубой (при использовании рабочего раствора субстрата) или от розовой до синей (при использовании РХ).

«ФАРМЛЭНД» Для
КОПИЯ ВЕРНА

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

8.11 Остановить пероксидазную реакцию путем внесения во все лунки по 0,05 мл (50 мкл) стоп-реагента.

Внимание! В лунках с образцами сывороток, содержащими антитела к ВИЧ-1 и/или ВИЧ-2, произойдет изменение окраски раствора: с голубой на желтую (при использовании рабочего раствора субстрата) или с синей на желтую (при использовании РХ).

8.12 Не позже чем через 10 мин после остановки реакции определить значение ОП раствора в лунках:

- при использовании РХ – в двухволновом режиме: **450 нм** относительно **(620-700) нм**. Допускается измерение ОП в одноволновом режиме при длине волны 450 нм.

- при использовании рабочего раствора субстрата – в одноволновом режиме при длине волны 450 нм.

9 Оптический контроль точности внесение реагентов в лунки планшета

9.1 Значение ОП раствора в лунках, содержащих РК-1, измеренное при длине волны **450 нм**, должно быть **0,10 ОЕ** (п.8.3).

9.2 Значение ОП раствора в лунках после внесения раствора Кг-2 в рабочем разведении, измеренное при длине волны **450 нм**, должно быть **более 0,20 ОЕ** (п.8.6).

9.3 Значение ОП раствора в лунках после внесения раствора РК-2, измеренное при длине волны **450 нм**, должно быть **более 0,10 ОЕ** (п.8.6).

9.4 Значение ОП раствора в лунках после внесения раствора РХ, измеренное при длине волны **490 нм**, должно быть **более 0,08 ОЕ** (п.8.6).

10 Обработка результатов анализа

10.1 Рассчитать среднее значение ОП для лунок с $К^-$ – ОПср $К^-$, ОЕ; для лунок с $К^+$ – ОПср $К^+$, ОЕ.

10.2 Результаты учитывать только в том случае если:

- значение ОПср $К^-$ – не более 0,2 ОЕ;

- каждое отдельное значение ОП $К^-$ не должно отклоняться от ОПср $К^-$ более чем на 20%. Если одно из трех значений ОП $К^-$ выходит за этот предел, его следует исключить из расчета ОПср $К^-$. Если два из трех значений ОП $К^-$ выходят за этот предел, анализ следует повторить на реагентах нового набора;

- значение ОПср $К^+$ – не менее 1,0 ОЕ;

10.3 При соблюдении выше перечисленных условий вычислить критическое значение (ОПкрит.), ОЕ, по формуле (1):

$$ОПкрит. = ОПср\ К^- + 0{,}2 \quad (1).$$

Результат теста считать **положительным** при анализе на данном наборе реагентов, если значение ОП исследуемого образца сыворотки (плазмы) крови человека **больше** значения **ОПкрит**.

КОПИЯ ВЕРНА

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

Результат теста считать **отрицательным** при анализе на данном наборе реагентов, если значение ОП исследуемого образца сыворотки (плазмы) крови человека **меньше** значения **ОПкрит**.

При получении положительного результата этот же образец сыворотки исследовать повторно. При повторном получении положительного результата исследовать новую порцию сыворотки. Если и в этом случае будет получен положительный результат, сыворотку передать для дальнейшего изучения другими методами.

11 Форма выпуска набора

11.1 Набор выпускается в трех вариантах комплектации:

1 комплект 1 – проведение анализа ручным способом. Набор рассчитан на проведение 12 постановок ИФА на разборном планшете: 1 постановка – 1 стрип (8 лунок). Всего – 96 определений, включая контрольные образцы;

2 **комплект 2** – проведение анализа ручным способом. Набор рассчитан на проведение 24 постановок ИФА на **2 разборных** планшетах: 1 постановка – 1 стрип (8 лунок). Всего – **192 определения**, включая контрольные образцы;

3 комплект 3 – проведение анализа на автоматическом анализаторе. Набор рассчитан на проведение 24 постановок ИФА на 2 разборных планшетах: 1 постановка – 1 стрип (8 лунок). Всего – 192 определения, включая контрольные образцы.

12 Условия хранения и применения набора

12.1 Хранение набора должно производиться в чистом, защищенном от влаги и света помещении при температуре (2-8) °С в течение всего срока годности.

Запрещается замораживать компоненты набора.

12.2 Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

12.3 Срок годности набора – 12 месяцев.

Библиография

[1] Приказ № 66 от 20.04.93 г.
О мерах по снижению заболеваемости вирусными гепатитами в Республике Беларусь

[2] Приказ №351 от 16.12.98г.
Сборник нормативных документов по проблеме ВИЧ/СПИД

[3] ОСТ 42-21-2-85
Стерилизация и дезинфекция изделий медицинского назначения. Методы, средства и режимы

[4] Постановление № 33 Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 08.08.2000 г.
О порядке проведения обязательных медицинских осмотров работников

[5] Санитарные нормы и правила
СанПиН № 2.1.7.14-20-2005 Правила обращения с медицинскими отходами

«ФАРМЛЭНД» Для

КОПИЯ ВЕРНА

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

Инструкция составлена
сотрудниками СП ООО «Фармлэнд»:

Главным специалистом
СП ООО «Фармлэнд» Ю.В.Сенчук

Ведущим-технологом Е.И.Лаврецкой

Ведущим специалистом по
диагностическим тест-системам И.М.Богдановской

Республика Беларусь Белорусско-голландское совместное предприятие общество с ограниченной ответственностью «ФАРМЛЭНД» Для документов г. Несвиж

КОПИЯ ВЕРНА
довер №7н от 07.03.19
«Сенчук» 10.20 04

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

УТВЕРЖДАЮ
Заместитель Министра
Здравоохранения
Республики Беларусь

_____ В.Е.Шевчук
"09" 04 2009 г.

ИНСТРУКЦИЯ
ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ СУММАРНЫХ АНТИТЕЛ К ВИРУСУ ИММУНОДЕФИЦИТА ЧЕЛОВЕКА ПЕРВОГО И ВТОРОГО ТИПОВ В СЫВОРОТКЕ ИЛИ ПЛАЗМЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА МЕТОДОМ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

ИФА-Рекомбинант-HIV 1,2
Комплект 1

СП ООО "Фармлэнд"
Генеральный директор

_____ В.В.Голынников
"20" 01 2009 г.

КОПИЯ ВЕРНА
«___» _____ 20___ г.

2009

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

1 Назначение набора

1.1 Набор предназначен для одновременного выявления антител классов A, G и M к вирусу иммунодефицита человека первого и второго типов (ВИЧ-1 и ВИЧ-2) в сыворотке или плазме крови человека “in vitro” методом твердофазного иммуноферментного «сэндвич»-анализа.

2 Характеристика и принцип работы набора

2.1 Состав набора:

Наименование компонента	Количество
Иммуносорбент	1 планшет
Положительный контрольный образец ($К^+$)	1 флакон, 2 мл
Отрицательный контрольный образец ($К^-$)	1 флакон, 3 мл
Раствор конъюгата №1 (РК-1)	1 флакон, 6 мл
Конъюгат №2 (Кг-2)	1 флакон, 0,5 мл
Раствор для разведения конъюгата №2 (РР-К2)	1 флакон, 16 мл
Раствор конъюгата №2 (РК-2) – ***вместо РР-К2 и Кг-2!***	1 флакон, 16 мл
Буферный раствор для субстрата (БРС)	1 флакон, 16 мл
Хромоген ТМБ	1 флакон, 0,5 мл
Раствор хромогена (РХ) – ***вместо БРС и хромогена ТМБ!***	1 флакон, 16 мл
25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25)	1 флакон, 50 мл
Стоп-реагент	1 флакон, 6 мл
Комплект ванночки для реагентов с наконечниками для многоканальных пипеток	3 комплекта
Клейкая пленка	3 штуки

2.2 Основные компоненты набора "ИФА-Рекомбинант-HIV 1,2" – иммуносорбент, раствор конъюгата №1 и конъюгат №2 (раствор конъюгата №2).

Иммуносорбент представляет собой полистирольный планшет, в лунках которого сорбирована смесь рекомбинантных антигенов “env-I” и “env-II”, являющихся антигенными детерминантами белков ВИЧ-1 и ВИЧ-2:

а) антиген “env-I” представляет собой синтезированный в E. coli рекомбинантный полипептид, содержащий антигенные детерминанты гликопротеинов gp120 и gp41 ВИЧ-1;

б) антиген “env-II” представляет собой синтезированный в E. coli рекомбинантный полипептид, содержащий антигенные детерминанты гликопротеинов gp38 и gp110 ВИЧ-2.

Раствор конъюгата №1 представляет собой смесь меченых биотином моноклональных человеческих антител против антигена p24 ВИЧ-1 и меченых биотином рекомбинантных белков ВИЧ-1 и ВИЧ-2.

Конъюгат №2 (раствор конъюгата №2) представляет собой стрептавидин, конъюгированный с пероксидазой хрена.

Положительный контрольный образец – сыворотка крови человека, содержащая антитела к ВИЧ-1 и ВИЧ-2, не содержащая антитела к вирусу гепатита С, анти-

КОПИЯ ВЕРНА
«___» _____ 20___ г.

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

ген p24 ВИЧ-1 и HBs-антиген, инактивированная прогреванием в течение 3 ч при температуре 56 °С.

Отрицательный контрольный образец – сыворотка крови человека, не содержащая антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2, ВГС, антиген p24 ВИЧ-1 и HBs-антиген, инактивированная прогреванием в течение 3 ч при температуре 56 °С.

При внесении в лунки планшета раствора конъюгата №1 и образцов сывороток инфицированной крови ВИЧ-специфические антитела связываются как с рекомбинантными антигенами ВИЧ-1 и ВИЧ-2, сорбированными на твердой фазе, так и с антигенами, входящими в состав раствора конъюгата №1, образуя комплексы антиген-антитело. Иммунные комплексы специфических антител и антигена выявляются конъюгатом №2 (раствором конъюгата №2). После отмывания несвязавшихся компонентов в лунки планшета добавляют раствор субстрата пероксидазы (перекись водорода) и хромогена ТМБ.

Пероксидазную реакцию останавливают, добавляя стоп-реагент (0,9 М раствор серной кислоты), и интенсивность окрашивания раствора в лунках измеряют на спектрофотометре как величину оптической плотности (ОП) при длине волны 450 нм.

Величина ОП прямо пропорциональна концентрации специфических антител в образце сыворотки или плазмы крови человека. Чем выше содержание антител в образце сыворотки, тем выше интенсивность окрашивания.

2.3 Набор рассчитан на проведение **12 постановок** ИФА: 1 постановка – 1 стрип (8 лунок). Всего – **96 определений**, включая контрольные образцы.

3 Меры предосторожности при работе с набором

3.1 Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными. Однако работа со всеми исследуемыми образцами сывороток (плазмы), которые следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции, с отработанными растворами и жидкостями, различным оборудованием, которое может быть загрязнено в процессе анализа, требует определенных мер безопасности при использовании набора:

- работу необходимо проводить в специально оборудованном помещении;
- работать необходимо с применением средств индивидуальной защиты и с соблюдением мер предосторожности в соответствии с требованиями [1], [2];
- в случае пролива сыворотки крови на рабочие поверхности, необходимо проводить дезинфекцию в соответствии с требованиями [3].

3.2 Стоп-реагент, содержащий серную кислоту, обладает раздражающим действием. При попадании на кожу и слизистые немедленно промыть большим количеством воды.

3.3 При работе с набором рабочие места должны быть обеспечены приточно-вытяжной вентиляцией.

3.4 Все лица, занятые при производстве наборов, должны проходить обязательный медицинский осмотр в соответствии с требованиями [4].

3.5 Утилизация медицинских отходов и/или неиспользованных наборов с истекшим сроком годности должна производиться в соответствии с требованиями [5].

КОПИЯ ВЕРНА
«___» _____ 20___ г.

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

4 Правила работы с набором

4.1 Для исключения ложных результатов исследуемые образцы необходимо готовить и хранить в условиях, предотвращающих бактериальный пророст. Необходимо осветлять образцы сывороток, содержащие агрегированные компоненты сыворотки или осадок, при помощи центрифугирования в течение 15 мин при скорости вращения 3000 об/мин. Образцы сывороток можно хранить при температуре (2-8) °С до 48 ч. Замороженные образцы (желательно до температуры не менее минус 20 °С) можно хранить до 3 месяцев. Необходимо избегать повторных циклов замораживания-оттаивания образцов.

Необходимо помнить, что образцы с гемолизом, гиперлипидемией, бактериальным проростом, а также длительно хранившиеся без замораживания не пригодны для анализа.

Надежность результатов зависит от выполнения следующих правил:

- не допускается использование набора после окончания срока годности, а также смешивание компонентов наборов разных серий;
- для приготовления каждого реагента должна использоваться отдельная емкость;
- всю используемую для приготовления реагентов посуду не обрабатывать дезрастворами и моющими средствами. В случае необходимости промыть водой питьевой проточной, а затем пять раз ополоснуть дистиллированной водой;
- для работы с хромогеном ТМБ и РХ необходимо использовать отдельные емкости для растворов, наконечники для пипеток, посуду.
- необходимо обратить внимание на тщательное перемешивание реагентов;
- время между заполнением и опорожнением лунок планшета растворами и реагентами должно быть не менее 30 с. Не допускается подсыхание лунок на всех этапах постановки ИФА;
- при использовании промывателя следить за состоянием емкости для раствора для промывания планшета и соединительных шлангов: в них не должно быть признаков бактериального или грибкового роста;
- необходимо использовать пипетки автоматические со сменными наконечниками, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (погрешность не более 3%);
- дозаторы и рабочие поверхности обрабатывать раствором с объемной долей спирта этилового 70 %. Не использовать хлорамин и другие хлорсодержащие вещества;
- для работы с исследуемыми сыворотками и контрольными образцами рекомендуется использовать одноразовые наконечники для пипеток. Каждый образец сыворотки, а также реагенты набора необходимо отбирать отдельным наконечником.
- при внесении в лунки РК-1 нельзя касаться наконечником пипетки поверхности планшета и раствора, находящегося в лунках.
- во время проведения анализа следует избегать попадания прямых солнечных лучей на рабочую поверхность.

5 Оборудование и материалы, необходимые для проведения анализа

5.1 Спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках планшета при длине волны 450 нм;

КОПИЯ ВЕРНА
«___» _____ 20___ г.

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

- полу- или автоматическое устройство для промывания планшетов (вошер);
- суховоздушный термостат типа ТС-80 М2, поддерживающий температуру (37±1) °С, или аналогичный ему по характеристикам;
- пипетки одноканальные автоматические со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 0,02 до 5,0 мл;
- пипетки 8-ми канальные автоматические со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости до 0,5 мл;
- мерный цилиндр вместимостью 2000 мл;
- колба лабораторная вместимостью 2000 мл;
- флаконы стеклянные вместимостью 20 мл;
- ванночки для реагентов или чашки Петри (диаметр 100 мм);
- вата медицинская гигроскопическая;
- бумага фильтровальная;
- перчатки резиновые хирургические;
- раствор с объемной долей спирта этилового 70%;
- раствор с массовой долей перекиси водорода 6 %;
- вода деионизированная или дистиллированная;
- контейнер для сбора твердых отходов;
- контейнер для слива жидких отходов.

6 Подготовка к проведению анализа

6.1 Набор реагентов перед проведением анализа извлечь из холодильника, открыть крышку коробки и выдержать компоненты набора при температуре (18-25) °С в течение 30 мин.

Все образцы сывороток (плазмы) и реагенты перед проведением анализа тщательно перемешать.

Расход реагентов набора для постановки анализа, который определяется количеством используемых стрипов, приведен в таблице 1.

6.2 Подготовка иммуносорбента

Иммуносорбент готов к использованию.

Открыть пакет и установить на рамку необходимое количество стрипов. Оставшиеся стрипы хранить в плотно закрытом пакете с влагопоглотителем при температуре (2-8) °С в течение 3 месяцев.

6.3 Приготовление раствора для промывания планшета

Внимание! Раствор для промывания планшета готовить за 15 мин до начала проведения анализа!

Если флакон с ФСБ-Т×25 содержит осадок, его необходимо прогреть перед использованием при температуре (37±1) °С до полного растворения осадка.

В мерный цилиндр вместимостью 2000 мл внести содержимое флакона с ФСБ-Т×25, затем добавить дистиллированной воды до метки 1250 мл и аккуратно перемешать раствор. Раствор можно хранить при температуре (2-8) °С в течение 72 ч.

В случае использования одного или несколько стрипов содержимое флакона с ФСБ-Т×25 интенсивно встряхнуть в течение (20-30) с, отобрать необходимый объем раствора (таблица 1) в мерный стакан или цилиндр, добавить необходимое количество дистиллированной воды и перемешать раствор.

«ФАРМЛЭНД» Отдел документов
КОПИЯ ВЕРНА

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

Неиспользованный ФСБ-Т×25 можно хранить в закрытом флаконе при температуре (2-8) °С в течение срока годности набора.

Таблица 1 – Расход реагентов набора для постановки ИФА

Объем реагента, мл	Количество используемых стрипов, шт.											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Приготовление раствора для промывания планшета												
ФСБ-Т×25	**4**	**8**	**12**	**16**	**20**	**24**	**28**	**32**	**36**	**40**	**44**	**50**
Дистиллиров. вода	**до 100**	**до 200**	**до 300**	**до 400**	**до 500**	**до 600**	**до 700**	**до 800**	**до 900**	**до 1000**	**до 1100**	**до 1250**
Приготовление раствора Кг-2 в рабочем разведении												
РР-К2	**1,3**	**2,7**	**4,0**	**5,3**	**6,6**	**8,0**	**9,3**	**10,6**	**12,0**	**13,3**	**14,6**	**16,0**
Кг-2	**a***	**a***	**a***	**a***	**a***	**a***	**a***	**a***	**a***	**a***	**a***	**a***
Приготовление рабочего раствора субстрата												
БРС	**1,3**	**2,7**	**4,0**	**5,3**	**6,6**	**8,0**	**9,3**	**10,6**	**12,0**	**13,3**	**14,6**	**16,0**
Хромоген ТМБ	**b***	**b***	**b***	**b***	**b***	**b***	**b***	**b***	**b***	**b***	**b***	**b***
* a = X мл (величина переменная, определяется для каждой серии набора). * b = X мл (величина переменная, определяется для каждой серии набора).												

6.4 Подготовка K^+, K^-, РК-1, РК-2, РР-К2, БРС, РХ и стоп-реагента

K^+, K^-, РК-1, РК-2, РР-К2, БРС, РХ и стоп-реагент готовы к использованию.

Внимание! Во флаконах с РК-1, РК-2 и РР-К2 возможно выпадение осадка. Перед использованием содержимое флаконов тщательно перемешать, не допуская образования пены.

Внимание! Необходимо исключить воздействие прямого солнечного света на флакон с РХ!

Неиспользованные РК-1, РК-2, РР-К2, БРС, РХ и стоп-реагент после вскрытия флаконов можно хранить в закрытых флаконах при температуре (2-8) °С в течение срока годности набора.

Остаток K^+ и K^- после вскрытия флакона можно хранить в закрытых флаконах при температуре (2-8) °С в течение срока годности набора.

6.5 Приготовление раствора Кг-2 в рабочем разведении

Из флакона с Кг-2 отобрать указанный в таблице 1 объем и перенести во флакон с РР-К2. Содержимое флакона тщательно перемешать, не допуская образования пены.

«ФАРМЛЭНД» Для документов

КОПИЯ ВЕРНА
«___» _____ 20___ г.

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

В случае использования одного или несколько стрипов в **чистый** флакон отобрать необходимое количество РР-К2, добавить Кг-2 в соответствии с таблицей 1 и перемешать раствор, не допуская образования пены.

Внимание! Раствор Кг-2 в рабочем разведении готовят непосредственно перед использованием! Раствор Кг-2 в рабочем разведении можно хранить в течение 15 мин при температуре (18-25) °С. Использовать только новую ванночку для реагентов и новые наконечники!

Остаток Кг-2 можно хранить в закрытом флаконе при температуре (2-8) °С в течение срока годности набора.

6.6 Приготовление рабочего раствора субстрата

Если флакон с хромогеном ТМБ содержит кристаллы, его необходимо прогреть перед использованием при температуре (37±1) °С до полного растворения кристаллов.

Из флакона с хромогеном ТМБ отобрать указанный в таблице 1 объем и перенести во флакон с БРС. Содержимое флакона тщательно перемешать, не допуская образования пены.

В случае использования одного или несколько стрипов в **чистый** флакон из темного стекла или пластика (прозрачный флакон обернуть флакон) отобрать необходимое количество БРС, добавить хромоген ТМБ в соответствии с таблицей 1 и перемешать раствор, не допуская образования пены.

Внимание! Рабочий раствор субстрата готовят непосредственно перед использованием в защищенном от света месте! Раствор можно хранить в течение 20 мин при температуре (18-25) °С в защищенном от света месте.

Раствор необходимо предохранять от попадания света и контакта с металлами или ионами металлов. Перед использованием раствор субстрата должен быть бесцветным. Посуду, которая будет в ходе реакции контактировать с раствором субстрата, отмывать без применения синтетических моющих средств. Использовать только новую ванночку для реагентов и новые наконечники!

Остаток хромогена ТМБ можно хранить в закрытом флаконе при температуре (2-8) °С в течение срока годности набора.

7 Требования к промыванию планшета

7.1 Для промывания планшета рекомендуется использовать автоматический или полуавтоматический промыватель – вошер; в случае отсутствия вошера можно промывать лунки 8-канальной пипеткой;

- на всех этапах промывания необходимо контролировать заполнение всех лунок и полное удаление (аспирацию) жидкости из них;
- необходимо при каждом промывании все лунки заполнить раствором до краев (0,30-0,35 мл в лунку), без переполнения и перетекания жидкости из соседних лунок;
- необходимо выдерживать лунки, заполненными раствором для промывания планшета, в течение 30 с;

КОПИЯ ВЕРНА
«____» _____ 20____ г.

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

- при каждой аспирации тщательно удалять остатки жидкости из лунок постукиванием рамкой со стрипами в перевернутом положении по сложенной в несколько раз фильтровальной бумаге, положенной на лист полиэтилена;

- некачественное промывание планшета приводит к получению некорректных результатов.

8 Проведение анализа

8.1 Промыть лунки планшета раствором для промывания планшета (п 6.3) **один раз.** При промывании во все лунки необходимо внести (0,30-0,35) мл раствора. По окончании промывания тщательно удалить остатки жидкости из лунок, постукивая планшетом в перевернутом положении по сложенной в несколько раз фильтровальной бумаге, положенной на лист полиэтилена.

8.2 Внести во все лунки планшетов по 0,05 мл (50 мкл) РК-1.

8.3 В любые две лунки планшета внести по **0,1 мл** (100 мкл) $К^+$, в три другие лунки планшета – по **0,1 мл** (100 мкл) $К^-$.

Внимание! При постановке ИФА на одном стрипе допускается использовать для $К^-$ – две лунки, для $К^+$ – одну лунку.

В остальные лунки планшета внести по 0,1 мл (100 мкл) исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови человека. Содержимое лунок перемешать пять раз пипетированием, при этом красный цвет РК-1 должен измениться на желтый.

Внимание! Время внесения контрольных и исследуемых образцов не должно превышать (5-10) мин! Каждый образец необходимо отбирать одноразовым наконечником!

8.4 Планшет заклеить пленкой или закрыть крышкой и инкубировать в термостате при температуре **(37±1) °С в течение 30 мин.**

Внимание! За (1-2) мин до окончания инкубации приготовить раствор Кг-2 в рабочем разведении (п 6.5).

8.5 Удалить содержимое лунок с помощью промывателя, затем промыть лунки планшета раствором для промывания планшета (п 6.3) **семь раз.**

8.6 Внести во все лунки планшета по 0,15 мл (150 мкл) раствора РК-2 или раствора Кг-2 в рабочем разведении (п 6.5) в зависимости от комплектации набора.

8.7 Планшет заклеить пленкой или закрыть крышкой и инкубировать в термостате при температуре **(37±1) °С в течение 30 мин.**

8.8 Удалить содержимое лунок планшета с помощью промывателя, затем промыть лунки планшетов раствором для промывания планшета (п 6.3) **семь раз.**

8.9 Во все лунки планшета внести по 0,15 мл (150 мкл) рабочего раствора субстрата (п 6.6) или РХ в зависимости от комплектации набора.

8.10 Планшет заклеить пленкой или закрыть крышкой и инкубировать в термостате при температуре **(37±1) °С в защищенном от света месте в течение 15 мин.**

Внимание! По окончании инкубации в лунках с образцами сывороток, содержащими антитела к ВИЧ-1 и/или ВИЧ-2, произойдет изменение окраски раствора различной интенсивности в зависимости от концентрации антител в исследуемом образце сыворотки: от бесцветной до голубой (при использовании рабочего раствора субстрата) или от розовой до синей (при использовании РХ).

«ФАРМЛЭНД» документов
КОПИЯ ВЕРНА
«____» _____ 20 ___ г.

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

8.11 Остановить пероксидазную реакцию путем внесения во все лунки по 0,05 мл (50 мкл) стоп-реагента.

Внимание! В лунках с образцами сывороток, содержащими антитела к ВИЧ-1 и/или ВИЧ-2, произойдет изменение окраски раствора: с голубой на желтую (при использовании рабочего раствора субстрата) или с синей на желтую (при использовании РХ).

8.12 Не позже чем через 10 мин после остановки реакции определить значение ОП раствора в лунках:

- при использовании РХ – в двухволновом режиме: **450 нм** относительно **(620-700) нм**. Допускается измерение ОП в одноволновом режиме при длине волны 450 нм.

- при использовании рабочего раствора субстрата – в одноволновом режиме при длине волны 450 нм.

9 Оптический контроль точности внесение реагентов в лунки планшета

9.1 Значение ОП раствора в лунках, содержащих РК-1, измеренное при длине волны **450 нм**, должно быть **0,10 ОЕ** (п.8.3).

9.2 Значение ОП раствора в лунках после внесения раствора Кг-2 в рабочем разведении, измеренное при длине волны **450 нм**, должно быть **более 0,20 ОЕ** (п.8.6).

9.3 Значение ОП раствора в лунках после внесения раствора РК-2, измеренное при длине волны **450 нм**, должно быть **более 0,10 ОЕ** (п.8.6).

9.4 Значение ОП раствора в лунках после внесения раствора РХ, измеренное при длине волны **490 нм**, должно быть **более 0,08 ОЕ** (п.8.6).

10 Обработка результатов анализа

10.1 Рассчитать среднее значение ОП для лунок с $К^-$ – ОПср $К^-$, ОЕ; для лунок с $К^+$ – ОПср $К^+$, ОЕ.

10.2 Результаты учитывать только в том случае если:

- значение ОПср $К^-$ – не более 0,2 ОЕ;

- каждое отдельное значение ОП $К^-$ не должно отклоняться от ОПср $К^-$ более чем на 20%. Если одно из трех значений ОП $К^-$ выходит за этот предел, его следует исключить из расчета ОПср $К^-$. Если два из трех значений ОП $К^-$ выходят за этот предел, анализ следует повторить на реагентах нового набора;

- значение ОПср $К^+$ – не менее 1,0 ОЕ;

10.3 При соблюдении выше перечисленных условий вычислить критическое значение (ОПкрит.), ОЕ, по формуле (1):

$$ОПкрит. = ОПср\ К^- + \mathbf{0,2} \quad (1).$$

Результат теста считать **положительным** при анализе на данном наборе реагентов, если значение ОП исследуемого образца сыворотки (плазмы) крови человека **больше** значения **ОПкрит**.

Общество с ограниченной ответственностью «ФАРМЛЭНД» для документов г. Несвиж

КОПИЯ ВЕРНА
«___» _____ 20___ г.

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

Результат теста считать **отрицательным** при анализе на данном наборе реагентов, если значение ОП исследуемого образца сыворотки (плазмы) крови человека **меньше** значения **ОПкрит**.

При получении положительного результата этот же образец сыворотки исследовать повторно. При повторном получении положительного результата исследовать новую порцию сыворотки. Если и в этом случае будет получен положительный результат, сыворотку передать для дальнейшего изучения другими методами.

11 Форма выпуска набора

11.1 Набор выпускается в трех вариантах комплектации:

1 **комплект 1** – проведение анализа ручным способом. Набор рассчитан на проведение **12 постановок** ИФА на **разборном** планшете: 1 постановка – 1 стрип (8 лунок). Всего – **96 определений**, включая контрольные образцы;

2 комплект 2 – проведение анализа ручным способом. Набор рассчитан на проведение 24 постановок ИФА на 2 разборных планшетах: 1 постановка – 1 стрип (8 лунок). Всего – 192 определения, включая контрольные образцы;

3 комплект 3 – проведение анализа на автоматическом анализаторе. Набор рассчитан на проведение 24 постановок ИФА на 2 разборных планшетах: 1 постановка – 1 стрип (8 лунок). Всего – 192 определения, включая контрольные образцы.

12 Условия хранения и применения набора

12.1 Хранение набора должно производиться в чистом, защищенном от влаги и света помещении при температуре (2-8) °С в течение всего срока годности.

Запрещается замораживать компоненты набора.

12.2 Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

12.3 Срок годности набора – 12 месяцев.

Библиография

[1] Приказ № 66 от 20.04.93 г.
О мерах по снижению заболеваемости вирусными гепатитами в Республике Беларусь

[2] Приказ №351 от 16.12.98г.
Сборник нормативных документов по проблеме ВИЧ/СПИД

[3] ОСТ 42-21-2-85
Стерилизация и дезинфекция изделий медицинского назначения. Методы, средства и режимы

[4] Постановление № 33 Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 08.08.2000 г.
О порядке проведения обязательных медицинских осмотров работников

[5] Санитарные нормы и правила
СанПиН № 2.1.7.14-20-2005 Правила обращения с медицинскими отходами

КОПИЯ ВЕРНА
«____» _____ 20____ г.

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

Инструкция составлена
сотрудниками СП ООО «Фармлэнд»:

Главным специалистом
СП ООО «Фармлэнд» Ю.В.Сенчук

Ведущим-технологом Е.И.Лаврецкой

Ведущим специалистом по
диагностическим тест-системам И.М.Богдановской

Республика Беларусь
Белорусско-голландское совместное предприятие общество с ограниченной ответственностью
«ФАРМЛЭНД»
Для документов
г. Несвиж

КОПИЯ ВЕРНА
«____» _____ 20___ г.

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