НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННОЕ ОБЪЕДИНЕНИЕ

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ

REF **I-2322** Σ **96**

REF **I-2323** Σ **192**

REF **I-2324** Σ **480**

ИНСТРУКЦИЯ
по применению

Набор реагентов для одновременного выявления антител к вирусам иммунодефицита человека 1 и 2 типов (ВИЧ-1 и ВИЧ-2), ВИЧ-1 группы О и антигена р24 ВИЧ-1 методом иммуноферментного анализа, версия 2.0 (ДС-ИФА-ВИЧ-АГАТ-СКРИН 2.0)

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

Содержание

I. НАЗНАЧЕНИЕ 3
II. ПРИНЦИП ТЕСТА 4
III. СОСТАВ НАБОРА РЕАГЕНТОВ 4
IV. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ 6
V. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ 9
VI. УТИЛИЗАЦИЯ И УНИЧТОЖЕНИЕ 10
VII. НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ, НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ С НАБОРОМ РЕАГЕНТОВ 10
VIII. ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ 11
IX. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ 11
X. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА 13
XI. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ 15
XII. ОГРАНИЧЕНИЯ ТЕСТА 16
XIII. СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ 16
XIV. ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ И РЕМОНТ 18
XV. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА 18
XVI. ОБЪЯСНЕНИЕ ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СИМВОЛОВ 19
Приложение 20

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

Набор реагентов выпускается в трех комплектах[1]:
комплект 1 рассчитан на проведение 96 (один разборный планшет) определений, включая контрольные, предназначен как для ручной постановки, так и для постановки на ИФА-анализаторах открытого типа с возможностью дробного использования.
комплект 2 рассчитан на проведение 192 (два разборных планшета) определений, включая контрольные, предназначен как для ручной постановки с возможностью дробного использования, так и для одновременной постановки на ИФА-анализаторах открытого типа.
комплект 3 рассчитан на проведение 480 (пять разборных планшетов) определений, включая контрольные, предназначен как для ручной постановки с возможностью дробного использования, так и для одновременной постановки на ИФА-анализаторах открытого типа.

[1]Все комплекты набора реагентов эквивалентны по назначению, свойствам и функциональным характеристикам.

I. НАЗНАЧЕНИЕ

«Набор реагентов для одновременного выявления антител к вирусам иммунодефицита человека 1 и 2 типов (ВИЧ-1 и ВИЧ-2), ВИЧ-1 группы О и антигена р24 ВИЧ-1 методом иммуноферментного анализа, версия 2.0» («ДС-ИФА-ВИЧ-АГАТ-СКРИН 2.0») предназначен для одновременного выявления суммарных антител к ВИЧ-1, ВИЧ-2, ВИЧ-1 группы О и антигена р24 ВИЧ-1 в образцах сыворотки (плазмы) крови человека.

Синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД) – вирусное заболевание, которое характеризуется сильным ослаблением иммунитета.

Два типа вирусов, относящихся к лентивирусам, были изолированы из лимфоцитов пациентов со СПИДом или его начальными симптомами. Первый тип, названный ВИЧ-1, был изолирован во Франции и затем в США. Второй тип, названный ВИЧ-2, был изолирован от двух пациентов, живших в Африке, и оказался ответственным за новую форму СПИДа, локализованную в Западной Африке. Вирусы ВИЧ-1 делятся на две группы: М группа, включающая в себя 9 субтипов (от А до I), и О группа. Вирус ВИЧ-2 включает в себя также 5 субтипов. Некоторые варианты вируса ВИЧ-1 имеют всего 70% гомологичных участков в цепях GAG и POL генома изолятов и только 50% для ENV-последовательности. Эти различия могут объяснять известные трудности при диагностике инфекции у некоторых пациентов. Различные изоляты ВИЧ-2 имеют менее 40% гомологичных участков с белками оболочки ВИЧ-1.

ВИЧ антигены и антитела появляются и детектируются на разных стадиях сероконверсии и инфекции. Использование теста для одновременного определения антител и антигена р24 ВИЧ-1 позволяет сократить фазу серологического окна за счет определения раннего маркера ВИЧ-инфекции антигена р24. Выявление ВИЧ-инфекции на ранней стадии позволяет в ранние сроки начать специфическую антиретровирусную терапию, консультирование и своевременно начать противоэпидемические мероприятия.

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

II. ПРИНЦИП ТЕСТА

Метод основан на твердофазном иммуноферментном «сэндвич» анализе. Твердая фаза покрыта антителами к антигену p24 ВИЧ-1 и искусственными антигенами – аналогами белков ВИЧ-1, ВИЧ-2 и ВИЧ-1 группы О.

На первой стадии анализа исследуемые и контрольные образцы инкубируют с Конъюгатом-1 (смесь биотинилированных конъюгатов антител к антигену p24 ВИЧ-1 и искусственных антигенов ВИЧ-1, ВИЧ-2 и ВИЧ-1 группы О). Присутствующие в исследуемом образце антитела к ВИЧ взаимодействуют одновременно с антигенами ВИЧ-1/2 и ВИЧ-1 группы О в составе Иммуносорбента и Конъюгата-1, а присутствующий в образце антиген p24 ВИЧ-1 образует иммунный комплекс с антителами в составе Иммуносорбента и Конъюгата-1.

На второй стадии после отмывки образовавшиеся комплексы выявляют с помощью конъюгата стрептавидина с пероксидазой хрена и пероксидазными конъюгатами искусственных антигенов ВИЧ-1/2. После отмывки не связавшихся компонентов визуализация происходит в химической реакции пероксидазы с субстратной смесью с образованием цветной реакции. Интенсивность жёлтого окрашивания (после внесения стоп-реагента) пропорциональна количеству содержащихся в исследуемом образце антител к ВИЧ-1/2 или антигена p24 ВИЧ-1.

III. СОСТАВ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

3.1. Состав набора:

Таблица 1

Характеристики реагентов		Форма выпуска		
		комплект 1 ▽Σ **96**	**комплект 2** ▽Σ **192**	**комплект 3** ▽Σ **480**
Иммуносорбент	Планшет полистироловый 96-луночный разборный до стрипов (или до лунок), в лунках которого сорбированы искусственные антигены – аналоги белков ВИЧ-1, ВИЧ-2, ВИЧ-1 группы О и антитела к антигену p24 ВИЧ-1. Готов к применению.	1 планшет	2 планшета	5 планшетов
Конъюгат-1	Концентрат (×11). Смесь искусственных антигенов ВИЧ-1, ВИЧ-1 группы О, ВИЧ-2 и антител к антигену p24 ВИЧ-1, конъюгированных с биотином. Прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная или светло-жёлтого цвета жидкость.	1 флакон 1,2 мл	1 флакон 1,2 мл	1 флакон 3,6 мл или 3 флакона по 1,2 мл
Конъюгат-2	Концентрат (×11). Смесь стрептавидина и искусственных антигенов ВИЧ-1/ВИЧ-2, конъюгированных с пероксидазой хрена. Прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная или светло-жёлтого цвета жидкость.	1 флакон 2,5 мл	1 флакон 2,5 мл	3 флакона по 2,5 мл

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

РРК-1	Раствор для разведения Конъюгата-1. Прозрачная или слегка опалесцирующая малиново-розового цвета жидкость, допустимо образование осадка. Содержит 0,1% ProClin 300.	1 флакон 12,0 мл	1 флакон 12,0 мл	3 флакона по 12,0 мл
РРК-2	Раствор для разведения Конъюгата-2. Прозрачная или слегка опалесцирующая синего цвета жидкость, допустимо образование осадка.	1 флакон 25,0 мл	1 флакон 25,0 мл	3 флакона по 25,0 мл
К+$_{АТ}$	Контрольный положительный образец, содержащий антитела к ВИЧ, инактивированный. Готов к применению. Прозрачная или слегка опалесцирующая оранжевого цвета жидкость.	1 флакон 2,0 мл	1 флакон 2,0 мл	1 флакон 4,0 мл или 2 флакона по 2,0 мл
К+$_{АГ}$	Контрольный положительный образец, содержащий искусственный антиген p24 ВИЧ-1, инактивированный. Готов к применению. Прозрачная или слегка опалесцирующая красного цвета жидкость.	1 флакон 2,0 мл	1 флакон 2,0 мл	1 флакон 4,0 мл или 2 флакона по 2,0 мл
К-	Контрольный отрицательный образец, инактивированный. Готов к применению. Прозрачная или слегка опалесцирующая зелёного цвета жидкость.	1 флакон 2,5 мл	1 флакон 2,5 мл	1 флакон 5,0 мл или 2 флакона по 2,5 мл
ПР	Промывочный раствор. Концентрат (×25) фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т). Прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная или светло-жёлтого цвета жидкость. Допустимо образование осадка, полностью растворяющегося при температуре от 35 до 39 °С и встряхивании.	1 флакон 50,0 мл	1 флакон 120,0 мл	2 флакона по 120,0 мл
Стоп-реагент	Раствор серной кислоты (0,2М). Готов к применению. Прозрачная бесцветная жидкость.	1 флакон 25,0 мл	2 флакона по 25,0 мл	2 флакона по 50,0 мл или 4 флакона по 25,0 мл
СБ	Субстратный буферный раствор – цитратный буфер, содержащий раствор перекиси водорода. Прозрачная бесцветная жидкость.	1 флакон 25,0 мл	1 флакон 25,0 мл	2 флакона по 50,0 мл или 3 флакона по 25,0 мл
ТМБ	Концентрат (×11). Раствор, содержащий 3,3’,5,5’-тетраметилбензидин. Прозрачная бесцветная или светло-жёлтого цвета жидкость.	1 флакон 2,5 мл	1 флакон 2,5 мл	2 флакона по 3,5 мл или 3 флакона по 2,5 мл
Наконечники одноразовые		16 шт.	32 шт.	80 шт.
Ванночки пластиковые для жидких реагентов		2 шт.	4 шт.	10 шт.
Плёнки защитные для ИФА-планшетов		2 шт.	4 шт.	10 шт.

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

Набор комплектуется готовыми реагентами и концентрированными растворами. Имеется маркировка посредством штрих-кодов, а также цветовая кодировка для ряда реагентов. Цветовая кодировка реагентов – условное обозначение цвета/окраски жидких реагентов. $К+_{АТ}$ – оранжевый; $К+_{АГ}$ – красный; К- – зелёный.

Реагенты набора, наконечники одноразовые и ванночки пластиковые для жидких реагентов, плёнки защитные для ИФА-планшетов и принадлежности помещают в потребительскую упаковку (коробку фасовочную). Каждая упаковка снабжена инструкцией по применению.

3.2. Принадлежности (по запросу):

Наименование	Форма выпуска		
	комплект 1 ▽Σ **96**	**комплект 2** ▽Σ **192**	**комплект 3** ▽Σ **480**
Пакеты полиэтиленовые с замком Zip-Lock	1 шт.	2 шт.	3 шт.

3.3. В комплект поставки входят: набор реагентов (дополнительно может быть укомплектован принадлежностями), инструкция по применению, паспорт.

IV. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

4.1. **Аналитическая чувствительность**

Для оценки чувствительности набора реагентов «ДС-ИФА-ВИЧ-АГАТ-СКРИН 2.0» по выявлению антигена p24 ВИЧ-1 были использованы различные концентрации «HIV-1 ANTIGEN STANDARD» (BIO-RAD, Франция) и «HIV-1 p24 ANTIGEN 1st International Reference Reagent» (NIBSC Code: 90/636). Минимально выявляемая концентрация антигена p24 ВИЧ-1 составила ≤ 20,0 пг/мл или ≤1 IU/ml. Аналитическая чувствительность «ДС-ИФА-ВИЧ-АГАТ-СКРИН 2.0» при постановке в термошейкере составила 10 пг/мл (0,5 IU/ml), при постановке в термостате – 20 пг/мл (1 IU/ml).

Предел чувствительности теста, рассчитанный при интерполяции кривой титрования «HIV-1 ANTIGEN STANDARD», составил 6,8 пг/мл.

Предел детекции LoD, рассчитанный по «HIV-1 ANTIGEN STANDARD», составил 5,18 пг/мл (95%CL: 5,01-5,43).

Чувствительность набора реагентов «ДС-ИФА-ВИЧ-АГАТ-СКРИН 2.0» по выявлению антигена p24 ВИЧ-1 по Наборам реагентов «Стандарт ВИЧ-1 АГ p24 (+)» (ООО «НПО «Диагностические системы», Россия и ЗАО «МБС», Россия) составила 10 пг/мл.

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

4.2. **Диагностическая чувствительность**

Диагностическая чувствительность набора реагентов «ДС-ИФА-ВИЧ-АГАТ-СКРИН 2.0» оценивалась при тестировании:

- 914 образцов сыворотки (плазмы) крови пациентов, инфицированных ВИЧ-1, и составила 100% (95%CI:99,58-100,0%) (914/914).
- 13 образцов сыворотки (плазмы) крови пациентов, инфицированных ВИЧ-2, и составила 100% (95%CI:72,2-100,0%) (13/13).
- 8 образцов сыворотки (плазмы) крови, содержащих антитела к ВИЧ-1 группы О и составила 100% (95%CI:67,6-100,0%) (8/8).
- 20 ВИЧ-1 позитивных образцов группы М разных субтипов (A,B,C,D,E,F,G), и составила 100% (95%CI:83,89 -100,0%) (20/20).
- Наборов реагентов «Стандарт ВИЧ-1 АТ(+)», «Стандарт ВИЧ-2 АТ (+)» (ООО «НПО «Диагностические системы», Россия). Чувствительность набора составила 100%.
- Панелей «Стандарт АТ(+) ВИЧ-1», «Стандарт АТ(+) ВИЧ-2» (ЗАО «МБС», Россия). Чувствительность набора с образцами из панелей составила 100%.
- Коммерческих панелей: «1st International Reference Panel for anti-HIV» (NIBSC, Великобритания, код: 02/210), «Anti-HIV 1 Mixed Titer Performance Panel» PRB205(M) (BBI, США), «Anti-HIV-1 Low Titer Performance Panel Modified» PRB 109(M) (BBI, США), «HIV p24 Antigen Mixed Titer Performance Panel Modified» PRB 204(M) (BBI, США), «HIV 1 Incidence/Prevalence Performance panel», PRB601 (BBI, США), «Mixed Subtype Panel» MSP-HIV-001 (BioMex, Германия). Чувствительность набора с образцами из панелей составила 100%.
- Коммерческой панели «HIV Subtype Infectivity Panel PRD320» (BBI, США), содержащей супернатанты клеточных культур вирусов следующих субтипов: A, B, C, D, F, G, H ВИЧ-1 группы М, ВИЧ-1 группы О. Чувствительность набора с образцами из панелей составила 100%.
- 15 коммерческих сероконверсионных панелей (BBI и ZeptoMetrix, США). Результаты тестирования в таблице 2. Из 167 образцов сероконверсионных панелей «ДС-ИФА-ВИЧ-АГАТ-СКРИН 2.0» определил как позитивные 82 образца. Референс-тесты 4го поколения определили как позитивные 77 из 167 образцов. Набор реагентов «ДС-ИФА-ВИЧ-АГАТ-СКРИН 2.0» выявил ВИЧ инфекцию в среднем через 35,4 дня после первой кроводачи (для данного набора панелей), что на 4,6 дня позднее, чем ПЦР, и на 7,5 дней раньше, чем тесты для определения только антител к ВИЧ. Тесты сравнения 4го поколения выявляли маркеры ВИЧ в среднем через 37,5 дней после первой кроводачи.

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

Таблица 2

Панель	«ДС-ИФА-ВИЧ-АГАТ-СКРИН 2.0»	Тесты сравнения 4го поколения
	Количество позитивных результатов / количество протестированных образцов	
BBI - PRB914	5/5	5/5
BBI - PRB933	2/3	2/3
BBI - PRB965	5/6	5/6
BBI - PRB966	3/10	3/10
ZMC - HIV9017	3/5	2/5
ZMC - HIV9021	4/17	4/17
ZMC - HIV9030	3/16	3/16
ZMC - HIV9031	5/19	4/19
ZMC - HIV9077	13/24	13/24
ZMC - HIV9079	17/25	17/25
BBI - PRB944	5/6	4/6
BBI - PRB955	4/5	4/5
BBI - PRB968	4/10	4/10
BBI - PRB969	5/10	3/10
BBI - PRB926	4/6	4/6
Всего	**82/167**	**77/167**

4.3. **Диагностическая специфичность**

Диагностическая специфичность набора реагентов «ДС-ИФА-ВИЧ-АГАТ-СКРИН 2.0» оценивалась при исследовании:

- 6948 образцов сыворотки (плазмы) крови доноров случайной выборки и составила 99,97% (95%CI: 99,9-99,99%); из них:
- 4420 образцов сывороток крови доноров и составила 99,95% (99,84-99,99%);
- 612 образцов плазмы крови доноров и составила 100% (99,38-100%);
- 919 перекрестно-реагирующих образцов сыворотки (плазмы) крови (беременные, образцы, содержащие ревматоидный фактор, образцы сыворотки крови, содержащие антитела к возбудителям гепатита А, В, С, гриппа, герпеса, цитомегаловирусной инфекции, сифилиса, хламидиоза) и составила 99,9% (99,4-99,98%);
- 532 образцов сыворотки (плазмы) крови госпитальных пациентов и составила 98,87% (97,6-99,5%);
- набора реагентов «Стандарт ВИЧ-1,2 АТ(-), ВИЧ-1 АГ р24 (-)» (ООО НПО «Диагностические системы», Россия), специфичность составила 100%;
- набора реагентов «Стандарт АТ(-) ВИЧ» (ЗАО «МБС», Россия), специфичность составила 100%.

  Если процедура получения и подготовки образцов для исследования не соответствует требованиям, изложенным в п.VIII настоящей инструкции, показатели специфичности могут отличаться от указанных.

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

4.4. **Воспроизводимость**

- Коэффициент вариации результатов с использованием набора реагентов «ДС-ИФА-ВИЧ-АГАТ-СКРИН 2.0» не превышает 10%.
- Для анализа рисков получения ложноотрицательных результатов при повторном тестировании слабоположительных образцов проведено многократное исследование 3 образцов с ОП близкой к ОП крит. При тестировании в наборах «ДС-ИФА-ВИЧ-АГАТ-СКРИН 2.0» образцов с ОП±20% от ОП крит. будет получен постоянный результат с вероятностью 71%.

4.5. **Эквивалентность образцов сыворотки и плазмы крови человека**

Исследованием положительных (n=25) и отрицательных (n=25) на ВИЧ инфекцию парных образцов сыворотки и плазмы крови была показана их эквивалентность, что позволяет отнести показатели диагностической чувствительности и специфичности к обоим видам исследуемых образцов.

V. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

5.1. Нестерильное медицинское изделие для диагностики *in vitro*. Потенциальный риск применения набора – класс 3 (Приказ Минздрава России от 06.06.2012 г. N 4н).

5.2. Набор предназначен для профессионального использования в клинической лабораторной диагностике специально обученным персоналом. При работе с набором реагентов следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования к безопасности».

5.3. Реагенты набора не содержат вредных веществ в опасных концентрациях, за исключением реагентов, обозначенных символом «Внимание». При использовании по назначению вероятность негативного воздействия на организм незначительна. Растворы в объёмах и концентрациях, представленных в наборе, не представляют опасности при вдыхании.

Меры первой помощи (при необходимости): При попадании на кожу/ в глаза – промыть большим количеством воды. Загрязненную одежду снять. При необходимости обратиться за медицинской помощью.

5.4. $К+_{АТ}$, приготовлен с использованием инактивированной сыворотки (плазмы) крови человека, не содержащей HBsAg, антиген p24 ВИЧ-1, антитела к HCV; содержит антитела к ВИЧ.

5.5. $К+_{АГ}$ приготовлен с использованием инактивированной сыворотки (плазмы) крови человека, не содержащей HBsAg, антитела к ВИЧ-1,2 и HCV; содержит искусственный антиген p24 ВИЧ-1.

5.6. К- приготовлен с использованием инактивированной сыворотки (плазмы) крови человека, не содержащей HBsAg, антиген p24 ВИЧ-1, антитела к ВИЧ-1,2 и HCV.

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

5.7. При работе с реагентами набора ($К+_{АГ}$, $К+_{АТ}$, К-) и исследуемыми образцами нужно обращаться как с потенциально опасными материалами, т.к. ни один известный метод не может гарантировать отсутствие инфекционных агентов.

5.8. Паспорт безопасности набора реагентов может быть представлен по запросу клиента.

5.9. Для получения надежных результатов необходимо:

- обеспечить условия хранения набора;
- строго соблюдать требования инструкции по применению набора реагентов;
- не использовать набор за пределами установленного срока годности.

5.10. Не использовать набор, если при вскрытии обнаружено повреждение пакета с Иммуносорбентом, протекание флаконов с жидкими реагентами.

VI. УТИЛИЗАЦИЯ И УНИЧТОЖЕНИЕ

6.1. Изделия в процессе хранения и транспортирования не выделяют вредных веществ, загрязняющих окружающую среду. Отходы, образующиеся в результате применения набора реагентов (включая принадлежности) по назначению, установленному производителем, а также не использованные изделия (истекший срок годности, поврежденная потребительская упаковка/маркировка, поврежденная упаковка/маркировка реагентов и т.д.) относятся к медицинским отходам класса «А», «Б» и «Г» в соответствии со ст. 49 Федерального закона от 21.11.2011 г. N 323-ФЗ «Об охране здоровья граждан в Российской Федерации».

6.2. Медицинские отходы подлежат сбору, обезвреживанию, размещению, хранению, транспортировке, учету и утилизации в соответствии с действующими правилами и нормативами (СанПиН 2.1.7.2790-10, СП 1.3.2322-08, МУ 287-113).

VII. НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ, НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ С НАБОРОМ РЕАГЕНТОВ

- Вода дистиллированная (деионизированная);
- Дозаторы пипеточные переменного объёма для отбора жидкостей;
- Наконечники одноразовые для дозаторов пипеточных;
- Инкубатор микропланшетный (термостат) или термостатируемый шейкер (термошейкер) (37,0 ± 1,0) °С;
- Устройство для промывания планшетов (вошер);
- Планшетный спектрофотометр (ИФА-ридер) с фильтрами 450 нм и 620-680 нм;
- Для постановки ИФА в автоматическом режиме – любая модель ИФА-анализаторов открытого типа;
- Бумага фильтровальная лабораторная.

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

VIII. ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Сбор образцов крови человека проводить в соответствии с текущей практикой методом венопункции. Для анализа использовать только нативные (неразведенные) образцы сыворотки крови человека или плазмы крови человека с различными антикоагулянтами (ЭДТА, гепарин, цитрат натрия). Во избежание гемолиза необходимо как можно быстрее отделить плазму от эритроцитов или сыворотку от сгустка. Образцы, содержащие агрегаты или осадок, осветлять центрифугированием при 1000-2000 об/мин (15 мин, при температуре от 2 до 8 °С). Образцы с выраженным гемолизом, гиперлипидемией и бактериальным ростом анализу не подлежат.

Образцы, содержащие билирубин до 10 мг/л, гемоглобин до 10 г/л, липемические образцы, содержащие до 25 г/л эквивалента триглицеридов, не влияют на качество работы теста и могут быть исследованы с достоверным результатом.

Образцы можно хранить в соответствии с требованиями существующих нормативных документов. Длительное хранение допустимо при температуре не выше минус 18 °С (замораживание/оттаивание не более 3 раз).

IX. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

9.1. **Общие требования и рекомендации:**

- Нельзя использовать реагенты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме:
  - неспецифических реагентов (**ПР**, **СБ**), которые взаимозаменяемы во всех наборах реагентов производства ООО «НПО «Диагностические системы»;
  - **Стоп-реагента**, который может быть взаимозаменяемым в зависимости от молярности раствора;
  - другие реагенты также могут быть взаимозаменяемыми для постановки в большинстве тест-систем ООО «НПО «Диагностические системы»;
  - за более детальной информацией относительно других реагентов обратитесь в нашу службу поддержки пользователей по телефону бесплатной линии 8-800-555-0300 (доб. 7647, 7655) или по E-mail: info@npods.ru.
- Рабочие растворы готовить осторожно, исключая какое-либо загрязнение. Использовать одноразовую или чистую тщательно вымытую лабораторную посуду для приготовления реагентов. Не допускать контакта металлических предметов с Конъюгатом или субстратной смесью.
- Не подвергать реагенты воздействию высокой температуры или прямого солнечного света.
- Перед использованием флаконы с жидкими реагентами перемешать, не допуская вспенивания.

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

9.2. **Реагенты, готовые к применению:**

- **Иммуносорбент.** Планшет, состоящий из 12 стрипов и рамки, упакован в фольгированный пакет. Вскрыть фольгированный пакет, отступив 1 см от края пакета, и взять необходимое количество стрипов.
- **К+$_{АТ}$, К+$_{АГ}$, К-, Стоп-реагент (0,2М)**.

9.3. **Реагенты, требующие предварительного приготовления**

- **Рабочий ПР.** Необходимый объём концентрата ПР (×25) развести в 25 раз соответствующим объёмом воды дистиллированной (деионизированной) (см. табл. 3) и тщательно перемешать.
- **Рабочий Конъюгат-1.** Необходимый объём концентрата Конъюгата-1 (×11) развести в 11 раз соответствующим объёмом РРК-1 (см. табл. 3), осторожно перемешать, не допуская вспенивания. Возможно приготовление рабочего раствора непосредственно во флаконе с РРК-1. Для этого нужно отобрать дозатором пипеточным концентрат Конъюгата-1 (1,2 мл), перенести во флакон с РРК-1 (12,0 мл) и тщательно перемешать, не допуская вспенивания.
- **Рабочий Конъюгат-2.** Необходимый объём концентрата Конъюгата-2 (×11) развести в 11 раз соответствующим объёмом РРК-2 (см. табл. 3), осторожно перемешать, не допуская вспенивания. Возможно приготовление рабочего раствора непосредственно во флаконе с РРК-2. Для этого нужно отобрать дозатором пипеточным концентрат Конъюгата-2 (2,5 мл), перенести во флакон с РРК-2 (25,0 мл) и тщательно перемешать, не допуская вспенивания.
  Растворы рабочего Конъюгата-1 и рабочего Конъюгата-2 перед использованием выдержать не менее 10 мин при комнатной температуре.
- **Субстратная смесь (СС).** Необходимый объём концентрата ТМБ (×11) развести в 11 раз соответствующим объёмом СБ (см. табл. 3) и тщательно перемешать. Возможно приготовление СС непосредственно во флаконе с СБ. Для этого нужно отобрать дозатором пипеточным необходимый объём ТМБ (2,5 мл или 5,0 мл), перенести в соответствующий флакон с СБ (25,0 мл или 50,0 мл) и тщательно перемешать.

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

Таблица 3

Количество используемых стрипов		**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**
Рабочий ПР	ПР (×25), мл	3,0	6,0	9,0	12,0	15,0	18,0	21,0	24,0	27,0	30,0	33,0	40,0
	Вода, мл	72,0	144,0	216,0	288,0	360,0	432,0	504,0	576,0	648,0	720,0	792,0	960,0
Рабочий Конъюгат-1	Конъюгат-1 (×11), мл	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,35	0,4	0,45	0,5	0,55	0,55
	РРК-1, мл	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	5,5	5,5
Рабочий Конъюгат-2	Конъюгат-2 (×11), мл	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0	1,1	1,2
	РРК-2, мл	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0
СС	ТМБ (×11), мл	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0	1,1	1,2
	СБ, мл	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0

X. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

10.1. **Общие требования и рекомендации:**

- Использовать валидированные дозаторы и оборудование.
- Использовать новые наконечники для каждого образца.
- Перед использованием набор реагентов выдержать не менее 30 мин при комнатной температуре.
- Перед использованием ванночки пластиковые для жидких реагентов ополоснуть водой дистиллированной (деионизированной).
- Не использовать одну и ту же ванночку пластиковую для внесения Конъюгата-1, Конъюгата-2 и Субстратной смеси.
- Избегать расплескивания образцов или растворов, содержащих образцы.
- Не допускать высыхания лунок Иммуносорбента между отдельными операциями.
- Соблюдать требования к промывке (рекомендованное количество циклов, объём раствора при наполнении, временные интервалы, эффективность отсасывания).
- Многоразовые ванночки для ИФА-анализаторов сразу после работы ополоснуть водой дистиллированной (деионизированной). Затем промыть 70% раствором этилового спирта и снова ополоснуть водой дистиллированной (деионизированной).
- Плёнки для заклеивания лунок Иммуносорбента являются одноразовыми и повторному использованию после снятия не подлежат.

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

10.2. **Проведение ИФА при ручной постановке:**

<table>
<tr><td rowspan="2">Этап</td><td colspan="2">Процедура постановки</td></tr>
<tr><td>Процедура 1</td><td>Процедура 2</td></tr>
<tr><td>1</td><td colspan="2">Внести в лунки Иммуносорбента по 30 мкл раствора рабочего Конъюгата-1 непосредственно перед добавлением контрольных и исследуемых образцов. Возможно изменение цвета раствора рабочего Конъюгата-1.</td></tr>
<tr><td>2</td><td colspan="2">Внести в лунки Иммуносорбента по 70 мкл контрольных образцов:
<u>1-2 стрипа</u> – К+$_{АТ}$ –1 лунка, К+$_{АГ}$ – 1 лунка, К- – 2 лунки;
<u>3 стрипа и более</u> – К+$_{АТ}$ – 1 лунка, К+$_{АГ}$ – 1 лунка, К- – 3 лунки.
В остальные лунки внести по 70 мкл неразведённых исследуемых образцов. При этом цвет раствора рабочего Конъюгата-1 должен измениться. Время внесения образцов не должно превышать 15 мин.</td></tr>
<tr><td rowspan="2">3</td><td rowspan="2">Выдержать 45 мин в термошейкере при 500 об/мин и температуре (37,0 ± 1,0) °С.</td><td>Перемешать осторожным постукиванием по краям планшета.</td></tr>
<tr><td>Планшет заклеить защитной плёнкой и выдержать 60 мин в термостате при температуре (37,0 ± 1,0) °С.</td></tr>
<tr><td>4</td><td colspan="2">С помощью промывочного устройства удалить содержимое лунок в ёмкость с дезинфицирующим раствором и промыть планшет 1 раз рабочим ПР. Для этого внести рабочий ПР в лунки планшета до краёв (не менее 360 мкл в лунку), затем удалить в ёмкость с дезинфицирующим раствором. При необходимости удалить остатки влаги путём отстукивания по сложенной в несколько слоёв фильтровальной бумаге. Рекомендуется использовать автоматический микропланшетный вошер. Недостаточная промывка может неблагоприятно повлиять на точность анализа.</td></tr>
<tr><td>5</td><td colspan="2">Во все лунки внести по 100 мкл раствора рабочего Конъюгата-2.</td></tr>
<tr><td>6</td><td>Выдержать 20 мин в термошейкере при 500 об/мин и температуре (37,0 ± 1,0) °С.</td><td>Планшет заклеить защитной плёнкой и выдержать 30 мин в термостате при температуре (37,0 ± 1,0) °С.</td></tr>
<tr><td>7</td><td colspan="2">С помощью промывочного устройства удалить содержимое лунок и промыть планшет 4 раза рабочим ПР, как описано в п. 4.</td></tr>
<tr><td>8</td><td colspan="2">Во все лунки внести по 100 мкл СС.</td></tr>
<tr><td>9</td><td colspan="2">Планшет выдержать 20 мин в защищённом от света месте при температуре (18-25) °С или при температуре (37,0 ± 1,0) °С.</td></tr>
<tr><td>10</td><td colspan="2">Во все лунки внести по 150 мкл Стоп-реагента и через 2-3 мин провести учет результатов при 450/620-680 нм. Допустим учет результатов при одной длине волны – 450 нм.</td></tr>
</table>

Схема проведения ИФА приведена в Приложении.

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

10.3. **Проведение ИФА в автоматическом режиме**

Для постановки набора в автоматическом режиме рекомендуется использовать протокол, предоставленный предприятием-изготовителем. При самостоятельном создании протокола он должен соответствовать п. X «Проведение анализа», и должны выполняться все требования, описанные в п. V «Меры предосторожности».

При приготовлении рабочих растворов реагентов для автоматической постановки необходимо учитывать «мёртвый» объём флаконов или ёмкостей, используемых для загрузки рабочих растворов в ИФА-анализатор.

При постановке набора на ИФА-анализаторе для комплекта 1 предполагается дробное использование планшета не более, чем в трёх постановках, для комплектов 2 и 3 не предполагается дробное использование планшета.

Протоколы постановки набора и таблицы разведения рабочих растворов реагентов для разных моделей ИФА-анализаторов можно получить от предприятия-изготовителя по запросу (см. п. XV).

Производительность ИФА-анализаторов BIO-RAD и Dynex Technologies Inc. составляет 40 тестов/ч при тестировании одного планшета «ДС-ИФА-ВИЧ-АГАТ-СКРИН 2.0» и 63 теста/ч при тестировании двух планшетов. Среднее время до получения первого результата составляет 2 ч 15 мин.

10.4. **Спектрофотометрический контроль внесения образцов и реагентов при постановке на ИФА-анализаторах:**

- Контроль внесения рабочего Конъюгата-1 и образцов рекомендуется проводить при длине волны 450 нм, критерий: ОП > 0,300.
- Контроль внесения рабочего Конъюгата-2 рекомендуется проводить при длине волны 620 нм, критерий: ОП > 0,400.
- Контроль внесения СС рекомендуется проводить при длине волны 405 нм, критерий: ОП > 0,050.

XI. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Наличие определяемых антигена p24 ВИЧ-1 или антител к ВИЧ-1,2 оценивается сравнением оптической плотности (ОП), измеряемой для каждого образца, с расчетной величиной ОП критической.

Результаты анализа учитывать, если среднее значение ОП в двух или трёх лунках с К- (ОП К-ср.) не более 0,200, значение ОП в лунках с $К+_{АТ}$ и с $К+_{АГ}$ – не менее 0,800.

ОП крит. рассчитывать по формуле:

$$\textbf{ОП крит.} = \textbf{ОП К-ср.} + \textbf{A} \qquad (\textbf{A}=0{,}200),$$

где **А** – коэффициент, определяемый методом статистической обработки результатов постановки ИФА на предприятии-изготовителе. Для каждой процедуры постановки (термошейкер и термостат) возможно разное значение коэффициента **А**.

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

Исследуемые образцы расценивать как положительные: если ОП ≥ ОП крит.
Исследуемые образцы расценивать как отрицательные: если ОП < ОП крит.

Образцы, значения ОП которых равны или превышают ОП крит., должны быть исследованы повторно в 2 лунках. При получении положительного результата хотя бы в одной из двух лунок образцы расценивать как положительные.

XII. ОГРАНИЧЕНИЯ ТЕСТА

- На ранней стадии инфицирования концентрации антигена p24 ВИЧ-1 и антител к ВИЧ могут быть ниже предела чувствительности тест-систем. Поэтому негативный результат, обусловленный не детектируемым уровнем маркеров ВИЧ, не исключает возможность инфицирования.
- Вариабельность ВИЧ-1 (группы М и О) и ВИЧ-2 не исключает возможности ложнонегативного результата. Ни один из существующих методов не может гарантировать отсутствия вируса иммунодефицита человека в исследуемом образце.
- Высокочувствительные ИФА-тесты могут давать ложноположительные результаты. Все позитивные в «ДС-ИФА-ВИЧ-АГАТ-СКРИН 2.0» образцы должны быть подтверждены подтверждающими тестами (тест с нейтрализацией антигена p24 ВИЧ-1 и иммуноблот для подтверждения наличия антител).

XIII. СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

- **Срок годности набора реагентов – 24 месяца.** Условия хранения и транспортирования набора реагентов, условия и сроки хранения рабочих растворов, неиспользованных реагентов указаны в таблице 4.
- Транспортировать наборы следует крытым транспортом, с соблюдением температурного режима, установленного изготовителем, в соответствии с установленными правилами перевозок. Наборы, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.
- Наборы, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат.

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

Таблица 4

13.1	**Условия хранения набора реагентов**		
	Хранить в сухом, защищённом от света месте при температуре от 2 до 8 °С в течение установленного срока годности. Замораживание не допускается. Набор реагентов с истекшим сроком годности использованию не подлежит.		
13.2	**Условия транспортирования набора реагентов**		
	при температуре от 2 до 8 °С		
	при температуре от 9 до 25 °С		не более 10 сут
	при температуре от 26 до 30 °С		не более 5 сут
13.3	**Условия и сроки хранения рабочих растворов** *(хранить в чистых флаконах или специальной ёмкости, предназначенной для постановки на ИФА-анализаторах, в защищённом от света месте)*		
	Рабочий ПР	при температуре от 2 до 8 °С	не более 28 сут
		при температуре от 18 до 25 °С	не более 14 сут
	Рабочий Конъюгат-1	при температуре от 2 до 8 °С	не более 14 сут
		при температуре от 18 до 25 °С	не более 12 ч
	Рабочий Конъюгат-2	при температуре от 2 до 8 °С	не более 14 сут
		при температуре от 18 до 25 °С	не более 12 ч
	СС	при температуре от 18 до 25 °С	не более 10 ч
13.4	**Условия и сроки хранения неиспользованных реагентов набора после вскрытия**		
	Хранить в сухом, защищённом от света месте при температуре от 2 до 8 °С. Замораживание не допускается.		
	Иммуносорбент	После вскрытия неиспользованные стрипы поместить в фольгированный пакет (не удаляя силикагель!) и тщательно герметизировать. Для этого край пакета следует свернуть 2-3 раза и поместить фольгированный пакет со стрипами в полиэтиленовый пакет с замком Zip-Lock.	в течение срока годности набора реагентов
	Конъюгат-1, Конъюгат-2, РРК-1, РРК-2, $К+_{АТ}$, $К+_{АГ}$, К-, ПР, Стоп-реагент, СБ, ТМБ	Флаконы плотно закрыть винтовыми крышками и хранить в упаковке производителя.	в течение срока годности набора реагентов

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

XIV. ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ И РЕМОНТ

Набор реагентов «ДС-ИФА-ВИЧ-АГАТ-СКРИН 2.0» техническому обслуживанию и ремонту не подлежит.

XV. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

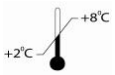
- Производитель гарантирует соответствие выпускаемого продукта требованиям нормативной и технической документации.
- Безопасность и качество набора реагентов гарантируются в течение всего установленного срока годности.
- Гарантии предприятия-изготовителя не распространяются при нарушении условий хранения и транспортирования, а также в случае несоблюдения инструкции по применению.
- Рекламации на специфические и физические свойства набора направлять в адрес предприятия-изготовителя:
  ООО «НПО «Диагностические системы»
  603093, Россия, г. Нижний Новгород, ул. Яблоневая, 22
  Тел./факс: (831) 434-86-83, 8-800-555-0300
  E-mail: info@npods.ru, www.npods.ru.

Для проведения расследования и получения объективных выводов по заявленной рекламации необходимо предоставление:

1. рекламационного набора,
2. образцов плазмы/сыворотки пациента,
3. протоколов исследований с указанием серии набора реагентов, производителя и сроков годности.

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

XVI. ОБЪЯСНЕНИЕ ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СИМВОЛОВ

	Медицинское изделие для диагностики *in vitro*		Срок годности (дата истечения срока годности в формате YYYY-MM-DD)
	Изготовитель		Обратитесь к инструкции по применению
	Номер по каталогу		Температурный диапазон
	Содержимого достаточно для проведения *n*-количества тестов (количество определений)		Не допускать воздействия солнечного света
	Код партии (номер серии)		Беречь от влаги
	Дата изготовления (YYYY-MM)		Внимание

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

Приложение

СХЕМА АНАЛИЗА

Внести	По 30 мкл рабочего Конъюгата-1
Внести	По 70 мкл К+$_{АТ}$, К+$_{АГ}$, К-
Внести	По 70 мкл исследуемых образцов
Инкубировать	**Процедура 1** 45 мин, (37,0 ± 1,0) °С, 500 об/мин, термошейкер **Процедура 2** 60 мин, (37,0 ± 1,0) °С, термостат
Промыть планшет	Рабочий ПР, не менее 360 мкл, **1 раз**
Внести	По 100 мкл рабочего Конъюгата-2
Инкубировать	**Процедура 1** 20 мин, (37,0 ± 1,0) °С, 500 об/мин, термошейкер **Процедура 2** 30 мин, (37,0 ± 1,0) °С, термостат
Промыть планшет	Рабочий ПР, не менее 360 мкл, **4 раза**
Внести	По 100 мкл СС
Инкубировать	Планшет выдержать 20 мин в защищённом от света месте при температуре (18-25) °С или при температуре (37,0 ± 1,0) °С.
Внести	По 150 мкл Стоп-реагента
Учет результатов	450 нм/620-680 нм или 450 нм

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