УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
АО «Вектор-Бест»
_____ М.Д. Хусаинов
«___» _____ 2021 г.
м.п.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для иммуноферментного выявления антител к ВИЧ-1,2 и антигена р24 ВИЧ-1 для автоматических ИФА-анализаторов

«КомбиБест ВИЧ-1,2 АГ/АТ-авто»

(комплект 2/Чароит)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для иммуноферментного выявления антител к ВИЧ-1,2 и антигена р24 ВИЧ-1 «КомбиБест ВИЧ-1,2 АГ/АТ-авто» (далее по тексту – набор) предназначен для одновременного иммуноферментного качественного определения антигена р24 ВИЧ-1, антител к ВИЧ-1,2 (включая ВИЧ-1 группу О) в сыворотке (плазме) крови с использованием автоматических ИФА-анализаторов открытого типа.

Набор может быть использован для массового скрининга крови на станциях переливания крови и для диагностики ВИЧ инфекции как составная часть комплекса серологических реакций.

1.2. Комплект 2/Чароит рассчитан на проведение 96 анализов, включая контроли (по 4 лунки в каждой постановке). Возможно дробное (не более трёх постановок) использование набора. Набор предназначен для использования в анализаторе иммуноферментном автоматическом «Чароит» (Charoite) с принадлежностями.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

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

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

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. Степень окраски прямо пропорциональна концентрации антител к ВИЧ-1,2 и антигена р24 ВИЧ -1 в анализируемых образцах. После остановки реакции добавлением стоп-реагента результаты ИФА регистрируются измерением оптической плотности (ОП) в лунках планшета.

2.2. Состав набора

Компонент набора (сокращение) *описание*	Кол-во
Планшет разборный с иммобилизованными рекомбинантными антигенами ВИЧ-1, ВИЧ-2 и антителами к антигену р24 ВИЧ-1	1 шт.
Положительный контрольный образец №1 ($К1^+$) *Содержит антитела к ВИЧ-1.* *Содержит натрия азид (0,1 %).*	1 фл., 1,0 мл
Положительный контрольный образец №2 ($К2^+$) *Содержит рекомбинантный антиген р24 ВИЧ-1.* *Содержит натрия азид (0,1 %).*	1 фл., 1,0 мл
Отрицательный контрольный образец ($К^–$) *Не содержит антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2 и антиген р24 ВИЧ-1.* *Содержит натрия азид (0,1 %).*	1 фл., 2,0 мл
Конъюгат №1 *Биотинилированные антитела к р24 ВИЧ-1, лиофилизированный.*	1 фл.
Конъюгат №2 *Стрептавидин-пероксидаза и рекомбинантные белки ВИЧ-1 и ВИЧ-2, меченные пероксидазой хрена, лиофилизированный.*	1 или 2 фл.
Раствор для предварительного разведения (РПР). *Содержит фенол (0,15 %).*	1 фл., 8,0 мл
Раствор для разведения конъюгата №1 (РК1). *Содержит натрия азид (0,01 %).*	1 фл., 13,0 мл
Раствор для разведения конъюгата №2 (РК2). *Содержит натрия мертиолят (0,002 %), фенол (0,125 %).*	1 фл., 17,0 мл
Тетраметилбензидин, концентрат (ТМБ, концентрат). *Содержит 3,3',5,5' - тетраметилбензидин (0,7 %).*	1 фл., 1,5 мл
Субстратный буферный раствор (СБР).	1 фл., 20,0 мл
Концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25). *Содержит ProClin 300 (0,25 %).*	2 фл., по 28,0 мл
Стоп-реагент. *Содержит кислоту серную (4,9 %).*	1 фл., 21,0 мл
Схема расположения флаконов в штативе.	1 шт.
Пробки резиновые	4 шт.

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

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Диагностическая чувствительность оценивалась при клинических исследованиях:

- 672 серопозитивных образцов сыворотки (плазмы) крови и составила 100% (интервал 99,6%-100% с доверительной вероятностью 90%);

Диагностическая специфичность оценивалась при клинических исследованиях:

- 316 серонегативных образцов сыворотки (плазмы) крови составила 100% (интервал 99,1%-100% с доверительной вероятностью 90%).

3.2. Минимальная концентрация антигена p24 ВИЧ-1, достоверно определяемая набором (чувствительность по антигену p24 ВИЧ-1), не превышает 20 пг/мл (1,0 МЕ/мл).

3.3. Аналитическая специфичность:

Отсутствие ложнопозитивных результатов при анализе 826 образцов клинического материала пациентов, свободных от ВИЧ-инфекции, в том числе: 182 образцов сыворотки (плазмы) крови пациентов с соматическими заболеваниями: (онкологическими (рак печени, поджелудочной железы, предстательной железы, яичника, прямой кишки, толстого кишечника), сердечно-сосудистыми (ревмокардит, заболевания сосудов головного мозга, ишемическая болезнь сердца, артериальная гипертензия), органов дыхания (бронхиальная астма, пневмония, обструктивная болезнь легких, бронхит), эндокринными (сахарный диабет, гипертиреоз, гипотиреоз), поражениями печени и почек (гепатоз, цирроз, мочекаменная болезнь, пиелонефрит); 200 образцов сыворотки (плазмы) крови беременных женщин; 68 образцов сыворотки (плазмы) крови пациентов, содержащих суммарные антитела к ревматоидному фактору; 376 образцов сыворотки (плазмы) крови, содержащих антитела к вирусам гепатитов A, B, C, вирусам простого герпеса 1 и 2 типа, цитомегаловирусу, вирусу Эпштейна-Барр, вирусу кори, вирусу эндемического паротита, вирусу клещевого энцефалита, Helicobacter pylory, Treponema pallidum, Trichomonas vaginalis, Mycoplasma pneumoniae, Mycoplasma hominis, Chlamydia trachomatis, Chlamydophila pneumoniae, Toxoplasma gondi свидетельствует об отсутствии кросс-реактивности и высокой специфичности.

3.4. Потенциально интерферирующие вещества – триглицериды в концентрации до 40 мг/мл; билирубин в концентрации до 0,2 мг/мл, гемоглобин в концентрации до 5 мг/мл – не оказывают влияния на получение правильных результатов.

3.5. Воспроизводимость:

Внутрипланшетная воспроизводимость анализа была оценена при тестировании 3 положительных образцов, содержащих антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2, антиген p24 ВИЧ-1, в 32 повторах каждый. Коэффициент вариации оптической плотности (ОП) не превышал 8%.

Межпостановочная воспроизводимость анализа была оценена при тестировании 3 положительных образцов, содержащих антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2, антиген p24 ВИЧ-1, в 8

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

повторах каждый, в 4 независимых постановках. Коэффициент вариации ОП не превышал 8%.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 3 (Приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).

4.2. Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом. Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

4.3. Стоп-реагент (содержит серную кислоту), концентрат ТМБ (содержит тетраметилбензидин) обладают раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента, концентрата ТМБ на кожу и слизистые необходимо промыть загрязненный участок большим количеством проточной воды. Некоторые компоненты содержат натрия азид, натрия мертиолят, фенол, ProClin 300 в концентрациях, указанных в п. 2.2. «Состав набора».

Все компоненты, содержащие в своем составе материалы человеческого происхождения, инактивированы.

4.4. При работе с исследуемыми и контрольными образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом. Основные правила изложены в «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР 17 января 1991 г.

4.5. При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствие с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

4.6. Дезинфекцию наборов реагентов, посуды и материалов, контактировавших с исследуемыми и контрольными образцами, следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

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

- Анализатор иммуноферментный автоматический «Чароит» (Charoite) с принадлежностями;
- холодильник бытовой;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- дезинфицирующие средства.

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

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Требования к условиям и процедурам ведения преаналитического этапа клинических лабораторных исследований с целью исключения или ограничения влияния эндогенных, экзогенных, ятрогенных и иных факторов, мешающих правильному отражению состояния внутренней среды обследуемых пациентов в результатах клинических лабораторных исследований изложены в ГОСТ Р 53079.4-2008 «Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа».

Взятие, транспортирование и хранение исследуемого материала осуществляется согласно МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории», утвержденным Роспотребнадзором и Рекомендациям «Организация преаналитического этапа при централизации лабораторных исследований», одобренным профильной комиссией Минздрава России по клинической лабораторной диагностике 30.05.2013.

6.2. Для анализа использовать образцы сыворотки, плазмы (полученной с использованием в качестве антикоагулянтов цитрата натрия, ЭДТА, гепарина) крови человека.

6.3. Образцы сыворотки (плазмы) крови хранить при температуре (2–8) °С не более 5 суток или при температуре минус 18 °С и ниже, если требуется более длительное хранение. После размораживания образцы необходимо тщательно перемешать.

6.4. Образцы, содержащие взвешенные частицы, необходимо очистить центрифугированием.

7. ПОДГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

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

– Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать при температуре (18-26) °С не менее 30 минут.

– Для приготовления растворов следует использовать чистую мерную посуду.

– При дробном использовании набора после отбора необходимого количества стрипов оставшиеся стрипы сразу упаковать в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух и плотно закрыть замок; упакованные стрипы, плотно закрытые флаконы с исходными компонентами хранить при температуре (2-8) °С, использовать в течение всего срока годности набора.

– Допускается хранение ФСБ-Т×25 и стоп-реагента при температуре (2-30) °С.

– Необходимо следить за состоянием емкости для промывочного раствора и соединительных шлангов: в них не должно быть «заростов». Раз в неделю емкость для

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

промывочного раствора и шланги промывать 70 % спиртом.

– При дробном использовании набора нельзя использовать компоненты из разных наборов даже одной серии или смешивать их при объединении остатков набора, поскольку автоматический анализатор контролирует использованный объём раствора.

– 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 и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС (четвертичных аммониевых соединений), спиртов, третичных аминов.

– Рабочие поверхности обрабатывать только 70 % раствором этилового спирта. Не использовать перекись водорода, хлорамин.

7.2. Промывочный раствор

Тщательно перемешать содержимое флакона с ФСБ-Т×25. При выпадении осадка солей в концентрате прогреть его перед разведением при температуре (30-40) °С до полного растворения осадка.

ФСБ-Т×25 развести дистиллированной водой в 25 раз (например, содержимое 1 флакона с ФСБ-Т×25 (28,0 мл) довести дистиллированной водой до 700 мл).

Хранение: промывочный раствор хранить при температуре (2-8) °С не более 1 месяца или при температуре (18-26) °С не более 7 суток.

7.3. Концентрированные растворы конъюгата №1 и конъюгата №2.

Приготовить концентрированный раствор конъюга № 1 путем растворения содержимого флакона с конъюгатом №1 в ___ мл* РПР.

Приготовить концентрированный раствор конъюга № 2 путем растворения содержимого флакона с конъюгатом №2 в ___ мл* РПР.

*Значения объемов РПР указаны в паспорте и инструкции на конкретную серию набора.

В случае комплектования набора двумя флаконами конъюгата №2 объединить содержимое двух флаконов с концентрированным раствором конъюгата №2 в одном флаконе.

Установить флаконы с концентрированными растворами конъюгатов №1 и №2 в штатив с реагентами согласно схеме расположения флаконов в штативе.

Хранение: концентрированные растворы конъюгатов №1 и №2 хранить не более 1 месяца при температуре (2-8)°С.

7.4. Контрольные образцы К1^{+}, К2^{+} и К$^{-}$, стоп-реагент готовы к использованию.

8. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Внимание! *Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать при температуре (18-26) °С не менее 30 минут.*

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

8.1. Отделить нижнюю часть штатива путем одновременного нажатия на боковые замки. Вскрыть флаконы с компонентами, сохраняя их расположение в штативе (см. схему расположения флаконов в штативе). Крышки разместить в гнездах нижней части штатива в точном соответствии с расположением соответствующих флаконов.

Внимание! *Категорически запрещено менять места расположения флаконов с реактивами в штативе!*

8.2. Соединить обе части штатива таким образом, чтобы боковые пазы верхней и нижней частей штатива совпали. Собранный штатив поместить в картридж штатива для реагентов таким образом, чтобы сторона со штрих-кодами располагалась в большом окошке картриджа (*Руководство по эксплуатации анализатора «Чароит», п. 1.2).*

8.3. Подготовить необходимое количество стрипов к работе. Оставшиеся стрипы поместить в пакет с влагопоглотителем, тщательно закрыть пакет пластиковой застежкой. Упакованные таким образом стрипы хранить при температуре (2-8) °С в течение всего срока годности набора.

8.4. Планшет с необходимым для работы количеством стрипов поместить в рамку-держатель планшетов в точном соответствии с маркировкой рамки-держателя *(Руководство по эксплуатации анализатора «Чароит», п. 1.4)*.

8.5. Подготовить прибор к работе, как описано в Руководстве по эксплуатации автоматического иммуноферментного анализатора «Чароит».

Внимание! *Для внесения образцов использовать режим обратного дозирования с профилем диспенсии 3, профилем аспирации 1.*

8.6. Перелить готовый промывочный раствор в любую из емкостей анализатора с маркировкой A, B, C и D. По запросу прибора указать, в какой именно ёмкости (маркировка) находится промывочный раствор.

Внимание! *Категорически запрещено заливать промывочный раствор в емкость с маркировкой E, предназначенную для моющего раствора!*

8.7 Установить в ИФА-анализатор картридж с реагентами, рамку-держатель с планшетом (по запросу) и необходимые расходные материалы: штативы с наконечниками для образцов, наконечники для реагентов, контейнеры для перемешивания реагентов *(Руководство по эксплуатации анализатора «Чароит», п. 4.5)*.

8.8. Загрузить в ИФА-анализатор штативы с исследуемыми образцами.

8.9. Все дальнейшие манипуляции проводить в полном соответствии с Руководством по эксплуатации прибора автоматического ИФА-анализатора «Чароит».

8.10. Сразу по окончании работы, в случае дробного использования набора, флаконы с концентрированными растворами конъюгатов №1 и №2 плотно закрыть новыми пробками из резины, флаконы с неизрасходованными реагентами плотно закрыть соответствующими

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

крышками и хранить при температуре (2-8) °С.

9. ИНФОРМАЦИЯ О ПРОТОКОЛЕ ВЫПОЛНЕНИЯ АНАЛИЗА, УЧЁТЕ И ИНТЕРПРЕТАЦИИ РЕЗУЛЬТАТОВ.

9.1. Приготовление реагентов

Реагент в рабочем разведении	**Концентрат реагента**	**Разводящий раствор**	**Соотношение частей концентрата и разводящего раствора**
Промывочный раствор	Концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25)	Дистиллированная вода, отсутствует в составе набора	1+24
Раствор конъюгата №1 в рабочем разведении	Концентрированный раствор конъюгата №1	Разводящий раствор (РК1)	1+14
Раствор конъюгата №2 в рабочем разведении	Концентрированный раствор конъюгата №2	Разводящий раствор (РК2)	1+9
Раствор ТМБ в рабочем разведении	ТМБ, концентрат	Субстратный буферный раствор (СБР)	1+20

9.2. Схема ИФА

Действие	**Характеристика**
Прогрев компонентов набора до температуры (18–26) °С	30 минут
Подготовка промывочного раствора	п. 7.2, п. 9.1
Подготовка конъюгата №1 в рабочем разведении	п. 9.1
Подготовка конъюгата №2 в рабочем разведении	п. 9.1
Внесение положительного контрольного образца №1 ($К1^+$)	70,0 мкл в лунку
Внесение положительного контрольного образца №2 ($К2^+$)	70,0 мкл в лунку
Внесение отрицательного контрольного образца ($К^-$)	по 70,0 мкл в 2 лунки
Внесение исследуемых образцов	по 70,0 мкл в лунку
Внесение раствора конъюгата №1	по 70,0 мкл в каждую лунку

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

в рабочем разведении	
Возможен спектрофотометрический контроль внесения рабочего раствора конъюгата №1 в лунки с сывороткой (плазмой) крови	спектрофотометрирование: основной фильтр – 620 нм, в лунках с внесенными образцами и конъюгатом № 1 ОП > 0,3
Инкубация	(37±1) °С, 600 об/мин, 45 минут
Промывка планшета	промывочным раствором 7 раз по 400 мкл, время между заполнением и опорожнением лунок ≥ 30 сек, по окончании промывки крестообразная аспирация (режим «crosswise» или «cross aspiration»).
Внесение раствора конъюгата №2 в рабочем разведении	по 110 мкл в каждую лунку
Возможен спектрофотометрический контроль внесения рабочего раствора конъюгата №2 в лунки планшета	спектрофотометрирование: основной фильтр – 450 нм, в лунках с внесенным конъюгатом № 2 ОП > 0,5
Инкубация	(37±1) °С, 600 об/мин, 30 минут
Промывка планшета	промывочным раствором 7 раз по 400 мкл, время между заполнением и опорожнением лунок ≥ 30 сек, по окончании промывки крестообразная аспирация (режим «crosswise» или «cross aspiration»).
Подготовка ТМБ в рабочем разведении	п. 9.1
Внесение раствора ТМБ в рабочем разведении	по 100 мкл в каждую лунку
Инкубация	(18-26) °С, 30 минут,
Внесение стоп-реагента	по 100 мкл в каждую лунку.
Регистрация результатов	время между остановкой реакции и измерением ОП не должно превышать 5 минут, спектрофотометрирование: основной фильтр – 450 нм,

9.3. Учёт и интерпретация результатов

Условия правильности ИФА	ОП К1+≥ 0,80; ОП К2+ ≥ 0,80; ОПср. К–≤ 0,25
Вычисление ОПкрит.	ОПкрит. = ОПср.К– + 0,1
Интерпретация результатов: Положительный Отрицательный	 ОП ≥ ОПкрит. ОП < ОПкрит.

10. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

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

10.1. Транспортировать изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, при температуре (2–8) °С. Допускается транспортирование при температуре до 26 °С не более 10 суток.

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре (2–8) °С в течение всего срока годности в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

10.3. Срок годности набора – 18 месяцев со дня выпуска. Не допускается применение наборов по истечении срока их годности.

10.4. Для получения надёжных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

10.5. Набор предназначен для однократного применения.

11. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

11.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

11.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

11.3. Производитель обязуется за свой счет 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.

По вопросам, касающимся качества набора **«КомбиБест ВИЧ-1,2 АГ/АТ-авто»**, обращаться в **АО «Вектор-Бест»** по адресу:

630559, Новосибирская обл., р.п. Кольцово, Научно-производственная зона, корп.36, комн.211,

тел. (383) 227-67-64, тел./факс (383) 363-13-46.

E-mail: vbobtk@vector-best.ru

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

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
АО «Вектор-Бест»
_____ М.Д. Хусаинов
«___» _____ 2021 г.
м.п.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для иммуноферментного выявления антител к ВИЧ-1,2 и антигена p24 ВИЧ-1 для автоматических ИФА-анализаторов

«КомбиБест ВИЧ-1,2 АГ/АТ-авто»

(комплект 1)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для иммуноферментного выявления антител к ВИЧ-1,2 и антигена p24 ВИЧ-1 «КомбиБест ВИЧ-1,2 АГ/АТ-авто» (далее по тексту - набор) предназначен для одновременного иммуноферментного качественного определения антигена p24 ВИЧ-1, антител к ВИЧ-1,2 (включая ВИЧ-1 группу О) в сыворотке (плазме) крови с использованием автоматических ИФА-анализаторов открытого типа.

Набор может быть использован для массового скрининга крови на станциях переливания крови и для диагностики ВИЧ инфекции как составная часть комплекса серологических реакций.

1.2. Комплект 1 рассчитан на проведение 192 анализов, включая контроли (по 4 лунки в каждой постановке). Возможно дробное (не более шести постановок) использование набора. Набор рассчитан для использования в автоматических ИФА анализаторах открытого типа (например, анализатор иммуноферментный автоматический «Лазурит» (Lazurite) с принадлежностями или анализатор иммуноферментный автоматический «Еволис» (Evolis) с принадлежностями или другие). Допускается ручная постановка анализа.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Метод выявления основан на твердофазном иммуноферментном анализе с применением рекомбинантных антигенов ВИЧ-1 и ВИЧ-2 и моноклональных антител к антигену p24 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 p24 ВИЧ-1, он в ходе первой инкубации связывается с моноклональными антителами к p24,

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

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 остановки реакции добавлением стоп-реагента результаты ИФА регистрируются измерением оптической плотности (ОП) в лунках планшета.

2.2. Состав набора

Компонент набора (сокращение) *описание*	Кол-во
Планшет разборный с иммобилизованными рекомбинантными антигенами ВИЧ-1, ВИЧ-2 и антителами к антигену р24 ВИЧ-1.	2 шт.
Положительный контрольный образец №1 ($К1^+$). *Содержит антитела к ВИЧ-1.* *Содержит натрия азид (0,1 %).*	1 фл., 1,0 мл
Положительный контрольный образец №2 ($К2^+$). *Содержит рекомбинантный антиген р24 ВИЧ-1.* *Содержит натрия азид (0,1 %).*	1 фл., 1,0 мл
Отрицательный контрольный образец ($К^-$). *Не содержит антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2 и антиген р24 ВИЧ-1.* *Содержит натрия азид (0,1 %).*	1 фл., 2,0 мл
Конъюгат №1 *Биотинилированные антитела к р24 ВИЧ-1, лиофилизированный.*	2 фл.
Конъюгат №2 *Стрептавидин-пероксидаза и рекомбинантные белки ВИЧ-1 и ВИЧ-2, меченные пероксидазой хрена, лиофилизированный*	2 или 4 фл.
Раствор для предварительного разведения (РПР) *Содержит фенол (0,15 %).*	1 фл., 8,0 мл
Раствор для разведения конъюгата №1 (РК1) *Содержит натрия азид (0,01 %)/*	2 фл., по 13,0 мл
Раствор для разведения конъюгата №2 (РК2) *Содержит натрия мертиолят (0,002 %), фенол (0,125 %).*	2 фл., по 17,0 мл
Тетраметилбензидин, концентрат (ТМБ, концентрат) *Содержит 3,3',5,5' - тетраметилбензидин (0,7 %).*	2 фл., по 1,5 мл
Субстратный буферный раствор (СБР)	2 фл., по 20,0 мл
Концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) *Содержит ProClin 300 (0,25 %).*	3 фл. по 28,0 мл
Стоп-реагент *Содержит кислоту серную (4,9 %).*	2 фл., по 21,0 мл
Самоклеящиеся этикетки со штрих-кодами для реагентов	1 комплект

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Диагностическая чувствительность оценивалась при клинических исследованиях:

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

- 672 серопозитивных образцов сыворотки (плазмы) крови и составила 100% (интервал 99,6%-100% с доверительной вероятностью 90%);

Диагностическая специфичность оценивалась при клинических исследованиях:

- 316 серонегативных образцов сыворотки (плазмы) крови составила 100% (интервал 99,1%-100% с доверительной вероятностью 90%).

3.2. Минимальная концентрация антигена р24 ВИЧ-1, достоверно определяемая набором (чувствительность по антигену р24 ВИЧ-1), не превышает 20 пг/мл (1,0 МЕ/мл).

3.3. Аналитическая специфичность:

Отсутствие ложнопозитивных результатов при анализе 826 образцов клинического материала пациентов, свободных от ВИЧ-инфекции, в том числе: 182 образцов сыворотки (плазмы) крови пациентов с соматическими заболеваниями: (онкологическими (рак печени, поджелудочной железы, предстательной железы, яичника, прямой кишки, толстого кишечника), сердечно-сосудистыми (ревмокардит, заболевания сосудов головного мозга, ишемическая болезнь сердца, артериальная гипертензия), органов дыхания (бронхиальная астма, пневмония, обструктивная болезнь легких, бронхит), эндокринными (сахарный диабет, гипертиреоз, гипотиреоз), поражениями печени и почек (гепатоз, цирроз, мочекаменная болезнь, пиелонефрит); 200 образцов сыворотки (плазмы) крови беременных женщин; 68 образцов сыворотки (плазмы) крови пациентов, содержащих суммарные антитела к ревматоидному фактору; 376 образцов сыворотки (плазмы) крови, содержащих антитела к вирусам гепатитов А, В, С, вирусам простого герпеса 1 и 2 типа, цитомегаловирусу, вирусу Эпштейна-Барр, вирусу кори, вирусу эндемического паротита, вирусу клещевого энцефалита, Helicobacter pylory, Treponema pallidum, Trichomonas vaginalis, Mycoplasma pneumoniae, Mycoplasma hominis, Chlamydia trachomatis, Chlamydophila pneumoniae, Toxoplasma gondi свидетельствует об отсутствии кросс-реактивности и высокой специфичности.

3.4. Потенциально интерферирующие вещества – триглицериды в концентрации до 40 мг/мл; билирубин в концентрации до 0,2 мг/мл, гемоглобин в концентрации до 5 мг/мл – не оказывают влияния на получение правильных результатов.

3.5. Воспроизводимость:

Внутрипланшетная воспроизводимость анализа была оценена при тестировании 3 положительных образцов, содержащих антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2, антиген р24 ВИЧ-1, в 32 повторах каждый. Коэффициент вариации оптической плотности (ОП) не превышал 8%.

Межпостановочная воспроизводимость анализа была оценена при тестировании 3 положительных образцов, содержащих антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2, антиген р24 ВИЧ-1, в 8 повторах каждый, в 4 независимых постановках. Коэффициент вариации ОП не превышал 8%.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 3 (Приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).

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

4.2. Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом. Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

4.3. Стоп-реагент (содержит кислоту серную); концентрат ТМБ (содержат тетраметилбензидин) обладают раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента, концентрата ТМБ на кожу и слизистые необходимо промыть загрязненный участок большим количеством проточной воды. Некоторые компоненты содержат натрия азид, натрия мертиолят, фенол, ProClin 300 в концентрациях, указанных в п. 2.2. «Состав набора».

Все компоненты, содержащие в своем составе материалы человеческого происхождения, инактивированы прогреванием.

4.4. При работе с исследуемыми и контрольными образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом. Основные правила изложены в «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР 17 января 1991 г.

4.5. 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».

4.6. Дезинфекцию наборов реагентов, посуды и материалов, контактировавших с исследуемыми и контрольными образцами, следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

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

- Автоматический ИФА-анализатор открытого типа (например: анализатор иммуноферментный автоматический «Лазурит» (Lazurite) с принадлежностями или анализатор иммуноферментный автоматический «Еволис» (Evolis) с принадлежностями или другой);
- холодильник бытовой;
- дозаторы полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объёмом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 5 до 1000 мкл;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- дезинфицирующие средства.

При постановке анализа «вручную» вместо автоматического ИФА-анализатора:

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

- спектрофотометр, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках планшета при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620 - 655 нм; допускается измерение при одной длине волны – 450 нм;
- термостатируемый шейкер орбитального типа, позволяющий проводить встряхивание при 600 об/мин и температуре (37±1) °С;
- автоматический промыватель для планшетов;
- дозаторы полуавтоматические многоканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкостей от 10 до 300 мкл;
- бумага фильтровальная лабораторная.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Требования к условиям и процедурам ведения преаналитического этапа клинических лабораторных исследований с целью исключения или ограничения влияния эндогенных, экзогенных, ятрогенных и иных факторов, мешающих правильному отражению состояния внутренней среды обследуемых пациентов в результатах клинических лабораторных исследований изложены в ГОСТ Р 53079.4-2008 «Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа».

Взятие, транспортирование и хранение исследуемого материала осуществляется согласно МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории», утвержденным Роспотребнадзором и Рекомендациям «Организация преаналитического этапа при централизации лабораторных исследований», одобренным профильной комиссией Минздрава России по клинической лабораторной диагностике 30.05.2013.

6.2. Для анализа использовать образцы сыворотки, плазмы (полученной с использованием в качестве антикоагулянтов цитрата натрия, ЭДТА, гепарина) крови человека.

6.3. Образцы сыворотки (плазмы) крови хранить при температуре (2–8) °С не более 5 суток или при температуре минус 18 °С и ниже, если требуется более длительное хранение. После размораживания образцы необходимо тщательно перемешать.

6.4. Образцы, содержащие взвешенные частицы, необходимо очистить центрифугированием.

7. ПОДГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

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

– Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать при температуре (18–26) °С не менее 30 минут.

– Для приготовления растворов следует использовать чистую мерную посуду и автоматические дозаторы только с одноразовыми наконечниками.

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

– При дробном использовании набора после отбора необходимого количества компонентов оставшиеся стрипы сразу упаковать в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух и плотно закрыть замок; упакованные стрипы, плотно закрытые флаконы с исходными компонентами хранить при температуре (2–8) °С, использовать в течение всего срока годности набора.

– Допускается хранение ФСБ-Т×25 и стоп-реагента при температуре (2–30) °С.

– Необходимо избегать воздействия прямого солнечного света на раствор ТМБ при подготовке и проведении ИФА.

– При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (ФСБ-Т×25; ТМБ, концентрат; СБР; стоп-реагент), которые взаимозаменяемы в наборах АО «Вектор-Бест».

– Нельзя использовать реагенты из наборов других фирм-производителей.

– 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 и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС (четвертичных аммониевых соединений), спиртов, третичных аминов.

– В случае повторного использования посуду для конъюгата необходимо промыть проточной водой и тщательно ополоснуть дистиллированной водой, посуду для раствора ТМБ ополоснуть водой, промыть 70 % раствором этилового спирта и тщательно отмыть дистиллированной водой.

– Дозаторы и рабочие поверхности обрабатывать только 70 % раствором этилового спирта. Не использовать перекись водорода, хлорамин.

7.2. Промывочный раствор

Тщательно перемешать содержимое флакона с ФСБ-Т×25. При выпадении осадка солей в концентрате прогреть его перед разведением при температуре (30-40) °С до полного растворения осадка.

ФСБ-Т×25 развести дистиллированной водой в 25 раз (например, содержимое 1 флакона с ФСБ-Т×25 (28,0 мл) довести дистиллированной водой до 700 мл.).

Хранение: промывочный раствор хранить при температуре (2–8) °С не более 1 месяца или при температуре (18–26) °С не более 7 суток.

7.3. Приготовление растворов конъюгата №1 и конъюгата №2 в рабочем разведении.

7.3.1. Приготовить концентрированный раствор конъюгата №1 путем растворения содержимого флакона с конъюгатом №1 в ____ мл* РПР.

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

Приготовить концентрированный раствор конъюгата №2 путем растворения содержимого флакона с конъюгатом №2 в ____ мл* РПР.

*Значения объемов РПР указаны в паспорте и инструкции на конкретную серию набора.

Хранение: концентрированные растворы конъюгатов №1 и №2 хранить не более 1 месяца при температуре (2-8)°С.

7.3.2. Внести 910 мкл концентрированного раствора конъюгата №1 во флакон с РК1 (13,0 мл), тщательно перемешать до получения равномерного окрашивания, не допуская вспенивания При дробном использовании планшета (не более трех постановок) рабочее разведение конъюгата №1 готовить исходя из соотношения 70 мкл концентрата конъюгата №1 на 1 мл РК1.

7.3.2.3. Внести 1700 мкл концентрированного раствора конъюгата № 2 во флакон с РК2 (17,0 мл), тщательно перемешать до получения равномерного окрашивания, не допуская вспенивания. При дробном использовании планшета рабочее разведение конъюгата №2 готовить исходя из соотношения 100 мкл концентрата конъюгата №2 на 1 мл РК2.

Хранение: растворы конъюгатов №1 и №2 в рабочем разведении стабильны до 10 ч при температуре (18-26) °С.

7.4. Приготовление раствора ТМБ в рабочем разведении.

Внимание! *Готовить непосредственно перед использованием.*

Внести 1,0 мл концентрата ТМБ во флакон с СБР (20 мл), тщательно перемешать. При дробном использовании планшета раствор ТМБ готовить исходя из соотношения: 50 мкл концентрата ТМБ на 1 мл СБР.

Хранение: раствор ТМБ в рабочем разведении стабилен до 10 ч в защищенном от прямого солнечного света месте при температуре (18-26) °С.

7.5. Контрольные образцы: $К1^+$, $К2^+$ и $К^-$, стоп-реагент готовы к использованию.

8. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Внимание! *Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать при температуре (18-26) °С не менее 30 минут.*

8.1. Подготовить ИФА-анализатор к работе в соответствии с инструкцией по эксплуатации.

8.2. Ввести в программу ИФА-анализатора протокол выполнения анализа (п.8.6.-8.14.), если он не был введен и сохранен ранее.

8.3. Приготовить промывочный раствор (п.7.2.), растворы конъюгатов (п.7.3.) и ТМБ (п.7.4.) в рабочих разведениях.

8.4. В соответствии с инструкцией по эксплуатации ИФА-анализатора поместить в него промывочный раствор, планшет, флаконы с контрольными образцами и пробирки с исследуемыми образцами; емкости с компонентами набора.

При использовании программы автоматической идентификации предварительно наклеить

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

соответствующие этикетки со штрих-кодами на емкости с компонентами.

8.5. Иммуноферментный анализ проводить в полном соответствии с инструкцией по эксплуатации автоматического ИФА-анализатора.

8.6. В одну лунку планшета внести 70,0 мкл $К1^+$, в одну лунку планшета внести 70,0 мкл $К2^+$, в две лунки по 70,0 мкл $К^-$, в остальные лунки – по 70,0 мкл цельных тестируемых образцов сывороток (плазмы) крови.

Затем во все лунки внести по 70,0 мкл конъюгата №1 в рабочем разведении.

Примечание:

1. Возможен спектрофотометрический контроль внесения рабочего раствора конъюгата №1 в лунки с сывороткой (плазмой) крови: при длине волны 620 нм оптическая плотность в каждой из лунок с внесенным образцом должна быть более 0,3.

8.7. Планшет инкубировать в термошейкере при температуре (37±1) °С и 600 об/мин 45 минут.

8.8. По окончании инкубации промыть лунки планшета 7 раз промывочным раствором (см. п. 7.2.), чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок планшета. В каждую лунку вносить 400 мкл жидкости в процессе каждого цикла промывки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого их заполнения. По окончании промывки необходимо использовать крестообразную аспирацию жидкости из лунок (режим «crosswise» или «cross aspiration»).

8.9. Во все лунки планшета внести по 110 мкл конъюгата №2 в рабочем разведении.

Примечание:

2. Возможен спектрофотометрический контроль внесения рабочего раствора конъюгата №2 в лунки планшета: при длине волны 450 нм оптическая плотность в каждой из лунок с внесенным образцом должна быть больше 0,5.

8.10. Планшет инкубировать в термошейкере при температуре (37±1) °С и 600 об/мин 30 минут.

8.11. По окончании инкубации промыть лунки планшета 7 раз промывочным раствором (см. п. 8.8.),

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

8.13. Планшет инкубировать при температуре (18-26) °С в защищённом от прямого солнечного света месте 30 минут.

8.14. Остановить реакцию добавлением в лунки по 100 мкл стоп-реагента и измерить оптическую плотность (ОП). Время между остановкой реакции и измерением ОП не должно превышать 5 минут.

8.15. Результаты ИФА регистрировать с помощью спектрофотометра, измеряя ОП в

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

двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – в диапазоне 620-655 нм. Допускается регистрация результатов только с фильтром 450 нм.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

9.1. Результаты исследований учитывать только при соблюдении следующих условий:

– среднее значение ОП в лунках с $К^-$ не более 0,25;

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

Исследуемый образец расценивать как положительный, если соответствующее ему значение ОП превышает или равно величине $ОП_{крит.}$, которую вычисляют по формуле:

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

где $ОП_{ср.}К^-$ – среднее значение ОП для $К^-$.

Исследуемый образец расценивать как отрицательный, если соответствующее ему значение ОП менее величины $ОП_{крит.}$

Если ОП $К^-$ и $ОП_{иссл.обр.}$ имеют отрицательные значения, при расчёте $ОП_{крит.}$ и анализе результатов считать их равными нулю.

Для оценки степени позитивности положительных образцов может быть рассчитан коэффициент позитивности (КП) по формуле:

$$\mathbf{КП = ОП_{обр.}/ОП_{крит.}}$$

10. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

10.1. Транспортировать изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, при температуре (2-8) °С. Допускается транспортирование при температуре до 26 °С не более 10 суток

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре (2-8) °С в течение всего срока годности в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

10.3. Срок годности набора – 18 месяцев со дня выпуска. Не допускается применение наборов по истечении срока их годности.

10.4. Для получения надёжных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

10.5. Набор предназначен для однократного применения.

11. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

11.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

11.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия

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

третьих лиц, либо непреодолимой силы.

11.3. Производитель обязуется за свой счет 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.

По вопросам, касающимся качества набора **«КомбиБест ВИЧ-1,2 АГ/АТ-авто»**, обращаться в **АО «Вектор-Бест»** по адресу:

630559, Новосибирская обл., р.п. Кольцово, Научно-производственная зона, корп.36, комн.211, тел. (383) 227-67-64, тел./факс (383) 363-13-46.
E-mail: vbobtk@vector-best.ru

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