

ET-7034
(2 ая карта)

(8)

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор
ООО «МедИнформ»



Проценко Р. М.

2012г.

Инструкция по применению

Реагенты in vitro и расходные материалы для системы медицинской
Проклеикс Тигрис (Procleix Tigris) для молекулярно-диагностических
исследований
Производства: Gen-Probe Incorporated, 10210 Genetic Center Drive, San Diego,
CA 92121 USA

Procleix® Ultrio® Assay

Для диагностики *In Vitro*
Набор на 1000 тестов, набор на 5000 тестов

СОДЕРЖАНИЕ

► ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ	2
НАЗНАЧЕНИЕ	2
КРАТКОЕ ОБЪЯСНЕНИЕ ТЕСТА	2
ПРИНЦИПЫ ПРОЦЕДУРЫ	2
РЕАГЕНТЫ	3
ИНСТРУКЦИИ ПО ХРАНЕНИЮ	4
СБОР, ХРАНЕНИЕ И ОБРАБОТКА ОБРАЗЦОВ	4
РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	34
СПЕЦИФИЧНОСТЬ	34
ИССЛЕДОВАНИЯ НЕСПЕЦИФИЧНОЙ РЕАКТИВНОСТИ	35
КЛИНИЧЕСКАЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ	36
ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ	37
АНАЛИТИЧЕСКАЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ	40
ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ДЕТЕКЦИИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ВАРИАНТОВ HIV-1, HCV, И HBV	46
РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ PROCLEIX® ULTRIO® ASSAY ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ ОБРАЗЦОВ ТРУПНОЙ КРОВИ, ВЗЯТОЙ ОТ ДОНОРОВ ТКАНЕЙ	52
ВОСПРОИЗВОДИМОСТЬ	57
БИБЛИОГРАФИЯ	58

- ВЫБЕРИТЕ РАЗДЕЛ, СООТВЕТСТВУЮЩИЙ ИСПОЛЪЗУЕМОЙ ПЛАТФОРМЕ АППАРАТА -

► ПОЛЬЗОВАТЕЛИ PROCLEIX® SYSTEM	7
ПРЕДОСТАВЛЕННЫЕ МАТЕРИАЛЫ	7
НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ АНАЛИЗА МАТЕРИАЛЫ, ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ ОТДЕЛЬНО	7
ДРУГИЕ МАТЕРИАЛЫ, ИМЕЮЩИЕСЯ В КОМПАНИИ CHIRON ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ С ТЕСТ-НАБОРОМ PROCLEIX® ULTRIO® ASSAY	7
НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ	7
МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	8
ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ	8
ЗАМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ	9
ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА	11
А. ПОДГОТОВКА ПРОБЫ / СВЯЗЫВАНИЕ МИШЕНИ	11
В. АМПЛИФИКАЦИЯ	12
С. РЕАКЦИЯ ЗАЩИТЫ ГИБРИДИЗАЦИЕЙ (HYBRIDIZATION PROTECTION ASSAY, HPA)	13
D. ИЗБИРАТЕЛЬНЫЕ АНАЛИЗЫ PROCLEIX® HIV-1, HCV И HBV	14
ПРОЦЕДУРЫ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА	14
I. КРИТЕРИИ СООТВЕТСТВИЯ ТЕСТОВ PROCLEIX® ULTRIO® ASSAY И ИЗБИРАТЕЛЬНЫХ ТЕСТОВ PROCLEIX® HIV-1, HCV И HBV	14
II. КРИТЕРИИ СООТВЕТСТВИЯ ДЛЯ КАЛИБРОВКИ И РАСЧЕТА ПОРОГА	14
ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ	20
► ПОЛЬЗОВАТЕЛИ PROCLEIX® TIGRIS® SYSTEM	21
ПРЕДОСТАВЛЕННЫЕ МАТЕРИАЛЫ	21
НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ АНАЛИЗА МАТЕРИАЛЫ, ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ ОТДЕЛЬНО	21
ДРУГИЕ МАТЕРИАЛЫ, ИМЕЮЩИЕСЯ В КОМПАНИИ CHIRON ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ С ТЕСТ-НАБОРОМ PROCLEIX® ULTRIO® ASSAY	21
НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ	21
МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	22
ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ	23
ЗАМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ	24
ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА	25
ПРОЦЕДУРЫ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА	25
I. КРИТЕРИИ СООТВЕТСТВИЯ ТЕСТОВ PROCLEIX® ULTRIO® ASSAY И ИЗБИРАТЕЛЬНЫХ ТЕСТОВ PROCLEIX® HIV-1, HCV И HBV	25
II. КРИТЕРИИ СООТВЕТСТВИЯ ДЛЯ КАЛИБРОВКИ И РАСЧЕТА ПОРОГА	26
ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ	33

► ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ

НАЗНАЧЕНИЕ

PROCLEIX® ULTRIO® Assay* – система качественного амплификационного анализа нуклеиновых кислот *in vitro* для детекции RNA вируса иммунодефицита человека типа 1 (HIV-1), RNA вируса гепатита С (HCV) и/или DNA вируса гепатита В (HBV) в образцах плазмы и сыворотки доноров. Кроме того, система может использоваться для исследования плазмы и сыворотки с целью скринингового обследования доноров органов и тканей и трупов (без сердцебиения), из которых изымаются ткани или кровь. Система не предназначена для исследования пуповинной крови.

Этот анализ не предназначен для использования в качестве вспомогательного диагностического средства.

КРАТКОЕ ОБЪЯСНЕНИЕ ТЕСТА

Эпидемиологические исследования свидетельствуют, что вирус иммунодефицита человека типа 1 (HIV-1) является этиологическим фактором синдрома приобретенного иммунодефицита (СПИД)¹⁻⁷, вирус гепатита С (HCV)⁸⁻¹³ – этиологическим фактором в большинстве случаев парентерального гепатита ни А, ни В (non-A, non-B hepatitis, NANBH), а вирус гепатита В (HBV) – этиологическим фактором сывороточного инфекционного гепатита. HIV-1, HCV и HBV передаются в основном при контакте с инфицированной кровью, препаратами крови, определенными биологическими жидкостями или тканями, а также от матери к плоду или ребенку.

В настоящее время для детекции HIV-1 в банках крови используется метод анализа нуклеиновых кислот (Nucleic Acid Testing, NAT) для детекции RNA вируса HIV-1^{31,32,34,35} и/или метод иммуоферментного анализа (enzyme immunoassay, EIA) для серологического скрининга на противовирусные антитела с последующим подтверждением результатов с помощью дополнительных методов определения антител, в частности, Вестерн-блоттинга или иммунофлюоресцентного анализа. Кроме того, в зависимости от того, какая тест-система NAT используется, применяют исследование на p24Ag с последующим подтверждением реакцией нейтрализации. Внедренные недавно методы, основанные на амплификации нуклеиновых кислот, позволяют сократить период детекции на 6-11 суток, тем самым, обеспечивая предотвращение более чем половины случаев инфицирования HIV-1 при переливании крови.^{19-21, 33}

Для детекции инфицирования HCV в службах переливания крови в настоящее время применяется NAT на RNA вируса HCV^{31, 32, 34, 35} и/или серологический скрининг на противовирусные антитела методами твердофазного иммуоферментного анализа (enzyme-linked immunoabsorbent assay, ELISA) либо иммуоферментного анализа (enzyme immunoassays, EIA) с подтверждением методом иммуноблоттинга на полоске (напр., CHIRON® RIBA® HCV 3.0 SIA). Внедренные недавно тесты на RNA HCV на основании амплификации нуклеиновых кислот позволяют определить инфицирование HCV приблизительно на 59 дней раньше, чем современные тесты на антитела к вирусу.^{19-21, 33}

Для детекции инфицирования HBV в службах переливания крови в настоящее время применяется серологический скрининг HBsAg методом иммуоферментного анализа (enzyme immunoassay, EIA) с подтверждением в реакции нейтрализации. Исследование случаев трансфузионного инфицирования свидетельствуют о том, что HBsAg определяется, начиная с 50-60 дней после трансфузии.¹⁴ В проведенных недавно исследованиях показано, что тесты на DNA HBV на основании амплификации нуклеиновых кислот позволяют определить инфицирование HBV на несколько недель раньше, чем удается определить HBsAg.¹⁵⁻¹⁸

* Разработчик – Gen-Probe в сотрудничестве с Novartis Vaccines and Diagnostics, Inc.; изготовитель – Gen-Probe Incorporated.

В тесте PROCLEIX® ULTRIO® Assay для детекции RNA вирусов HIV-1 и HCV и DNA вируса HBV используется методика амплификации нуклеиновой кислоты-мишени после гибридизации с зондом.^{22, 31} Включенные в тест-набор реагенты позволяют одновременно проводить определение трех вирусов (HIV-1, HCV и HBV) одновременно либо по отдельности. Для контроля точности определения вируса в каждом образце в тестах PROCLEIX® Assay предусмотрен внутренний контроль.

ПРИНЦИПЫ ПРОЦЕДУРЫ

Анализ с помощью тест-набора PROCLEIX® ULTRIO® Assay состоит из трех основных этапов, выполняемых в одной и той же пробирке: подготовка пробы, амплификация мишеней RNA HIV-1 или HCV или DNA HBV методом транскрипционной амплификации (Transcription-Mediated Amplification, TMA)²³ и детекция продуктов амплификации (ампликонов) в реакции защиты гибридизацией (Hybridization Protection Assay, HPA).²⁴

Подготовка проб включает процесс связывания мишени для выделения RNA и DNA вирусов из пробы. Пробу обрабатывают детергентом для растворения оболочки вируса, денатурации составляющих ее белков высвобождения RNA и/или DNA генома вируса. Далее олигонуклеотиды, гомологичные участкам HIV-1, HCV и HBV с низкой вариабельностью (олигонуклеотиды связывания мишени), гибридизируются с RNA вируса HIV-1 или HCV либо DNA вируса HBV (при наличии таковой в образце). Затем гибридизованные молекулы-мишени связываются с магнитными микрочастицами, которые под действием магнитного поля отделяются от образца. Для удаления посторонних компонентов из реакционной пробирки проводится отмывка. Магнитная сепарация и отмывка осуществляется системой связывания мишени.

Амплификация мишени проводится методом амплификации нуклеиновых кислот посредством транскрипции TMA с использованием двух ферментов: обратной транскриптазы MMLV и RNA-полимеразы T7. Обратная транскриптаза используется для получения DNA (с промоторной последовательностью для RNA-полимеразы T7) с последовательности-мишени. RNA-полимераза T7 размножает копии ампликона RNA с полученной копии DNA-матрицы. В наборе PROCLEIX ULTRIO Assay метод TMA используется для амплификации участков RNA вирусов HIV-1 и HCV и/или DNA вируса HBV.

Для детекции продуктов амплификации применяется метод HPA. Используются комплементарные ампликону одноцепочечные зонды, меченные хемилюминесцентными метками. Меченные зонды нуклеиновой кислоты специально гибридизируются с ампликоном. Под действием селекционного реагента происходит инактивация метки на негибридизованных молекулах зонда. Это позволяет провести дифференциацию между гибридизованными и негибридизованными зондами. На этапе детекции люминометром измеряется хемилюминесцентный сигнал гибридизованных молекул зондов. Результат выражается в относительных световых единицах (Relative Light Unit, RLU).

В каждый исследуемый образец, контрольный образец и калибратор добавляют рабочий реагент для связывания мишени (working Target Capture Reagent, wTCR), который содержит внутренний контрольный образец. Внутренний контроль нужен для обеспечения правильности обработки образцов, амплификации и детекции. Сигнал внутреннего контроля в каждой пробирке и каждой реакции анализа отличается от сигнала HIV-1/HCV/HBV, так как зонды с разными метками имеют разные кинетические характеристики свечения.²⁵ Для детекции ампликона внутреннего контроля используется зонд с меткой кратковременного свечения (быстрогаснущий сигнал). Для детекции ампликонов, специфичных к HIV-1/HCV/HBV, используются зонды с более продолжительным свечением метки (медленнотгаснущий сигнал). Дифференциация меток с медленнотгаснущими и быстрогаснущими сигналами производится методом двойного кинетического анализа (Dual Kinetic Assay, DKA).²⁵ При одновременной детекции HIV-1, HCV и HBV система PROCLEIX ULTRIO Assay обеспечивает различие между сигналом внутреннего

контроля и совместным сигналом HIV-1/HCV/HBV, но не различение между сигналами HIV-1, HCV и HBV.

Если образец дал положительную реакцию в тесте PROCLEIX ULTRIO Assay, можно поставить избирательные анализы HIV-1, HCV и/или HBV, которые позволят выяснить, имеются ли в образце нуклеиновые кислоты HIV-1, HCV, HBV или любые их сочетания.

Избирательные анализы PROCLEIX® HIV-1, HCV и HBV построены по той же трехэтапной схеме, что и PROCLEIX ULTRIO Assay (связывание мишени, TMA и HPA). Единственное отличие состоит в том, что вместо зонда PROCLEIX ULTRIO Assay используются зонды, специфичные к HIV-1, HCV, либо к HBV.

РЕАГЕНТЫ

Тест-набор PROCLEIX® ULTRIO® Assay

Каждый набор включает:	Количество флаконов/ количество во флаконе	
Название реагента	Набор на 1000 тестов	Набор на 5000 тестов
Реагент с внутренним контролем Детергент и транскрипт RNA в буферном растворе HEPES. Запечатанный реагент хранить при температуре от -15 °C до -35 °C.	2 x 5 мл	10 x 5 мл
Реагент для связывания мишени Детергент, связывающие мишень олигонуклеотиды и магнитные микрочастицы в буферном растворе HEPES. Хранить при температуре от 2 °C до 8 °C. (Не замораживать) Необходимо добавить в реагент для связывания мишени реагент внутреннего контроля, прежде чем использовать их для анализа.	2 x 280 мл	10 x 280 мл
Амплификационный реагент Праймеры, dNTP, NTP и кофакторы в буферном растворе TRIS, содержащем PROCLIN® 300 в качестве консерванта. Запечатанный реагент хранить при температуре от -15 °C до -35 °C.	2 x 50 мл	10 x 50 мл
Ферментативный реагент Обратная транскриптаза MMLV и RNA-полимераза T7 в буферном растворе HEPES/TRIS с 0,05% натрия азида в качестве консерванта. Запечатанный реагент хранить при температуре от -15 °C до -35 °C.	2 x 18 мл	10 x 18 мл
Зонд Хемилюминесцентные олигонуклеотидные зонды в буферизованном растворе сукцината с детергентом. Запечатанный реагент хранить при температуре от -15 °C до -35 °C.	2 x 75 мл	10 x 75 мл

Каждый набор включает:

Название реагента

Количество флаконов/
количество во флаконе

Набор на 1000 тестов	Набор на 5000 тестов
-------------------------	-------------------------

Селекционный реагент
Сурфактант в боратном буферном растворе.
Хранить при температуре от 15 °C до 30 °C.

Отрицательный калибратор PROCLEIX®

30 x 2 мл 90 x 2 мл

Дефибринированная нормальная человеческая плазма (не дающая реакции на HIV-1/2, HCV и HBV при исследовании с помощью лицензированных FDA тест-систем) с гентамицином и 0,2% раствором азида натрия в качестве консерванта.
Хранить при температуре от -15 °C до -35 °C.

Положительный калибратор PROCLEIX® HIV-1

30 x 2 мл 90 x 2 мл

Инактивированная HIV-1-положительная плазма в дефибринированной нормальной человеческой плазме (не дающей реакции на HIV-2, HCV и HBV при исследовании с помощью лицензированных FDA тест-систем) с гентамицином и 0,2% раствором азида натрия в качестве консерванта.

Хранить при температуре от -15 °C до -35 °C.

Положительный калибратор PROCLEIX® HCV

30 x 2 мл 90 x 2 мл

Инактивированная HCV-положительная плазма в дефибринированной нормальной человеческой плазме (не дающей реакции на HIV-1/2 и HBV при исследовании с помощью лицензированных FDA тест-систем) с гентамицином и 0,2% раствором азида натрия в качестве консерванта.

Хранить при температуре от -15 °C до -35 °C.

Положительный калибратор PROCLEIX® HBV

30 x 2 мл 90 x 2 мл

Инактивированная HBV-положительная плазма в дефибринированной нормальной человеческой плазме (не дающей реакции на HIV-1/2 и HCV при исследовании с помощью лицензированных FDA тест-систем) с гентамицином и 0,2% раствором азида натрия в качестве консерванта.

Хранить при температуре от -15 °C до -35 °C.

ИНСТРУКЦИИ ПО ХРАНЕНИЮ

- A. Комнатная температура определяется как температура от 15 °C до 30 °C.
- B.  Зонд в тест-наборе PROCLEIX® ULTRIO® Assay и избирательные зонды чувствительны к воздействию света. Во время хранения и подготовки к работе эти реагенты следует предохранять от света.
- C. Не используйте реагенты и жидкости, срок годности которых истек.
- D. Если за период хранения в TCR образовался осадок, см. инструкции в разделе ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ. НЕ ПЕРЕМЕШИВАТЬ НА ВОРТЕКСЕ. НЕ ЗАМОРАЖИВАТЬ TCR.
- Примечание.* Если после хранения TCR при температуре от 2 °C до 8 °C дать осадку опуститься на дно емкости, существенно повысится вероятность образования желатинообразного осадка.
- E. Повторное замораживание внутреннего контроля, амплификационного и ферментативного реагентов, зонда и избирательных зондов HIV-1, HCV и HBV не допускается.
- F. Отрицательный, HIV-1-положительный, HBV-положительный и HCV-положительный калибраторы выпускаются во флаконах для однократного применения и после использования подлежат утилизации.
- G. Если за период хранения в отмывочном растворе, амплификационном или селекционном реагенте, растворе зонда или избирательного зонда по HIV-1, HBV или HCV образовался осадок, см. инструкции в разделе ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ.
- H. Изменение внешнего вида реагента может свидетельствовать о его нестабильности либо непригодности. В случае изменения внешнего вида реагента после ресуспендирования (напр., изменение цвета либо помутнение раствора, свидетельствующее о микробной контаминации) использовать его нельзя.
- I. Указания по хранению реагентов указаны в таблице ниже.

Реагент/жидкость	Срок хранения запечатанной емкости	Срок хранения после вскрытия упаковки/размораживания (до истечения срока годности)
Реагент с внутренним контролем (Internal Control, IC)	От -15 °C до -35 °C, до истечения срока годности	8 часов после добавления TCR при КТ*
Реагент для связывания мишени (Target Capture Reagent, TCR), wTCR**	От 2 °C до 8 °C, до истечения срока годности	30 суток при температуре от 2 °C до 8 °C; 80 часов при КТ***
Зонды	От -15 °C до -35 °C, до истечения срока годности	30 суток при температуре от 2 °C до 8 °C; 80 часов при КТ
Амплификационный реагент	От -15 °C до -35 °C, до истечения срока годности	30 суток при температуре от 2 °C до 8 °C; 80 часов при КТ
Ферментативный реагент	От -15 °C до -35 °C, до истечения срока годности	30 суток при температуре от 2 °C до 8 °C; 80 часов при КТ

Реагент/жидкость	Срок хранения запечатанной емкости	Срок хранения после вскрытия упаковки/размораживания (до истечения срока годности)
Селекционный реагент	При КТ до истечения срока годности	30 суток при КТ
Калибраторы	От -15 °C до -35 °C, до истечения срока годности	8 часов при КТ
Реагенты Auto Detect	При КТ до истечения срока годности	30 суток при КТ
Буфер для жидкости для деактивации	При КТ до истечения срока годности	30 суток при КТ
Жидкость для деактивации	Неприменимо	30 суток при КТ
Масло	При КТ до истечения срока годности	30 суток при КТ
Отмывочный раствор	При КТ до истечения срока годности	30 суток при КТ

* КТ = комнатная температура

** Срок стабильности TCR включает суммарное время, истекшее до и после добавления внутреннего контроля

*** Повышение температуры до комнатной на 80 часов допускается в течение 30 дней.

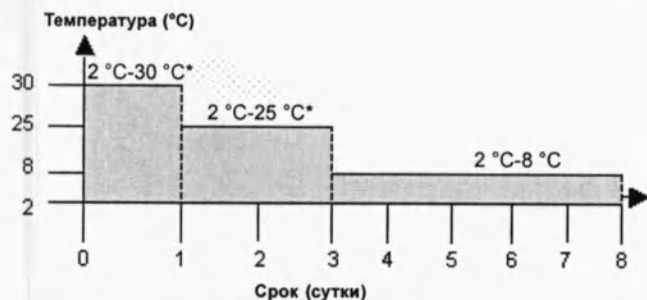
СБОР, ХРАНЕНИЕ И ОБРАБОТКА ОБРАЗЦОВ

Предупреждение. Со всем образцами следует обращаться как с потенциальными источниками инфекции.

Работая с пробами, будьте осторожны, чтобы не допустить перекрестной контаминации. В частности, использованные материалы не следует проносить над открытыми пробирками.

ОБРАЗЦЫ КРОВИ ЖИВЫХ ДОНОРОВ

- A. Можно использовать кровь, собранную в стеклянные либо пластиковые пробирки.
- B. Можно использовать плазму, собранную в пробирки с K₂EDTA, K₃EDTA или пробирки подготовки плазмы Becton-Dickinson EDTA (BD PPT™). Следуйте инструкциям от производителя пробирок для проб. На стабильность образцов отрицательно влияет повышение температуры. Срок хранения цельной крови, плазмы или сыворотки может составлять до 72 часа с момента забора при температуре ≤ 25 °C; повышение температуры не более, чем до 30 °C допускается в течение не более, чем 24 часов. После центрифугирования образцы можно дополнительно хранить еще пять суток при температуре от 2 °C до 8 °C. Отделенная от форменных элементов плазма сохраняет пригодность для тестирования в течение более длительного срока при температуре ≤ -20 °C. Не замораживайте цельную кровь.



*Упомянутое повышение температуры от 2 °C до 30 °C и от 2 °C до 25 °C допускается в любое время в течение периода хранения.

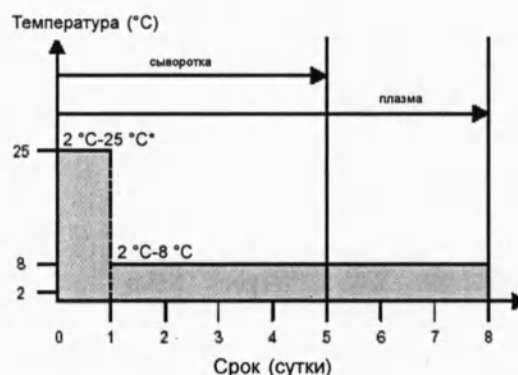
- C. Можно использовать дополнительные образцы, полученные в учреждениях заготовки крови или плазмы и собранные в емкости с цитратом натрия или кислой цитрат-декстрозой в соответствии с инструкциями производителя контейнера сбора образцов. Срок хранения цельной крови или плазмы в кислой цитрат-декстрозе, гепарине или в натрия цитрате соответствует сроку, указанному в разделе В выше.
- D. Можно использовать дополнительные образцы, собранные в пробирки для сыворотки в соответствии с инструкциями производителя контейнера сбора образцов. Хранить сыворотку следует в соответствии с указаниями в разделе В выше.
- E. Можно использовать дополнительные образцы, полученные в учреждениях заготовки крови или плазмы и собранные в емкости с антикоагулянтами ЦФД, ЦФ2Д или ЦФДА-1 в соответствии с инструкциями производителя контейнера сбора образцов. Центрифугирование цельной крови (не плазмы), содержащей эти антикоагулянты, может производиться не позднее, чем через 13 суток хранения при температуре от 2 °C до 8 °C. В любое время в течение этих 13 суток температура хранения образца цельной крови может быть повышена до 30 °C на 1 сутки и до 25 °C на не более 2 суток. После центрифугирования образцы плазмы можно дополнительно хранить еще пять суток при температуре от 2 °C до 8 °C. Отделенная от форменных элементов плазма сохраняет пригодность для тестирования в течение более длительного срока при температуре ≤ -20 °C.
- F. Показано, что трехкратное замораживание и оттаивание плазмы или сыворотки не влияло на рабочие характеристики тест-набора.
- G. При наличии в образце видимого осадка или фибрина следует провести осаживание путем центрифугирования в течение 10 минут при 1000-3000 x g. Не проводите исследование образцов с недостаточным объемом жидкости над гелевым сепаратором или над верхним краем слоя эритроцитов.
- H. После оттаивания следует тщательно размешать плазму или сыворотку и центрифугировать ее в течение 10 минут при 1000-3000 x g. Время и скорость центрифугирования размороженных пробирок BD PPT должны быть подтверждены пользователем.
- I. Остальные условия сбора и хранения образцов должны быть подтверждены пользователем. Для транспортировки образцы необходимо упаковать и снабдить этикетками в соответствии с федеральным и международным законодательством относительно транспортировки образцов клинических материалов и инфекционных агентов.²⁹
- J. Недостаточные меры по предотвращению перекрестной контаминации во время обработки проб могут стать причиной ложноположительного результата исследования.

ОБРАЗЦЫ ТРУПНОЙ КРОВИ

- A. Забор трупной крови может осуществляться в пробирку с EDTA либо в пробирку без антикоагулянта. Следуйте инструкциям от производителя пробирок для проб.

Примечание. Сбор, обработка и исследование образцов, взятых перед смертью у пациента, чьи органы или ткани затем будут использованы для трансплантации, должны проводиться в соответствии с инструкциями по работе с трупными материалами.

- B. Если в течение 12 часов после смерти труп был охлажден (до температуры от 1 °C до 10 °C), забор образцов может производиться не позднее, чем через 24 часа после смерти. Если труп не был охлажден (до температуры от 1 °C до 10 °C), забор образцов может производиться не позднее, чем через 15 часов после смерти. На стабильность образцов отрицательно влияет повышение температуры.
- C. Срок хранения цельной крови (в EDTA) или плазмы может составлять до 72 часов при температуре от 2 °C до 8 °C; повышение температуры до 25 °C допускается в течение не более чем 24 часов. После центрифугирования образцы можно дополнительно хранить еще 5 суток при температуре от 2 °C до 8 °C. Отделенная от форменных элементов плазма сохраняет пригодность для тестирования в течение более длительного срока при температуре ≤ -20 °C. Не замораживайте цельную кровь.
- D. Срок хранения цельной крови (в пробирке для свернувшейся крови) или сыворотки может составлять до 72 часов при температуре от 2 °C до 8 °C; повышение температуры до 25 °C допускается в течение не более чем 24 часов. После центрифугирования образцы можно дополнительно хранить еще двое суток при температуре от 2 °C до 8 °C. Отделенная от свертка крови сыворотка сохраняет пригодность для тестирования в течение более длительного срока при температуре ≤ -20 °C. Не замораживайте цельную кровь.



*Упомянутое выше повышение температуры от 2 °C до 25 °C может иметь место в любое время.

- E. Показано, что трехкратное замораживание и оттаивание плазмы и сыворотки не влияло на рабочие характеристики тест-набора.
- F. При наличии в образце видимого осадка или фибрина следует провести осаживание путем центрифугирования в течение 10 минут при 1000-3000 x g. Не проводите исследование образцов с недостаточным объемом жидкости над гелевым сепаратором или над верхним краем слоя эритроцитов.
- G. После оттаивания следует тщательно размешать плазму или сыворотку и центрифугировать ее в течение 10 минут при 1000-3000 x g. Время и скорость центрифугирования размороженных пробирок BD PPT должны быть подтверждены пользователем.
- H. Остальные условия сбора, обработки и хранения образцов трупных материалов должны быть подтверждены

пользователем. Для транспортировки образцы необходимо упаковать и снабдить этикетками в соответствии с федеральным и международным законодательством относительно транспортировки образцов клинических материалов и инфекционных агентов.²⁹

- I. Недостаточные меры по предотвращению перекрестной контаминации во время обработки проб могут стать причиной ложноположительного результата исследования.
- J. Если объем образца трупной крови недостаточен, а также для ослабления возможного ингибирующего эффекта содержащихся в нем веществ, образец можно развести. Для разведения образцов используется солевой раствор (0,9% хлорид натрия) в пропорции 1:4, т. е. к 100 мкл пробы прибавляют 400 мкл солевого раствора. После разведения следует перемешать пробу, несколько раз перевернув пробирку. Затем можно начинать исследование пробы по стандартной методике, внося 500 мкл разведенной пробы в TTU с TCR.

Примечание. Если для пипетирования проб будет использоваться пипеточный дозатор для подготовки тестов, минимальный объем пробы после разведения должен составлять 1100 мкл (220 мкл пробы и 880 мкл солевого раствора).

Примечание. Эти требования были проверены в исследованиях на материале от трупов неинфицированных лиц, в который вносили вирус. Стабильность HIV-1 HCV и HBV в трупном материале не оценивалась.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- A. Для диагностики *in vitro*.
- B. Для снижения риска получения недействительных результатов, перед началом серии анализа внимательно прочтите весь вкладыш PROCLEIX® ULTRIO® Assay, QRG по PROCLEIX® System и руководства оператора.
- C. Анализируемые образцы могут быть инфицированы. Во время исследования руководствуйтесь универсальными мерами предосторожности.^{26, 30} Работа с материалами и их утилизация должны выполняться в соответствии с местными, государственными и федеральными нормативными требованиями.²⁷⁻²⁹ Исследование должно проводиться только персоналом, обладающим адекватной квалификацией для работы с PROCLEIX ULTRIO Assay, и обученным правильной работе с инфицированными материалами.
- D. **УВЕДОМЛЕНИЕ.** Часть составляющих набора содержит препараты крови человека. Входящий в набор HIV-1-положительный калибратор содержит HIV-1-положительную плазму, прошедшую термическую обработку для инактивации вируса. HCV-положительный калибратор содержит HCV-положительную плазму, прошедшую термическую обработку для инактивации вируса. HBV-положительный калибратор содержит HBV-положительную плазму, прошедшую термическую обработку для инактивации вируса. Отсутствие HIV-1/2, HCV и HBV в отрицательном калибраторе проверено с помощью лицензированных FDA тест-систем. Не существует метода, который давал бы абсолютную гарантию, что препарат, полученный из крови человека, не является источником инфекции. Следует считать все материалы, полученные из человеческой крови, инфицированными, и соблюдать при работе с ними универсальные меры предосторожности.^{26, 30} В случае утечки биологических материалов немедленно проведите дезинфекцию, протрите поверхность 0,5% (окончательная концентрация) раствором гипохлорита натрия (разведенная хлорная известь) либо действуйте в соответствии с принятыми в вашем учреждении инструкциями. Аналоги хлорной извести можно использовать только для обработки преамплификационных зон. В зоне амплификации, а также в зонах, которые могут быть загрязнены продуктами амплификации, аналоги хлорной извести применять нельзя.
- E. Соблюдайте обычные меры предосторожности при работе в лаборатории. Запрещается набирать растворы в пипетку ртом. Запрещается принимать пищу, пить или курить в помещениях, предназначенных для работы. С образцами и реагентами следует работать в одноразовых перчатках и лабораторных халатах. После работы с образцами и реагентами тщательно мойте руки.
- F. В качестве консерванта в данном наборе используется азид натрия. Не переносите реагенты в металлических пробирках. Сливать использованные в ходе анализа азидсодержащие растворы в канализационную систему разрешается, предварительно разбавив их и смыв большим количеством проточной воды. Эти меры предосторожности нужны во избежание накопления в металлических трубах взрывоопасных отложений.
- G. Не допускайте попадания реагентов Auto Detect 1 и 2 на глаза, кожу и слизистые оболочки. После контакта с этими реагентами соответствующий участок следует промыть водой. Пролившийся реагент разведите водой, далее действуйте в соответствии с принятой в вашем учреждении инструкцией.
- H. Выполняйте требования местного, государственного и федерального законодательства в отношении утилизации материалов, которые контактировали с образцами и

реагентами.^{27, 28} Тщательно очищайте и дезинфицируйте все рабочие поверхности.

- I. Используйте исключительно расходные материалы, поставленные вместе с тест-набором, либо указанные в руководстве.
- J. Не используйте тест-набор после истечения срока годности. НЕ смешивайте, НЕ заменяйте и НЕ комбинируйте реагенты из наборов, различающихся номерами партий.
- K. Не допускайте микробной контаминации реагентов и попадания в них рибонуклеазы.
- L. Соблюдайте требования относительно температуры хранения всех аналитических реагентов. Нарушение условий хранения аналитических реагентов отрицательно скажется на точности анализа. Конкретные указания приведены в разделах ИНСТРУКЦИИ ПО ХРАНЕНИЮ И ПОДГОТОВКЕ РЕАГЕНТОВ.
- M. Соблюдайте требования относительно температуры хранения всех образцов. Нарушение условий хранения образцов отрицательно скажется на точности анализа. Конкретные указания приведены в разделе СБОР, ХРАНЕНИЕ И ОБРАБОТКА ОБРАЗЦОВ.
- N. Не комбинируйте аналитические реагенты и жидкости без соответствующих инструкций.
- O. На некоторые входящие в данный набор реагенты нанесена маркировка по безопасности согласно Европейской Директиве 1999/45/ЕС. При работе с этими реагентами следует соблюдать соответствующие требования.

Паспорта данных по безопасности материалов предоставляются по требованию.

0,2% азид натрия в качестве консерванта содержится в следующих реагентах. Эти реагенты также могут являться опасными биологическими материалами:

Отрицательный калибратор PROCLEIX®
 Положительный калибратор PROCLEIX® HIV-1
 Положительный калибратор PROCLEIX® HCV
 Положительный калибратор PROCLEIX® HBV



Xn. Опасно

R22/R32/S2/
S13/S36/S46

R22 Вреден при приеме внутрь
 R32 При контакте с кислотой высвобождает высокотоксичный газ
 S2 Хранить в недоступном для детей месте
 S13 Хранить вдали от пищи, напитков и корма для животных
 S36 Использовать соответствующую защитную одежду
 S46 При приеме внутрь немедленно обратитесь за медицинской помощью и предъявите данный контейнер или этикетку

- P. См. меры предосторожности, указанные в других вкладышах PROCLEIX® Assay, а также QRG к данному тесту.



Биологическая опасность

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

Перед началом процесса связывания мишени следует провести в зоне, не загрязненной матричными нуклеиновыми кислотами и ампликонами.

- A. Комнатная температура определяется как температура от 15 °C до 30 °C.
- B. Убедитесь, что срок годности реагентов не истек.
- C. Извлеките бутылку с селекционным реагентом из места, где она хранилась при комнатной температуре.

1. Перед использованием селекционный реагент следует выдержать при комнатной температуре.
 2. Если селекционный реагент по ошибке хранился при температуре от 2 °C до 8 °C, а также, если температура в лаборатории находится в пределах от 2 °C до 15 °C, в бутылки может образоваться осадок.
 3. В случае образования осадка в селекционном реагенте, выдержите его при температуре $60\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ в течение не более чем 45 минут, часто (каждые 5-10 минут) встряхивая бутылку. После полного растворения осадка поставьте бутылку на водяную баню комнатной температуры, как минимум, на 1 час, для уравнивания температуры. В качестве альтернативы можно использовать инкубатор для подготовки реагентов (Reagent Preparation Incubator, RPI) в соответствии с QRG по PROCLEIX® System. Использовать селекционный реагент можно только после уравнивания температуры.
 4. При наличии пены осторожно удалите ее стерильным тампоном либо стерильной пипеткой. Для каждого флакона следует брать чистый тампон или пипетку.
 5. Не используйте реагенты, в которых осадок не растворился, либо имеется помутнение.
 6. Запишите дату вскрытия флакона в отведенном месте на этикетке (OPEN DATE).
- D. Перед использованием нагрейте все реагенты до комнатной температуры и тщательно перемешайте. Для этого можно использовать водяную баню комнатной температуры, которая не используется в других целях, либо RPI. Указания по использованию RPI для нагрева TCR, зондов, ферментативного и амплификационного реагентов см. в QRG по PROCLEIX® System.
1. Размораживайте реагенты в вертикальном положении.
 2. Для перемешивания амплификационного реагента, избирательных зондов на HIV-1, HCV и на HBV и неизбирательных зондов можно использовать вортекс.
 3. Ферментативный реагент следует тщательно перемешать, осторожно переворачивая его в руках, избегая образования чрезмерного количества пены.
 4. Запишите дату размораживания каждого флакона в отведенном месте на этикетке (THAW DATE).
- E. Убедитесь, что осадок полностью растворился. Не используйте реагенты, в которых осадок не растворился, либо имеется помутнение.
- F. НЕ НАГРЕВАЙТЕ зонды в водяной бане выше 30 °C. Не нагревайте зонды в RPI выше 35 °C. См. QRG по PROCLEIX® System.
- G. Зонд в тест-наборе PROCLEIX® ULTRIO® Assay и избирательные зонды чувствительны к воздействию света. Во время хранения и подготовки к работе эти реагенты следует предохранять от света.
- H. При хранении при температуре от 2 °C до 8 °C в неизбирательных и избирательных зондах образуется осадок. Для ускорения растворения осадка зонды можно нагреть в водяной бане, но температура бани не должна превышать 30 °C. Размораживание зондов на лабораторном столе может занять до 4 часов с периодическим помешиванием для полного растворения осадка. Для размораживания зондов можно также использовать RPI при температуре $32\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$, но не более 35 °C. См. QRG по PROCLEIX System. Убедитесь, что осадок в растворе зонда полностью растворился. Не используйте реагенты, в которых осадок не растворился, либо имеется помутнение.
- I. Подготовьте рабочий реагент для связывания мишени (working Target Capture Reagent, wTCR)
1. Извлеките TCR из места, где он хранился при температуре от 2 °C до 8 °C. НЕМЕДЛЕННО энергично перемешайте содержимое бутылки (переверните ее не менее 10 раз). НЕ ПЕРЕМЕШИВАТЬ НА ВОРТЕКСЕ.
2. После перемешивания нагрейте TCR от 22 °C до 30 °C. Встряхивайте бутылку приблизительно каждые 10 минут, пока осадок не растворится. Растворение осадка в TCR обычно происходит в течение приблизительно 30 минут. Для размораживания TCR можно также использовать RPI при температуре $32\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$, но не более 35 °C. См. QRG по PROCLEIX System.
- Примечание.** Если после выполнения перечисленных выше действий в бутылке образуется гель, следует взять новую бутылку в соответствии с рекомендациями выше. Бутылку с гелем поставьте обратно в холодильник при температуре от 2 °C до 8 °C для дальнейшего использования.
3. Разморозьте один флакон реагента внутреннего контроля при температуре от 2 °C до 8 °C либо при комнатной температуре в течение не более 8 часов. Не используйте RPI для размораживания реагента внутреннего контроля.
 4. Тщательно перемешайте реагент внутреннего контроля на вортексе либо путем переворачивания флакона.
 5. Когда реагент внутреннего контроля (Internal Control, IC) и TCR нагреются до комнатной температуры, тщательно перемешайте TCR путем переворачивания флакона. Перелейте весь реагент внутреннего контроля из флакона в бутылку с TCR. Теперь рабочий реагент для связывания мишени (working Target Capture Reagent, wTCR) готов. Тщательно перемешайте содержимое бутылки.
 6. В соответствующем месте на бутылке с TCR запишите дату добавления реагента внутреннего контроля и номер партии добавленного реагента (IC LOT). Запишите дату истечения срока годности wTCR в отведенном месте на этикетке.
- J. Разморозьте калибраторы при комнатной температуре.
1. Флаконы с калибраторами предназначены для однократного использования и размораживаются перед каждой серией анализа.
 2. Осторожно перемешайте флаконы с калибраторами, перевернув их несколько раз, чтобы не образовалась пена.
 3. При наличии пены удалите ее стерильным тампоном либо стерильной пипеткой. Для каждого флакона следует брать чистый тампон или пипетку.
- K. Отмывочный раствор поставляется при температуре окружающей среды и хранится при комнатной температуре. В ходе транспортировки и хранения, если температура опускается от 2 °C до 15 °C, в отмывочном растворе может образоваться осадок. Для ускорения его растворения раствор можно нагреть. Температура не должна превышать 30 °C. Перед использованием отмывочного раствора убедитесь, что осадок полностью растворился. Не используйте реагенты, в которых осадок не растворился, либо имеется помутнение.
- L. Укажите дату вскрытия флаконов с отмывочным раствором, маслом, селекционным реагентом, буфером для жидкости для деактивации, Auto Detect 1 и Auto Detect 2 в отведенном месте на этикетке (OPEN DATE).
- M. Чтобы приготовить жидкость для деактивации, смешайте 1 часть буфера и 1 часть 5% гипохлорита натрия. Запишите дату приготовления жидкости для деактивации.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- A. Для снижения риска получения недействительных результатов, перед началом серии анализа внимательно прочтите весь вкладыш PROCLEIX® ULTRIO® Assay, и QRG. Данный вкладыш следует использовать с соответствующим QRG. Процедуры технического обслуживания и информацию о работе программного обеспечения см. в QRG по PROCLEIX® System.

В. ПОДГОТОВКА ОБОРУДОВАНИЯ

1. Следует использовать для работы три выделенных исключительно для этих целей водяных бани: для связывания мишени и преамплификационных процедур ($60\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$), для амплификации ($41,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$) и для гибридизации и селекции ($62\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$). Нужен также контейнер с водой температурой $23\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 4\text{ }^{\circ}\text{C}$ для действия перед этапом детекции.
2. Настройте водяные бани для связывания мишени на $60\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, а для амплификации – на $41,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$.
3. Если используется пипеточный дозатор для подготовки тестов, выполните настройку в соответствии с QRG.
4. Подготовьте систему связывания мишени в соответствии с указаниями в QRG.
5. Если используется установка добавления реагентов (Reagent Addition Station, RAS), включите ее. Дальнейшие указания см. в QRG по RAS. Каждый аппарат RAS можно использовать только в одной зоне: для добавления реагентов до амплификации, либо после.
6. Ежедневно протирайте рабочие поверхности и пипеточные дозаторы разведенной хлорной известью (0,5% водный раствор гипохлорита натрия). После не менее чем 15-минутной экспозиции раствор хлорной извести следует смыть с пипеточных дозаторов и рабочих поверхностей водой. **Аналоги хлорной извести можно использовать только для обработки преамплификационных зон. В зоне амплификации, а также в зонах, которые могут быть загрязнены продуктами амплификации, аналоги хлорной извести применять нельзя. НЕ ОБРАБАТЫВАЙТЕ РАБОЧИЕ ПОВЕРХНОСТИ РАСТВОРОМ ДЛЯ ДЕАКТИВАЦИИ.**
7. Настройте водяную баню для гибридизации и селекции на $62\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$.
8. Перед детекцией наполните контейнер водой при температуре $23\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 4\text{ }^{\circ}\text{C}$ для охлаждения смеси.
9. Подготовьте люминометр в соответствии с указаниями в QRG по PROCLEIX System.

С. РАЗМЕР СЕРИИ

1. Тест-набор рассчитан на серию анализа в среднем из 55 тестов. При меньшем размере серии относительное число полезных тестов будет меньше.
2. В каждой серии PROCLEIX® ULTRIO® Assay, включающей до 100 тестов, девять тестов используется на трехкратный повтор анализа отрицательного калибратора и двукратный повтор анализа калибраторов, положительных по HIV-1, по HCV и по HBV.
3. В каждой серии избирательного анализа PROCLEIX® на HIV-1, HCV или HBV 10 тестов используется на трехкратный повтор анализа отрицательного калибратора, трехкратный повтор анализа соответствующего положительного калибратора и двукратный повтор анализа каждого из двух оставшихся положительных калибраторов.

D. КОНФИГУРАЦИЯ СЕРИИ

1. В начале каждого рабочего списка должен находиться набор калибраторов.
2. Набор калибраторов для теста PROCLEIX ULTRIO Assay и для избирательных тестов включает по одному флакону отрицательного калибратора и калибраторов, положительных по HIV-1, HCV и HBV.

E. РЕАГЕНТЫ

1. Для внесения реагентов используйте шаговый пипеточный дозатор с точностью $\pm 5\%$ и прецизионностью $\leq 5\%$ CV. Ежемесячно проверяйте точность пипеточного дозатора и регулярно проводите его калибровку.
2. Для уменьшения расхода амплификационного реагента, масла, ферментативного реагента и растворов избирательных зондов на HIV-1, HCV и HBV, а также

селекционного реагента, разделите их пропорционально размеру серии. Разделение реагентов выполняется после их приготовления в зоне, не загрязненной матричными нуклеиновыми кислотами и ампликонами. Используются стерильные полипропиленовые конические пробирки с герметичными крышками. До и после разделения реагентов следует протереть рабочее место разведенной хлорной известью (0,5% водный раствор гипохлорита натрия). **Аналоги хлорной извести можно использовать только для обработки преамплификационных зон. В зоне амплификации, а также в зонах, которые могут быть загрязнены продуктами амплификации, аналоги хлорной извести применять нельзя.** Разделенные реагенты следует использовать в тот же день. НЕ ХРАНИТЕ реагенты в конических пробирках для разделения.

F. ПРОЦЕСС ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТ

1. Для сведения к минимуму вероятности заноса ампликонов в другие зоны лаборатории работа должна быть организована по принципу поточности. Переходите от подготовки реагента к подготовке пробы, затем к зоне амплификации и детекции. Обратное перемещение проб, оборудования и реагентов на предыдущий этап не допускается. Персонал может переходить из зоны проведения НРА в зоны предыдущих этапов анализа только при наличии соответствующих средств предотвращения контаминации.
2. Подготовка реагентов должна выполняться в чистой зоне (свободной от матричных нуклеиновых кислот и ампликонов).
3. Подготовка проб, связывание мишени и преамплификационные процедуры должны выполняться в свободной от ампликонов зоне.
4. Реакция защиты гибридизацией должна проводиться в зоне, отделенной от зон подготовки реагентов и выполнения амплификации.

G. ПАРАМЕТРЫ СРЕДЫ

1. Этапы связывания мишени, амплификации, гибридизации и селекции требуют определенной температуры. В связи с этим следует обязательно поддерживать температуру водяных бань в указанном температурном диапазоне. Для этого используйте калиброванный термометр.
2. Комнатная температура определяется как температура от $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ до $30\text{ }^{\circ}\text{C}$.
3. Процесс детекции является чувствительным к температуре. Температура воздуха в зоне детекции должна составлять от $21\text{ }^{\circ}\text{C}$ до $27\text{ }^{\circ}\text{C}$.
4. Температура в помещении, где работает RPI, должна находиться в пределах от $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ до $25\text{ }^{\circ}\text{C}$.

H. ВРЕМЯ

Этапы связывания мишени, амплификации и реакции защиты гибридизацией имеют ограничения по времени. Эти ограничения указаны в разделе ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА.

I. ПЕРЕМЕШИВАНИЕ В ВОРТЕКСЕ

Для обеспечения точности исследования при помощи PROCLEIX® ULTRIO® Assay важно правильно выполнять перемешивание на вортексе. Вортексы различаются скоростью вращения. Сначала следует установить низкую скорость вращения, затем постепенно повышать ее, чтобы достичь нужной степени перемешивания. При этом реакционная смесь не должна подняться до изолирующей пленки. **Очень важно на каждом этапе, предусматривающем использование вортекса, хорошо перемешать содержимое пробирок.**

J. ПИПЕТИРОВАНИЕ

1. Для рабочих характеристик тест-набора очень важна точность выполняемого оператором пипетирования.
2. За исключением wTcR, при добавлении реагентов в пробирки наконечник дозатора не должен опускаться в пробирку или касаться ее ободка, чтобы минимизировать вероятность переноса материала из одной пробирки в другую.
3. Все пипеточные дозаторы, использующиеся на этапах амплификации и НРА, не должны использоваться в других целях. Все пипеточные дозаторы, использующиеся на этапе связывания мишени, не должны использоваться в других целях.
4. При добавлении масла, раствора зонда и селекционного реагента направляйте наконечник дозатора на стенки пробирки, а не на ее дно, во избежание всплеска жидкости.

K. РУЧНОЕ ПИПЕТИРОВАНИЕ ОБРАЗЦОВ

1. Неправильная техника ручного пипетирования проб или wTcR может повлиять на результаты анализа. Во избежание нарушения отслеживания идентификаторов проб рекомендуется, чтобы рабочие списки проверял другой сотрудник.
2. Убедитесь, что ТТУ в штативе ориентирована заостренным концом к левой части штатива, а закругленным концом – к правой. Внесите первый калибратор в первую пробирку, начиная с заостренного конца ТТУ. Пипетирование проб производится слева направо.
3. Для каждой пробы следует брать новый наконечник дозатора. После использования наконечник следует выбрасывать в контейнер для биологических отходов. Для предотвращения перекрестной контаминации во время пипетирования образцов и утилизации наконечников не проносите их над открытыми пробирками и не касайтесь наконечниками другого оборудования и поверхностей в лаборатории.
4. Во избежание контаминации между сериями анализа проводите очистку и деконтаминацию ручных пипеточных дозаторов.
5. Убедитесь, что пробы правильно установлены в ТТУ в соответствии с рабочим списком.

L. ДЕКОНТАМИНАЦИЯ

1. В связи с чрезвычайно высокой точностью теста должны быть приняты все меры для предотвращения контаминации. Ежедневно протирайте столы и пипетки разведенной хлорной известью (0,5% водный раствор гипохлорита натрия). После не менее чем 15-минутной экспозиции раствор хлорной извести следует смыть водой. Растворы, содержащие хлор, могут разъедать металл. Во избежание коррозии тщательно смывайте раствор хлорной извести с поверхностей оборудования.
2. Аналоги хлорной извести можно использовать только для обработки преамплификационных зон. В зоне амплификации, а также в зонах, которые могут быть контаминированы продуктами амплификации, аналоги хлорной извести применять нельзя.
3. Реакционные пробирки должны быть деконтаминированы с помощью жидкости для деактивации, как описано в QRG по PROCLEIX System.
4. Следуйте инструкциям в QRG по PROCLEIX System по деконтаминации и техническому обслуживанию аппарата.

M. ИЗОЛИРУЮЩАЯ ПЛЕНКА

1. Накройте ТТУ изолирующей пленкой и слегка прижмите ее, чтобы обеспечить контакт со всеми пробирками. Каждый раз используйте новую изолирующую пленку. НЕ используйте изолирующую пленку повторно.
2. Чтобы снять изолирующую пленку, осторожно приподнимите ее и удалите одним движением, чтобы избежать образования

аэрозоли и перекрестной контаминации проб. Немедленно выбросьте пленку в соответствующий контейнер для отходов.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

Следует использовать калибраторы и реагенты с избирательными зондами PROCLEIX® ULTRIO® Assay из одной и той же основной партии PROCLEIX® ULTRIO® и избирательных анализов. Оператор должен убедиться, что номер основной партии калибраторов и реагентов с избирательными зондами PROCLEIX ULTRIO Assay соответствует номеру основной партии реагентов набора, указанному на листке используемой партии реагентов PROCLEIX ULTRIO Assay.

Образцы от доноров тканей и органов, включая трупный материал, должны исследоваться только по методике обследования индивидуальных доноров. Для исследования трупной (без сердцебиения) крови можно брать растворенные и нерастворенные образцы, как указано в разделах СБОР, ХРАНЕНИЕ И ОБРАБОТКА ОБРАЗЦОВ, Образцы трупной крови.

Для детекции RNA вирусов HIV-1 и HCV и DNA вируса HBV с помощью PROCLEIX ULTRIO Assay, выполняйте указания в разделах «Подготовка проб», «Связывание мишени», «Амплификация» и «Реакция защиты гибридизацией» ниже. Перед началом избирательного анализа PROCLEIX® на RNA вируса HIV-1 или HCV и DNA вируса HBV см. раздел D.

Примечание. Указания по работе с аппаратом и программным обеспечением см. в QRG по PROCLEIX System.

Примечание. Непрерывность выполнения исследования. Все описанные ниже этапы исследования должны выполняться последовательно и с минимальными временными интервалами, либо без промежутков между отдельными этапами.

A. ПОДГОТОВКА ПРОБЫ / СВЯЗЫВАНИЕ МИШЕНИ

Подготовка пробы

ЕСЛИ ИСПОЛЬЗУЕТСЯ ПИПЕТОЧНЫЙ ДОЗАТОР ДЛЯ ПОДГОТОВКИ ТЕСТОВ

1. Подготовьте пипеточный дозатор для подготовки тестов для автоматического пипетирования калибраторов, проб и wTcR; см. QRG по PROCLEIX System.
2. Аппарат внесет в реакционные пробирки по 400 мкл wTcR.
3. Аппарат внесет в соответствующие реакционные пробирки по 500 мкл калибратора и исследуемой пробы.
4. После завершения пипетирования проб перенесите ТТУ в штатив для ТТУ. Накройте ТТУ изолирующей пленкой. См. ЗАМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ для пользователей PROCLEIX® System.
5. Перейдите к разделу «Связывание мишени».

ЕСЛИ ПИПЕТИРОВАНИЕ ПРОИЗВОДИТСЯ ВРУЧНУЮ

Шаговые пипеточные дозаторы, использующиеся на этапе ПОДГОТОВКИ ПРОБ, не должны использоваться в других целях.

1. Для отслеживания проб следует создать электронный рабочий список в программе PROCLEIX® Worklist Editor. Указания приведены в QRG по PROCLEIX® System либо могут быть получены в службе технической поддержки Chiron. Рекомендуется, чтобы другой сотрудник проверял соответствие идентификаторов проб на пробирках, в рабочем списке и в подробном отчете по серии анализа. В отчете по серии результаты по пробам, пипетирование которых проводилось вручную, будут обозначены буквой «М».
2. Загрузите в штатив для ТТУ достаточное количество ТТУ для серии анализа.

3. Непосредственно перед использованием тщательно перемешайте wTCR, чтобы микрочастицы пребывали во взвешенном состоянии.
4. В соответствии с рабочим списком осторожно добавьте в каждую пробирку, в которую будет внесена проба, по 400 мкл wTCR. Для этого опустите наконечник приблизительно на 1/4 глубины пробирки под некоторым углом и выпустите wTCR по стенке пробирки. Старайтесь не задеть наконечником пипетки ободок или боковую стенку пробирки. Сначала следует вносить в пробирку wTCR, затем пробу.
5. Проведите пипетирование образцов.
 - a. По рабочему списку сопоставьте идентификационные номера TTU, калибратора и исследуемой пробы.
 - b. Аспирируйте 500 мкл каждого калибратора, контрольного раствора или исследуемого образца из соответствующей пробирки посредством одноканального пипеточного дозатора с соответствующим фильтрующим одноразовым наконечником. Погружайте в пробу только кончик наконечника дозатора. Если в пробирке есть осадок, не взбалтывайте его.
 - c. Внося жидкость в пробирку, опустите наконечник дозатора на половину ее глубины, не касаясь стенок верхней части пробирки. Затем выпустите жидкость в пробирку по нижней части стенки под углом. Не отпускайте поршень дозатора до извлечения наконечника из пробирки. Вынимая наконечник из пробирки, старайтесь не задеть ее ободок или боковую стенку.
6. Замените наконечник пипетки на новый и повторите действие 5 с каждой пробой.
7. Визуально убедитесь, что в пробирку внесен надлежащий объем пробы и wTCR.
8. Накройте TTU изолирующей пленкой. Перейдите к разделу «Связывание мишени».

Связывание мишени

Шаговые пипеточные дозаторы, использующиеся на этапе СВЯЗЫВАНИЯ МИШЕНИ, не должны использоваться в других целях.

1. Перемешивайте содержимое штатива с TTU в вортке не менее 20 секунд до ресуспендирования магнитных частиц. См. ЗАМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ для пользователей PROCLEIX® System.
2. Перед инкубацией при температуре $60\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ штатив может находиться при комнатной температуре на протяжении не более 75 минут.
3. Длительность инкубации в водяной бане при $60\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ должна составлять 20 ± 1 минута.
4. Затем следует извлечь штатив с TTU и перенести его в зону связывания мишени.
5. Выдержите штатив с TTU на лабораторном столе при комнатной температуре в течение 14-20 минут.
6. Затем перенесите штатив с TTU в систему связывания мишени (target capture system, TCS) и оставьте на 9-20 минут.
7. Выполните одну операцию аспирации и отмывки. Для этого используйте 1 мл отмывочного раствора (см. раздел «Связывание мишени» в QRG по PROCLEIX System).
8. Перемешайте содержимое пробирок в вортке, чтобы ресуспендировать микрошарики. Убедитесь визуально, что магнитные частицы образовали однородную суспензию.
9. Установите штатив с TTU в TCS на 4-10 минут.
10. Осторожно снимите изолирующую пленку и выбросьте ее.
11. Повторите действия 7-10.

12. Аспирируйте весь раствор из каждой пробирки. Указания см. в разделе «Связывание мишени» в QRG по PROCLEIX System.

В. АМПЛИФИКАЦИЯ

Не используйте в этой зоне аналоги хлорной извести.

ЕСЛИ ИСПОЛЬЗУЕТСЯ УСТАНОВКА ДОБАВЛЕНИЯ РЕАГЕНТОВ (REAGENT ADDITION STATION, RAS)

1. Перенесите штатив в RAS (указания см. в QRG по RAS).
2. Осторожно снимите изолирующую пленку и выбросьте ее. См. ЗАМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ для пользователей PROCLEIX® System.
3. Аппарат внесет в реакционные пробирки по 75 мкл амплификационного реагента (при этом изменится цвет раствора в пробирке).
4. Аппарат внесет в реакционные пробирки по 200 мкл масла.
5. Накройте TTU изолирующей пленкой.
6. Перемешивайте содержимое штатива с TTU в вортке не менее 20 секунд до ресуспендирования микрочастиц. Убедитесь, что магнитные частицы отсоединились от стенок пробирки и образовали однородную суспензию.
7. Проведите инкубацию TTU в водяной бане при $60\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 10 ± 1 минута.
8. Проведите инкубацию TTU в водяной бане при $41,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 9-20 минут.
9. Перенесите штатив обратно в RAS (дополнительные указания см. в QRG по RAS).
10. Осторожно снимите изолирующую пленку и выбросьте ее.
11. Аппарат внесет в реакционные пробирки по 25 мкл ферментативного реагента (при этом изменится цвет раствора в пробирке). Блок нагрева, установленный на штатив для TTU, обеспечит поддержку надлежащей температуры.
12. Закройте TTU новой изолирующей пленкой.
13. Извлеките штатив с TTU из RAS и перемешайте его содержимое встряхиванием. НЕ ПЕРЕМЕШИВАТЬ НА ВОРТЕКЕ. После извлечения из RAS штатив нужно как можно скорее перенести в водяную баню.
14. Проведите инкубацию TTU в водяной бане при $41,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 60 ± 5 минут.
15. Извлеките штатив с TTU из водяной бани и перенесите его в зону реакции защиты гибридизацией. Перед внесением зонда штатив может находиться при комнатной температуре на протяжении не более 30 минут.

ЕСЛИ ДОБАВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ ПРОИЗВОДИТСЯ ВРУЧНУЮ

Шаговые пипеточные дозаторы, использующиеся на этапе АМПЛИФИКАЦИИ, не должны использоваться в других целях.

1. Осторожно снимите изолирующую пленку и выбросьте ее. См. ЗАМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ для пользователей PROCLEIX® System.
2. Внесите в реакционные пробирки по 75 мкл амплификационного реагента (при этом изменится цвет раствора в пробирке). Относительно пипетирования, см. ЗАМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ для пользователей PROCLEIX® System.
3. Внесите в реакционные пробирки по 200 мкл масла.
4. Накройте TTU изолирующей пленкой.
5. Перемешивайте содержимое штатива с TTU в вортке не менее 20 секунд до ресуспендирования микрочастиц. Убедитесь, что магнитные частицы отсоединились от стенок пробирки и образовали однородную суспензию.
6. Проведите инкубацию TTU в водяной бане при $60\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 10 ± 1 минута.
7. Проведите инкубацию TTU в водяной бане при $41,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 9-20 минут.

8. Пока ТТУ инкубируются при $41,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, осторожно снимите изолирующую пленку и выбросьте ее. Немедленно внесите в реакционные пробирки по 25 мкл ферментативного реагента (при этом изменится цвет раствора в пробирке). Закройте ТТУ новой изолирующей пленкой.
9. Извлеките штатив с ТТУ из водяной бани и перемешайте его содержимое встряхиванием. НЕ ПЕРЕМЕШИВАТЬ НА ВОРТЕКСЕ. Штатив должен как можно меньше времени находиться вне водяной бани.
10. Проведите инкубацию ТТУ в водяной бане при $41,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 60 ± 5 минут.
11. Извлеките штатив с ТТУ из водяной бани и перенесите его в зону реакции защиты гибридизацией. Перед внесением зонда штатив может находиться при комнатной температуре на протяжении не более 30 минут.

С. РЕАКЦИЯ ЗАЩИТЫ ГИБРИДИЗАЦИЕЙ (HYBRIDIZATION PROTECTION ASSAY, HPA)

Для предотвращения контаминации реакционной смеси ампликонами реакцию защиты гибридизацией (Hybridization Protection Assay, HPA) рекомендуется проводить в специально выделенной зоне. Лучше всего использовать отдельный лабораторный стол в помещении, отделенном от мест приготовления реагентов и проб и выполнения амплификации. Не используйте в этой зоне аналоги хлорной извести.

ЕСЛИ ИСПОЛЬЗУЕТСЯ RAS

1. Гибридизация
 - a. Перенесите штатив в RAS (указания см. в QRG по RAS).
 - b. Осторожно снимите изолирующую пленку и выбросьте ее. См. ЗАМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ для пользователей PROCLEIX® System.
 - c. Аппарат внесет в реакционные пробирки по 100 мкл раствора зонда (при этом изменится цвет раствора в пробирке).
 - d. Накройте ТТУ изолирующей пленкой.
 - e. Перемешивайте содержимое штатива с ТТУ в вортексе не менее 20 секунд, чтобы образовалась однородная смесь. Во избежание контаминации не допускайте контакта реакционной смеси с изолирующей пленкой. Относительно перемешивания в вортексе, см. ЗАМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ для пользователей PROCLEIX® System.
 - f. Проведите инкубацию штатива ТТУ в специально выделенной водяной бане при $62\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 15 ± 1 минута.
2. Селекция
 - a. Извлеките штатив с ТТУ из водяной бани $62\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$.
 - b. Установите штатив в RAS.
 - c. Осторожно снимите изолирующую пленку и выбросьте ее.
 - d. Аппарат внесет в реакционные пробирки по 250 мкл селекционного реагента (при этом изменится цвет раствора в пробирке).
 - e. Накройте ТТУ изолирующей пленкой.
 - f. Перемешивайте содержимое штатива с ТТУ в вортексе не менее 20 секунд, чтобы образовалась однородная смесь. Во избежание контаминации не допускайте контакта реакционной смеси с изолирующей пленкой.
 - g. Установите штатив с ТТУ обратно в водяную баню при $62\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ на 10 ± 1 минута.
 - h. Извлеките штатив с ТТУ из водяной бани $62\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$.

- i. За время приготовления к детекции охладите штатив с ТТУ в контейнере с водой при температуре $23\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 4\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение не менее 10 минут.
- j. Извлеките штатив с ТТУ из контейнера с водой при $23\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 4\text{ }^{\circ}\text{C}$ и установите его на поглощающий материал.

3. Детекция

Примечание. Считывание данных пробирок должно быть выполнено в течение 75 минут после завершения реакции селекции.

Указания по детекции и деконтаминации см. в QRG по PROCLEIX System.

ЕСЛИ ДОБАВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ ПРОИЗВОДИТСЯ ВРУЧНУЮ

Шаговые пипеточные дозаторы, использующиеся на этапе РЕАКЦИИ ЗАЩИТЫ ГИБРИДИЗАЦИЕЙ, не должны использоваться в других целях.

1. Гибридизация

- a. Осторожно снимите изолирующую пленку и выбросьте ее. См. ЗАМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ для пользователей PROCLEIX® System.
- b. Внесите в реакционные пробирки по 100 мкл раствора зонда (при этом изменится цвет раствора в пробирке). См. ЗАМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ для пользователей PROCLEIX® System.
- c. Накройте ТТУ изолирующей пленкой.
- d. Перемешивайте содержимое штатива с ТТУ в вортексе не менее 20 секунд, чтобы образовалась однородная смесь. Во избежание контаминации не допускайте контакта реакционной смеси с изолирующей пленкой. Относительно перемешивания в вортексе, см. ЗАМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ для пользователей PROCLEIX® System.
- e. Проведите инкубацию штатива в специально выделенной водяной бане при $62\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 15 ± 1 минута.

2. Селекция

- a. Извлеките штатив с ТТУ из водяной бани $62\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$. Осторожно снимите изолирующую пленку и выбросьте ее.
- b. Внесите в реакционные пробирки по 250 мкл селекционного реагента (при этом изменится цвет раствора в пробирке).
- c. Накройте ТТУ изолирующей пленкой. Перемешивайте содержимое штатива с ТТУ в вортексе не менее 20 секунд, чтобы образовалась однородная смесь. Во избежание контаминации не допускайте контакта реакционной смеси с изолирующей пленкой.
- d. Установите штатив с ТТУ обратно в водяную баню при $62\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ на 10 ± 1 минута.
- e. Извлеките штатив с ТТУ из водяной бани $62\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- f. За время приготовления к детекции охладите штатив с ТТУ в контейнере с водой при температуре $23\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 4\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение не менее 10 минут.
- g. Извлеките штатив с ТТУ из контейнера с водой при $23\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 4\text{ }^{\circ}\text{C}$ и установите его на поглощающий материал.

3. Детекция

Примечание. Считывание данных пробирок должно быть выполнено в течение 75 минут после завершения реакции селекции.

- a. Указания по детекции и деконтаминации см. в QRG по PROCLEIX System.

D. ИЗБИРАТЕЛЬНЫЕ АНАЛИЗЫ PROCLEIX® HIV-1, HCV И HBV

При проведении избирательного анализа следует внести в описанную выше процедуру следующие изменения.

1. Все этапы ПОДГОТОВКИ ПРОБ и СВЯЗЫВАНИЯ МИШЕНИ производятся так же, как описано выше. Отдельно задайте серии для избирательного анализа на HIV-1, HCV и HBV. Для избирательного анализа используются те же калибраторы, что и для PROCLEIX® ULTRIO® Assay.
2. При проведении РЕАКЦИИ ЗАЩИТЫ ГИБРИДИЗАЦИЕЙ вместо неизбирательного зонда используйте избирательный зонд на HIV-1, HCV или HBV.
3. Выберите соответствующий протокол для программного обеспечения люминометра (см. QRG по PROCLEIX System).

ПРОЦЕДУРЫ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА

I. КРИТЕРИИ СООТВЕТСТВИЯ ТЕСТОВ PROCLEIX® ULTRIO® ASSAY И ИЗБИРАТЕЛЬНЫХ ТЕСТОВ PROCLEIX® HIV-1, HCV И HBV

Критерии действительности серии

- A. Серия считается действительной, если действительный результат получен для определенного минимального числа калибраторов, и при условии соответствия калибраторов контрольным критериям (см. раздел II.A).
1. В серии анализа PROCLEIX® ULTRIO® Assay действительными должны быть не менее семи из девяти калибраторов. Действительными должны также быть не менее двух из трех дублирующих отрицательных калибраторов и не менее пяти из шести дублирующих положительных калибраторов.
 2. В серии избирательного анализа PROCLEIX® HIV-1, HCV или HBV действительными должны быть не менее семи из 10 дублирующих калибраторов. Действительными должны также быть не менее двух из трех дублирующих отрицательных калибраторов. Должны соблюдаться риведенные ниже контрольные критерии для положительных калибраторов.
 - a. При проведении избирательного теста на HIV-1 должны быть действительными два из трех дублирующих положительных калибраторов по HIV-1.
 - b. При проведении избирательного теста на HCV должны быть действительными два из трех дублирующих положительных калибраторов по HCV.
 - c. При проведении избирательного теста на HBV должны быть действительными два из трех дублирующих положительных калибраторов по HBV.
 3. Если число действительных калибраторов меньше установленного минимума, программное обеспечение люминометра автоматически регистрирует серию как недействительную.
 4. Для действительных серий автоматически рассчитываются значения порогов для внутреннего контроля (быстрогаснущий сигнал) и определяемой последовательности (медленногаснущий сигнал), см. раздел II.A.
 5. Сигнал внутреннего контроля ниже порога не делает результат по пробе или положительному калибратору недействительным при положительной реакции на определяемую последовательность (медленногаснущий сигнал).
- B. Если более 10% калибраторов и образцов в серии анализа недействительны, в отчет по серии будет включено

соответствующее предупреждение. При расчете 10% недействительных проб не учитываются пробы, являющиеся недействительными исключительно по причине недостаточного объема пробы или wTCR.

- C. При превышении предела в 10% недействительных результатов рекомендуется продолжить анализ серии. Для контроля возможных ошибок оператора следует прочесть описания процедур во вкладыше. Кроме того, рекомендуется использовать следующие критерии при рассмотрении отчета по серии.
1. Если все недействительные образцы, учтенные при расчете 10% предела, находятся в одном ТТУ, возможно, неправильно проведена отмывка либо внесение реагентов. Все пробы в таком ТТУ нужно исследовать повторно.
 2. Если недействительные образцы хаотично распределены по всей серии, определена конкретная ошибка при выполнении процедур, объясняющая получение недействительных результатов, и свечение внутреннего контроля RLU в остальных действительных пробах соответствует надлежащему, можно исследовать повторно только недействительные пробы.
 3. Если недействительные образцы хаотично распределены по всей серии и не удается определить конкретную ошибку, объясняющую получение недействительных результатов, рекомендуется повторить всю серию анализа.
- D. Серия анализа или отдельная проба может быть объявлена недействительной и оператором, если обнаружены и задокументированы определенные проблемы, связанные с техническими вопросами, оператором либо аппаратом. Если оператор зарегистрировал отдельные пробы как недействительные, тогда 10% недействительных проб должны быть рассчитаны вручную. Необходимо повторить исследование проб, объявленных недействительными.

II. КРИТЕРИИ СООТВЕТСТВИЯ ДЛЯ КАЛИБРОВКИ И РАСЧЕТА ПОРОГА

A. PROCLEIX® ULTRIO® Assay

Критерии соответствия отрицательного калибратора

Анализ отрицательного калибратора (Negative Calibrator, NC) проводится трехкратно. В каждом отрицательном калибраторе сигнал внутреннего контроля (Internal Control, IC) должен иметь значение не меньше 75000 RLU и не больше 375000 RLU. В каждом отрицательном калибраторе сигнал определяемой последовательности должен иметь значение не меньше 0 RLU и не больше 45000 RLU. Если один из отрицательных калибраторов недействителен в связи с выходом значения сигнала IC либо определяемой последовательности за указанные пределы, средний сигнал отрицательных калибраторов (NC_x) будет рассчитан, исходя из двух приемлемых значений. Серия считается недействительной и должна быть исследована повторно, если сигнал IC или определяемой последовательности в двух и более из трех отрицательных калибраторов находится вне указанных пределов.

Определение среднего сигнала отрицательных калибраторов (NC_x) по внутреннему контролю [NC_x (Внутренний контроль)].

Пример:

Отрицательный калибратор	RLU внутреннего контроля
1	124000
2	126000
3	125000
Сумма RLU внутреннего контроля	= 375000

$$NC_x \text{ (Внутренний контроль)} = \frac{\text{Сумма RLU внутреннего контроля}}{3} = 125000$$

Определение среднего сигнала отрицательных калибраторов (NC_x) по определяемой последовательности [NC_x (Определяемая последовательность)].

Пример:

Отрицательный калибратор	RLU определяемой последовательности
1	14000
2	16000
3	15000
Сумма RLU определяемой последовательности	= 45000

$$NC_x \text{ (Определяемая последовательность)} = \frac{\text{Сумма RLU определяемой последовательности}}{3} = 15000$$

Контрольные критерии положительного калибратора HIV-1

В тест-наборе PROCLEIX® ULTRIO® Assay калибратор, положительный по HIV-1, исследуется двукратно. В каждом положительном калибраторе (Positive Calibrator, PC) по HIV-1 сигнал определяемой последовательности должен иметь значение не меньше 300000 RLU и не больше 1800000 RLU. Если сигнал одного из положительных калибраторов по HIV-1 находится вне указанных пределов, средний сигнал положительного калибратора по HIV-1 ($HIV-1 PC_x$) будет равен приемлемому значению сигнала второго положительного калибратора по HIV-1. Серия считается недействительной и должна быть исследована повторно, если сигнал определяемой последовательности в обоих положительных калибраторах по HIV-1 находится вне указанных пределов. Сигнал IC не должен превышать 475000 RLU.

Определение среднего сигнала положительных калибраторов по HIV-1 ($HIV-1 PC_x$) по анализируемому веществу [$HIV-1 PC_x$ (Анализируемое вещество)].

Пример:

Калибратор, положительный по HIV-1	RLU определяемой последовательности
1	690000
2	700000
Сумма RLU определяемой последовательности	= 1390000

$$HIV-1 PC_x \text{ (Определяемая последовательность)} = \frac{\text{Сумма RLU определяемой последовательности}}{2} = 695000$$

Критерии соответствия положительного калибратора HCV

В тест-наборе PROCLEIX® ULTRIO® Assay калибратор, положительный по HCV, исследуется двукратно. В каждом положительном калибраторе (Positive Calibrator, PC) по HCV сигнал определяемой последовательности должен иметь значение не меньше 200000 RLU и не больше 1000000 RLU. Если сигнал одного из положительных калибраторов по HCV находится вне указанных пределов, средний сигнал положительного калибратора по HCV ($HCV PC_x$) будет равен приемлемому значению сигнала второго положительного калибратора по HCV. Серия считается недействительной и должна быть исследована повторно, если сигнал определяемой последовательности в обоих положительных калибраторах по HCV находится вне указанных пределов. Сигнал IC не должен превышать 475000 RLU.

Определение среднего сигнала положительных калибраторов по HCV ($HCV PC_x$) по определяемой последовательности [$HCV PC_x$ (Определяемая последовательность)].

Пример:

Калибратор, положительный по HCV	RLU определяемой последовательности
1	350000
2	360000
Сумма RLU определяемой последовательности	= 710000

$$HCV PC_x \text{ (Определяемая последовательность)} = \frac{\text{Сумма RLU определяемой последовательности}}{2} = 355000$$

Критерии соответствия положительного калибратора HBV

В тест-наборе PROCLEIX® ULTRIO® Assay калибратор, положительный по HBV, исследуется двукратно. В каждом положительном калибраторе (Positive Calibrator, PC) по HBV сигнал определяемой последовательности должен иметь значение не меньше 300000 RLU и не больше 1800000 RLU. Если сигнал одного из положительных калибраторов по HBV находится вне указанных пределов, средний сигнал положительного калибратора по HBV ($HBV PC_x$) будет равен приемлемому значению сигнала второго положительного калибратора по HBV. Серия считается недействительной и должна быть исследована повторно, если сигнал определяемой последовательности в обоих положительных калибраторах по HBV находится вне указанных пределов. Сигнал IC не должен превышать 475000 RLU.

Определение среднего сигнала положительных калибраторов по HBV ($HBV PC_x$) по исследуемому веществу [$HBV PC_x$ (Исследуемое вещество)].

Пример:

Калибратор, положительный по HBV	RLU определяемой последовательности
1	690000
2	700000
Сумма RLU определяемой последовательности	= 1390000

$$HBV PC_x \text{ (Анализируемое вещество)} = \frac{\text{Сумма RLU определяемой последовательности}}{2} = 695000$$

Расчет порога сигнала внутреннего контроля

Порог сигнала внутреннего контроля = $0,5 \times [NC_x \text{ (Внутренний контроль)}]$

В продолжение примера по отрицательному калибратору выше:

Порог сигнала внутреннего контроля = $0,5 \times (125000)$

Порог сигнала внутреннего контроля = 62500 RLU

Расчет порога сигнала определяемой последовательности HIV-1/HCV/HBV

Порог сигнала определяемой последовательности = $NC_x \text{ (Определяемая последовательность)} + [0,02 \times HIV-1 PC_x \text{ (Определяемая последовательность)}] + [0,04 \times HCV PC_x \text{ (Определяемая последовательность)}] + [0,02 \times HBV PC_x \text{ (Определяемая последовательность)}]$

В продолжение примера по отрицательному и положительному калибратору выше:

Порог сигнала определяемой последовательности = $15000 + (0,02 \times 695000) + (0,04 \times 355000) + (0,02 \times 695000)$

Порог сигнала определяемой последовательности = 57000 RLU

Сведенная таблица расчета контрольных критериев PROCLEIX® ULTRIO® Assay

Контрольный критерий			
Отрицательный калибратор			
Определяемая последовательность	≥ 0	и	≤ 45000 RLU
Внутренний контроль	≥ 75000	и	≤ 375000 RLU
Калибратор, положительный по HIV-1			
Определяемая последовательность	≥ 300000	и	≤ 1800000 RLU
Внутренний контроль	≤ 475000 RLU		
Калибратор, положительный по HCV			
Определяемая последовательность	≥ 200000	и	≤ 1000000 RLU
Внутренний контроль	≤ 475000 RLU		
Калибратор, положительный по HBV			
Определяемая последовательность	≥ 300000	и	≤ 1800000 RLU
Внутренний контроль	≤ 475000 RLU		

Сведенная таблица расчета пороговых значений PROCLEIX® ULTRIO® Assay

Порог сигнала определяемой последовательности =	Средний сигнал RLU определяемой последовательности NC + $0,02 \times$ (Средний сигнал RLU определяемой последовательности в PC HIV-1) + $0,04 \times$ (Средний сигнал RLU определяемой последовательности в PC HCV) + $0,02 \times$ (Средний сигнал RLU определяемой последовательности в PC HBV)
Порог сигнала внутреннего контроля =	$0,5 \times$ (Средний сигнал RLU отрицательного калибратора в IC)

В. Избирательный тест PROCLEIX® HIV-1**Критерии соответствия отрицательного калибратора**

Анализ отрицательного калибратора проводится трехкратно. В каждом отрицательном калибраторе (Negative Calibrator, NC) сигнал внутреннего контроля (Internal Control, IC) должен иметь значение не меньше 75000 RLU и не больше 375000 RLU. В каждом отрицательном калибраторе сигнал определяемой последовательности должен иметь значение не меньше 0 RLU и не больше 45000 RLU. Если один из отрицательных калибраторов недействителен в связи с выходом значения сигнала IC либо определяемой последовательности за указанные пределы, средний сигнал отрицательных калибраторов (NC_x) будет рассчитан, исходя из двух приемлемых значений. Серия считается недействительной и должна быть исследована повторно, если сигнал IC или определяемой последовательности в двух и более из трех отрицательных калибраторов находится вне указанных пределов.

Определение среднего сигнала отрицательных калибраторов (NC_x) по внутреннему контролю [NC_x (Внутренний контроль)].

Пример:

Отрицательный калибратор	RLU внутреннего контроля
1	124000
2	126000
3	125000
Сумма RLU внутреннего контроля	= 375000

$$NC_x \text{ (Внутренний контроль)} = \frac{\text{Сумма RLU внутреннего контроля}}{3} = 125000$$

Определение среднего сигнала отрицательных калибраторов (NC_x) по определяемой последовательности [NC_x (Определяемая последовательность)].

Пример:

Отрицательный калибратор	RLU определяемой последовательности
1	12000
2	11000
3	13000
Сумма RLU определяемой последовательности	= 36000

$$NC_x \text{ (Определяемая последовательность)} = \frac{\text{Сумма RLU определяемой последовательности}}{3} = 12000$$

Контрольные критерии положительного калибратора HIV-1

В избирательном анализе PROCLEIX® HIV-1 калибратор, положительный по HIV-1, исследуется трехкратно. В каждом положительном калибраторе (Positive Calibrator, PC) по HIV-1 сигнал определяемой последовательности должен иметь значение не меньше 300000 RLU и не больше 1800000 RLU. Если сигнал одного из положительных калибраторов по HIV-1 находится вне указанных пределов, средний сигнал положительного калибратора по HIV-1 ($HIV-1 PC_x$) будет рассчитан, исходя из двух приемлемых значений положительных калибраторов по HIV-1. Серия считается недействительной и должна быть исследована повторно, если сигнал определяемой последовательности в двух и более из трех положительных калибраторов по HIV-1 находится вне указанных пределов. Сигнал IC не должен превышать 475000 RLU.

Определение среднего сигнала положительных калибраторов по HIV-1 (HIV-1 PC_x) по определяемой последовательности [HIV-1 PC_x (Определяемая последовательность)].

Пример:

Калибратор, положительный по HIV-1	RLU определяемой последовательности
1	1000000
2	1100000
3	1050000
Сумма RLU определяемой последовательности	= 3150000

$$\text{HIV-1 PC}_x = \frac{\text{Сумма RLU определяемой последовательности}}{3} = 1050000$$

Контрольные критерии положительного калибратора HCV и положительного калибратора HBV

В избирательном анализе PROCLEIX HIV-1 положительный по HCV и положительный по HBV калибраторы исследуются двукратно. В каждом повторном положительном по HBV и положительном по HCV калибраторе сигнал определяемой последовательности должен иметь значение не меньше 0 RLU и не больше 45000 RLU. В каждом положительном по HBV и положительном по HCV калибраторе сигнал IC должен иметь значение не меньше 75000 RLU и не больше 375000 RLU. Серия считается недействительной и должна быть исследована повторно, если сигнал IC или определяемой последовательности в двух и более из четырех отрицательных калибраторов находится вне указанных пределов.

Расчет порога сигнала внутреннего контроля

Порог сигнала внутреннего контроля = $0,5 \times [NC_x \text{ (Внутренний контроль)}]$

В продолжение примера по отрицательному калибратору выше:

Порог сигнала внутреннего контроля = $0,5 \times (125000)$

Порог сигнала внутреннего контроля = 62500 RLU

Расчет порога сигнала определяемой последовательности

Порог сигнала определяемой последовательности = $NC_x \text{ (Определяемая последовательность)} + [0,04 \times \text{HIV-1 PC}_x \text{ (Определяемая последовательность)}]$

В продолжение примера по отрицательному калибратору и положительному по HIV-1 калибратору выше:

Порог сигнала определяемой последовательности = $12000 + (0,04 \times 1050000)$

Порог сигнала определяемой последовательности = 54000 RLU

Сводная таблица расчета критериев соответствия избирательного анализа PROCLEIX® HIV-1

Контрольный критерий			
Отрицательный калибратор			
Определяемая последовательность	≥ 0	и	≤ 45000 RLU
Внутренний контроль	≥ 75000	и	≤ 375000 RLU
Калибратор, положительный по HIV-1			
Определяемая последовательность	≥ 300000	и	≤ 1800000 RLU
Внутренний контроль	≤ 475000 RLU		
*Положительный по HCV калибратор и положительный по HBV калибратор			
Определяемая последовательность	≥ 0	и	≤ 45000 RLU
Внутренний контроль	≥ 75000	и	≤ 375000 RLU

*Обратите внимание, что положительный по HCV калибратор и положительный по HBV калибратор при избирательном анализе PROCLEIX® HIV-1 дают результат, близкий к результату по отрицательному калибратору.

Сводная таблица расчета пороговых значений избирательного анализа PROCLEIX® HIV-1

Порог сигнала определяемой последовательности =	Средний сигнал RLU определяемой последовательности NC + $0,04 \times$ (Средний сигнал RLU определяемой последовательности в PC HIV-1)
Порог сигнала внутреннего контроля =	$0,5 \times$ (Средний сигнал RLU отрицательного калибратора в IC)

С. Избирательный анализ PROCLEIX® HCV

Критерии соответствия отрицательного калибратора

Анализ отрицательного калибратора проводится трехкратно. В каждом отрицательном калибраторе сигнал внутреннего контроля (Internal Control, IC) должен иметь значение не меньше 75000 RLU и не больше 375000 RLU. В каждом отрицательном калибраторе сигнал определяемой последовательности должен иметь значение не меньше 0 RLU и не больше 45000 RLU. Если один из отрицательных калибраторов недействителен в связи с выходом значения сигнала IC либо определяемой последовательности за указанные пределы, средний сигнал отрицательных калибраторов (NC_x) будет рассчитан, исходя из двух приемлемых значений. Серия считается недействительной и должна быть исследована повторно, если сигнал IC или определяемой последовательности в двух и более из трех отрицательных калибраторов находится вне указанных пределов.

Определение среднего сигнала отрицательных калибраторов (NC_x) по внутреннему контролю [NC_x (Внутренний контроль)].

Пример:

Отрицательный калибратор	RLU внутреннего контроля
1	124000
2	126000
3	125000
Сумма RLU внутреннего контроля	= 375000

$$NC_x \text{ (Внутренний контроль)} = \frac{\text{Сумма RLU внутреннего контроля}}{3} = 125000$$

Определение среднего сигнала отрицательных калибраторов (NC_x) по определяемой последовательности [NC_x (Определяемая последовательность)].

Пример:

Отрицательный калибратор	RLU определяемой последовательности
1	20000
2	22000
3	18000
Сумма RLU определяемой последовательности	= 60000

$$NC_x \text{ (Определяемая последовательность)} = \frac{\text{Сумма RLU определяемой последовательности}}{3} = 20000$$

Критерии соответствия положительного калибратора HCV

В избирательном тестанализе PROCLEIX® HCV калибратор, положительный по HCV, исследуется трехкратно. В каждом положительном калибраторе по HCV сигнал определяемой последовательности должен иметь значение не меньше 400000 RLU и не больше 2700000 RLU. Если сигнал одного из положительных калибраторов по HCV находится вне указанных пределов, средний сигнал положительного калибратора по HCV ($HCV PC_x$) будет рассчитан, исходя из двух приемлемых значений положительных калибраторов по HCV. Серия считается недействительной и должна быть исследована повторно, если сигнал определяемой последовательности в двух и более из трех положительных калибраторов по HCV находится вне указанных пределов. Сигнал IC не должен превышать 475000 RLU.

Определение среднего сигнала положительных калибраторов по HCV ($HCV PC_x$) по определяемой последовательности [$HCV PC_x$ (Определяемая последовательность)].

Пример:

Калибратор, положительный по HCV	RLU определяемой последовательности
1	1300000
2	1200000
3	1250000
Сумма RLU определяемой последовательности	= 3750000

$$HCV PC_x \text{ (Определяемая последовательность)} = \frac{\text{Сумма RLU определяемой последовательности}}{3} = 1250000$$

Критерии соответствия положительного калибратора HIV-1 и положительного калибратора HBV

В избирательном анализе PROCLEIX HCV положительный по HIV-1 и положительный по HBV калибраторы исследуются двукратно. В каждом положительном по HBV и положительном по HIV-1 калибраторе сигнал определяемой последовательности должен иметь значение не меньше 0 RLU и не больше 45000 RLU. В каждом положительном по HBV и положительном по HIV-1 калибраторе сигнал IC должен иметь значение не меньше 75000 RLU и не больше 375000 RLU. Серия считается недействительной и должна быть исследована повторно, если сигнал IC или определяемой последовательности в двух и более из четырех отрицательных калибраторов находится вне указанных пределов.

Расчет порога сигнала внутреннего контроля

Порог сигнала внутреннего контроля = $0,5 \times [NC_x \text{ (Внутренний контроль)}]$

В продолжение примера по отрицательному калибратору выше:

Порог сигнала внутреннего контроля = $0,5 \times (125000)$

Порог сигнала внутреннего контроля = 62500 RLU

Расчет порога сигнала определяемой последовательности

Порог сигнала определяемой последовательности = $NC_x \text{ (Определяемая последовательность)} + [0,04 \times HCV PC_x \text{ (Определяемая последовательность)}]$

В продолжение примера по отрицательному калибратору и положительному по HCV калибратору выше:

Порог сигнала определяемой последовательности = $20000 + (0,04 \times 1250000)$

Порог сигнала определяемой последовательности = 70000 RLU

Сводная таблица расчета критериев соответствия избирательного теста PROCLEIX® HCV

Контрольный критерий		
Отрицательный калибратор		
Определяемая последовательность	≥ 0	и ≤ 45000 RLU
Внутренний контроль	≥ 75000	и ≤ 375000 RLU
Положительный по HIV-1 калибратор и положительный по HBV калибратор*		
Определяемая последовательность	≥ 0	и ≤ 45000 RLU
Внутренний контроль	≥ 75000	и ≤ 375000 RLU
Калибратор, положительный по HCV		
Определяемая последовательность	≥ 400000	и ≤ 2700000 RLU
Внутренний контроль	≤ 475000 RLU	

*Обратите внимание, что положительный по HIV-1 калибратор и положительный по HBV калибратор при избирательном анализе PROCLEIX® HCV дают результат, близкий к результату по отрицательному калибратору.

Сводная таблица расчета пороговых значений избирательного анализа PROCLEIX® HCV

Порог сигнала определяемой последовательности = Средний сигнал RLU определяемой последовательности NC + 0,04 x (Средний сигнал RLU определяемой последовательности в PC HCV)
Порог сигнала внутреннего контроля = 0,5 x (Средний сигнал RLU отрицательного калибратора в IC)

D. Избирательный тест PROCLEIX® HBV

Критерии соответствия отрицательного калибратора

Анализ отрицательного калибратора проводится трехкратно. В каждом отрицательном калибраторе (Negative Calibrator, NC) сигнал внутреннего контроля (Internal Control, IC) должен иметь значение не меньше 75000 RLU и не больше 375000 RLU. В каждом отрицательном калибраторе сигнал определяемой последовательности должен иметь значение не меньше 0 RLU и не больше 45000 RLU. Если один из отрицательных калибраторов недействителен в связи с выходом значения сигнала IC либо определяемой последовательности за указанные пределы, средний сигнал отрицательных калибраторов (NC_x) будет рассчитан, исходя из двух приемлемых значений. Серия считается недействительной и должна быть исследована повторно, если сигнал IC или определяемой последовательности в двух и более из трех отрицательных калибраторов находится вне указанных пределов.

Определение среднего сигнала отрицательных калибраторов (NC_x) по внутреннему контролю [NC_x (Внутренний контроль)].

Пример:

Отрицательный калибратор	RLU внутреннего контроля
1	124000
2	126000
3	125000
Сумма RLU внутреннего контроля	= 375000

$$NC_x \text{ (Внутренний контроль)} = \frac{\text{Сумма RLU внутреннего контроля}}{3} = 125000$$

Определение среднего сигнала отрицательных калибраторов (NC_x) по определяемой последовательности [NC_x (Определяемая последовательность)].

Пример:

Отрицательный калибратор	RLU определяемой последовательности
1	12000
2	11000
3	13000
Сумма RLU определяемой последовательности	= 36000

$$NC_x \text{ (Определяемая последовательность)} = \frac{\text{Сумма RLU определяемой последовательности}}{3} = 12000$$

Критерии соответствия положительного калибратора HBV

В избирательном анализе PROCLEIX® HBV калибратор, положительный по HBV, исследуется трехкратно. В каждом положительном калибраторе (Positive Calibrator, PC) по HBV сигнал определяемой последовательности должен иметь значение не

меньше 300000 RLU и не больше 1800000 RLU. Если сигнал одного из положительных калибраторов по HBV находится вне указанных пределов, средний сигнал положительного калибратора по HBV будет рассчитан, исходя из двух приемлемых значений положительных калибраторов по HBV. Серия считается недействительной и должна быть исследована повторно, если сигнал определяемой последовательности в двух и более из трех положительных калибраторов по HBV находится вне указанных пределов. Сигнал IC не должен превышать 475000 RLU.

Определение среднего сигнала положительных калибраторов по HBV (HBV PC_x) значения по анализируемому веществу [HBV PC_x (Анализируемое вещество)].

Пример:

Калибратор, положительный по HBV	RLU определяемой последовательности
1	1150000
2	1160000
3	1170000
Сумма RLU определяемой последовательности	= 3480000

$$HBV PC_x \text{ (Анализируемое вещество)} = \frac{\text{Сумма RLU определяемой последовательности}}{3} = 1160000$$

Критерии соответствия положительного калибратора HIV-1 и положительного калибратора HCV

В избирательном анализе PROCLEIX HBV положительный по HIV-1 и положительный по HCV калибраторы исследуются двукратно. В каждом положительном по HCV и положительном по HIV-1 калибраторе сигнал определяемой последовательности должен иметь значение не меньше 0 RLU и не больше 45000 RLU. В каждом положительном по HCV и положительном по HIV-1 калибраторе сигнал IC должен иметь значение не меньше 75000 RLU и не больше 375000 RLU. Серия считается недействительной и должна быть исследована повторно, если сигнал IC или определяемой последовательности в двух и более из четырех отрицательных калибраторов находится вне указанных пределов.

Расчет порога сигнала внутреннего контроля

Порог сигнала внутреннего контроля = 0,5 x [NC_x (Внутренний контроль)]

В продолжение примера по отрицательному калибратору выше:

Порог сигнала внутреннего контроля = 0,5 x (125000)

Порог сигнала внутреннего контроля = 62500 RLU

Расчет порога сигнала определяемой последовательности

Порог сигнала определяемой последовательности = NC_x (Определяемая последовательность) + [0,04 x HBV PC_x (Определяемая последовательность)]

В продолжение примера по отрицательному калибратору и положительному по HBV калибратору выше:

Порог сигнала определяемой последовательности = 12000 + (0,04 x 1160000)

Порог сигнала определяемой последовательности = 58400 RLU

Сводная таблица расчета критериев соответствия избирательного теста PROCLEIX® HBV

Контрольный критерий			
Отрицательный калибратор			
Определяемая последовательность	≥ 0	и	≤ 45000 RLU
Внутренний контроль	≥ 75000	и	≤ 375000 RLU
Калибратор, положительный по HBV			
Определяемая последовательность	≥ 300000	и	≤ 1800000 RLU
Внутренний контроль	≤ 475000 RLU		
Положительный по HIV-1 калибратор и положительный по HCV калибратор*			
Определяемая последовательность	≥ 0	и	≤ 45000 RLU
Внутренний контроль	≥ 75000	и	≤ 375000 RLU

*Обратите внимание, что положительный по HIV-1 калибратор и положительный по HCV калибратор при избирательном анализе PROCLEIX® HBV дают результат, близкий к результату по отрицательному калибратору.

Сведенная таблица расчета пороговых значений избирательного теста PROCLEIX® HBV

Порог сигнала определяемой последовательности =	Средний сигнал RLU определяемой последовательности NC + 0,04 x (Средний сигнал RLU определяемой последовательности в PC HBV)
Порог сигнала внутреннего контроля =	0,5 x (Средний сигнал RLU отрицательного калибратора в IC)

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Все описанные выше расчеты проводятся программным обеспечением люминометра. Для каждого теста определяются два пороговых значения: для сигнала определяемой последовательности (медленногаснущий сигнал), т. е. порог сигнала определяемой последовательности, и для сигнала внутреннего контроля (Internal Control, IC) (быстрогаснущий сигнал), т. е. порог сигнала внутреннего контроля. Методика расчета этих пороговых значений показана выше. Для каждой пробы определяются значения сигнала определяемой последовательности и внутреннего контроля в RLU. Отношение сигнала определяемой последовательности к порогу сигнала определяемой последовательности в RLU указывается в отчете как отношение сигнала определяемой последовательности к порогу (Signal/Cutoff, S/CO).

Если сигнал определяемой последовательности в пробе меньше порога (т. е. S/CO определяемой последовательности $< 1,00$), чтобы результат считался действительным, сигнал внутреннего контроля должен быть больше или равен порогу сигнала внутреннего контроля (IC Cutoff). В таком случае по внутреннему контролю будет зафиксирован Действительный (Valid) результат, а проба будет обозначена как Нет реакции (Nonreactive). Если сигнал определяемой последовательности больше или равен порогу сигнала определяемой последовательности, (т. е. S/CO определяемой последовательности $\geq 1,00$), будет зафиксирован результат анализа пробы Есть реакция (Reactive). Если сигнал определяемой последовательности меньше порога сигнала определяемой последовательности (т. е. S/CO определяемой последовательности $< 1,00$), а сигнал внутреннего контроля меньше порога сигнала

внутреннего контроля, будет зарегистрирован результат Недействительный (Invalid) по внутреннему контролю и Недействительный (Invalid) по пробе. Сигнал внутреннего контроля для всех проб не должен превышать 550000 RLU. Проба автоматически будет объявлена Недействительной (Invalid).

При исследовании образцов трупной (без сердцебиения) крови причиной получения недействительного результата может стать наличие в пробе ингибиторных веществ. В таком случае можно развести пробу в соответствии с разделом СБОР, ХРАНЕНИЕ И ОБРАБОТКА ОБРАЗЦОВ, образцы трупной крови и повторить анализ только этой пробы.

Резюме интерпретации результатов исследования проб:

Интерпретация пробы	Критерий
Нет реакции	S/CO определяемой последовательности $< 1,00$ и IC $\geq$ Порог IC и IC ≤ 550000 RLU
Есть реакция	S/CO определяемой последовательности $\geq 1,00$ и IC ≤ 550000 RLU
Недействительный	IC > 550000 RLU Или S/CO определяемой последовательности $< 1,00$ и IC $<$ Порог IC

► ПОЛЬЗОВАТЕЛИ PROCLEIX® TIGRIS® SYSTEM

ПРЕДОСТАВЛЕННЫЕ МАТЕРИАЛЫ

PROCLEIX® ULTRIO® Assay Набор на 1000 тестов P/N 301103
Набор на 5000 тестов P/N 301105

Реагент с внутренним контролем
Реагент для связывания мишени
Амплификационный реагент
Ферментативный реагент
Зонд
Селекционный реагент
Отрицательный калибратор PROCLEIX®
Положительный калибратор PROCLEIX® HIV-1
Положительный калибратор PROCLEIX® HCV
Положительный калибратор PROCLEIX® HBV

НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ АНАЛИЗА МАТЕРИАЛЫ, ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ ОТДЕЛЬНО

Избирательные зонды PROCLEIX® HIV-1, HCV
и HBV

Реагент с избирательным зондом HIV-1	P/N 301107
Реагент с избирательным зондом HCV	P/N 301108
Избирательный зонд HBV	P/N 301109

Жидкости, используемые для анализа
PROCLEIX® Assay

Отмывочный раствор	P/N 301116
Масло	
Буфер для жидкости для деактивации	

Реагенты PROCLEIX® Auto Detect P/N 301120

Auto Detect 1	
Auto Detect 2	

Консервант системной жидкости PROCLEIX®
System P/N 301175

Контрольные реагенты PROCLEIX® ULTRIO®
TIGRIS® P/N 301177 / 302193

Отрицательный контроль	PROCLEIX®
ULTRIO® TIGRIS®	
Контроль HIV-1	PROCLEIX® ULTRIO®
TIGRIS®	
Контроль HCV	PROCLEIX® ULTRIO®
TIGRIS®	
Контроль HBV	PROCLEIX® ULTRIO®
TIGRIS®	

Расходные материалы

(Все расходные материалы предназначены только для однократного использования. Не используйте их повторно. Использование других расходных материалов не рекомендуется).

Многопробирочные секции (Multi-Tube Unit, MTU) – в коробках по 100 шт. P/N 104772

Набор пакетов для отходов (MTU и наконечников) – по 30 шт. каждый P/N 900907

Крышка для отходов MTU P/N 105523

Дефлектор отходов MTU P/N 105258

Запасные крышки для реагентов (TCR, селекционный реагент и раствор зонда) P/N CL0039

Запасные крышки для реагентов (Амплификационный реагент) P/N CL0042

Запасные крышки для реагентов (Ферментативный реагент и раствор избирательного зонда) P/N CL0043

Набор растворов для технического обслуживания PROCLEIX® TIGRIS® System P/N 105655

Оборудование

PROCLEIX® TIGRIS® System и руководство оператора

Инкубатор подготовки реагентов (Reagent Preparation Incubator, RPI) и автономный термомонитор (independent temperature monitor, ITM) с руководством оператора

Другое

Краткий справочник по PROCLEIX®
TIGRIS® System (PROCLEIX® TIGRIS®
System QRG)

ДРУГИЕ МАТЕРИАЛЫ, ИМЕЮЩИЕСЯ В КОМПАНИИ CHIRON ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ С ТЕСТ-НАБОРОМ PROCLEIX® ULTRIO® ASSAY

Калибраторы PROCLEIX® ULTRIO® Assay P/N 301106

Отрицательный калибратор PROCLEIX®
Положительный калибратор PROCLEIX® HIV-1
Положительный калибратор PROCLEIX® HCV
Положительный калибратор PROCLEIX® HBV

Оборудование и программное обеспечение общего назначения

Пипеточный дозатор для подготовки тестов, программное обеспечение для подготовки пулов, руководство оператора и краткий справочник
Одноразовые фильтрующие проводящие наконечники емкостью 1000 мкл или 1100 мкл в штативе, одобренном для использования с данным оборудованием (только для исследования пулов образцов)

Характеристики аппаратуры и информация для оформления заказа может быть получена в службе поддержки покупателей Chiron.

НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Хлорная известь

Для приготовления рабочих растворов с концентрацией гипохлорита натрия 5% и 0,5%

Аналог хлорной извести (необязательно)

Перечень аналогов хлорной извести и указания по их применению можно получить в службе технической поддержки Chiron.

Спирт (70% этанол, 70% раствор изопропилового спирта или салфетки с 70% раствором изопропилового спирта)

Вода, соответствующая критериям типа 1 Национального комитета по клиническим лабораторным стандартам (NCCLS)

Одноразовые фильтрующие проводящие наконечники емкостью 1000 мкл в штативе, одобренном для использования с PROCLEIX® TIGRIS® System. Сведения об одобренных для применения наконечниках можно получить в службе технической поддержки Chiron.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- A. Для диагностики *in vitro*.
- B. Для снижения риска получения недействительных результатов, перед началом серии анализа внимательно прочтите весь вкладыш PROCLEIX® ULTRIO® Assay и QRG по PROCLEIX® TIGRIS® System.
- C. Анализируемые образцы могут быть инфицированы. Во время исследования руководствуйтесь универсальными мерами предосторожности.^{26,30} Работа с материалами и их утилизация должны выполняться в соответствии с местными, государственными и федеральными нормативными требованиями.²⁷⁻²⁹ Исследование должно проводиться персоналом, обладающим адекватной квалификацией для работы с PROCLEIX® ULTRIO® Assay, и обученным правильной работе с инфицированными материалами.
- D. **УВЕДОМЛЕНИЕ.** Часть составляющих набора содержит препараты крови человека. HIV-1-положительный калибратор в этом наборе и контрольный реагент по HIV-1 PROCLEIX® ULTRIO® TIGRIS® содержит HIV-1-положительную человеческую плазму, прошедшую термическую обработку для инактивации вируса. HCV-положительный калибратор в этом наборе и контрольный реагент по HCV PROCLEIX® ULTRIO® TIGRIS® содержит HCV-положительную человеческую плазму, прошедшую термическую обработку для инактивации вируса. HBV-положительный калибратор в этом наборе и контрольный реагент по HBV PROCLEIX® ULTRIO® TIGRIS® содержит HBV-положительную человеческую плазму, прошедшую термическую обработку для инактивации вируса. Отсутствие HIV-1/2, HCV и HBV в отрицательном калибраторе и в отрицательном контрольном образце PROCLEIX® ULTRIO® TIGRIS® проверено с помощью лицензированных FDA тест-систем. Не существует метода, который давал бы абсолютную гарантию, что препарат, полученный из крови человека, не является источником инфекции. Следует считать все материалы, добытые из человеческой крови, инфицированными, и соблюдать при работе с ними универсальные меры предосторожности.^{26, 30} В случае утечки биологических материалов немедленно проведите дезинфекцию, протрите поверхность 0,5% (окончательная концентрация) раствором гипохлорита натрия (разведенная хлорная известь) либо действуйте в соответствии с принятыми в вашем учреждении инструкциями. Аналоги хлорной извести можно использовать только для обработки зон подготовки проб и в RPI. Не используйте аналоги хлорной извести для обработки PROCLEIX® TIGRIS® System.
- E. Соблюдайте обычные меры предосторожности при работе в лаборатории. Запрещается набирать растворы в пипетку ртом. Запрещается принимать пищу, пить или курить в помещениях, предназначенных для работы. С образцами и реагентами следует работать в одноразовых перчатках и лабораторных халатах. После работы с образцами и реагентами тщательно мойте руки.

- F. В качестве консерванта в данном наборе используется азид натрия. Не переносите реагенты в металлических пробирках. Сливать использованные в ходе анализа азидосодержащие растворы в канализационную систему разрешается, предварительно разбавив их и смыв большим количеством проточной воды. Эти меры предосторожности рекомендуются соблюдать во избежание накопления в металлических трубах взрывоопасных отложений.
- G. Не допускайте попадания реагентов Auto Detect 1 и 2 на глаза, кожу и слизистые оболочки. После контакта с этими реагентами соответствующий участок следует промыть водой. Пролитый реагент разведите водой, далее действуйте в соответствии с принятой в вашем учреждении инструкцией.
- H. Выполняйте требования местного, государственного и федерального законодательства в отношении утилизации материалов, которые контактировали с образцами и реагентами.^{27, 28} Тщательно очищайте и дезинфицируйте все рабочие поверхности.
- I. Используйте исключительно расходные материалы, поставленные вместе с тест-набором, либо указанные в руководстве.
- J. Не используйте тест-набор после истечения срока годности. НЕ смешивайте, НЕ заменяйте и НЕ комбинируйте реагенты из наборов, различающихся номерами партий.
- K. Не допускайте микробной контаминации реагентов и попадания в них рибонуклеазы.
- L. Соблюдайте требования относительно температуры хранения всех аналитических реагентов. Нарушение условий хранения аналитических реагентов отрицательно скажется на точности анализа. Конкретные указания приведены в разделах ИНСТРУКЦИИ ПО ХРАНЕНИЮ и ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ.
- M. Не комбинируйте аналитические реагенты и жидкости без соответствующих инструкций. Не добавляйте реагенты и растворы в контейнеры, уже содержащие некоторое количество жидкости. Система PROCLEIX TIGRIS System осуществляет контроль уровня жидкости.
- N. На некоторые входящие в данный набор реагенты нанесена маркировка по безопасности согласно Европейской Директиве 1999/45/EC. При работе с этими реагентами следует соблюдать соответствующие требования.

Паспорта данных по безопасности материалов предоставляются по требованию.

0,2% азид натрия в качестве консерванта содержится в следующих реагентах. Эти реагенты также могут являться опасными биологическими материалами.

Отрицательный калибратор PROCLEIX®
 Положительный калибратор PROCLEIX® HIV-1
 Положительный калибратор PROCLEIX® HCV
 Положительный калибратор PROCLEIX® HBV
 Отрицательный контроль PROCLEIX® ULTRIO® TIGRIS®
 Контроль HIV-1 PROCLEIX® ULTRIO® TIGRIS®
 Контроль HCV PROCLEIX® ULTRIO® TIGRIS®
 Контроль HBV PROCLEIX® ULTRIO® TIGRIS®



Xn. Опасно

R22/R32/S2/
 S13/S36/S46



Биологическая опасность

R22 Вреден при приеме внутрь

R32 При контакте с кислотой высвобождает высокотоксичный газ

S2 Хранить в недоступном для детей месте

S13 Хранить вдали от пищи, напитков и корма для животных

S36 Использовать соответствующую защитную одежду

S46 При приеме внутрь немедленно обратитесь за медицинской помощью и предъявите данный контейнер или этикетку

- O. При первом считывании штрих-кодов квадранта реагентов система PROCLEIX® TIGRIS® System регистрирует их как группу. В дальнейшем во всех рабочих списках эти реагенты должны использоваться совместно. Нельзя заменять бутылки в зарегистрированном наборе на бутылки из других зарегистрированных наборов. Более подробно см. в QRG по PROCLEIX TIGRIS System.
- P. Не рекомендуется исследовать с помощью PROCLEIX ULTRIO Assay рабочие списки или контролированные группы из 50 или менее проб, так как в этом случае программное обеспечение не отбраковывает результаты по критерию 10% недействительных результатов.
- Q. См. меры предосторожности, указанные в соответствующем вкладыше PROCLEIX® Assay, а также в QRG к PROCLEIX TIGRIS System.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

- A. Комнатная температура определяется как температура от 15 °C до 30 °C.
- B. Выберите новый или открытый ранее комплект реагентов, достаточный для количества проб в рабочем списке. Не используйте реагенты, которые использовались вне PROCLEIX® TIGRIS® System, так как аппарат выполняет проверку объема реагентов в емкостях.
- C. Убедитесь, что срок стабильности реагентов, включая срок стабильности с момента вскрытия/размораживания, не истек.

1. Система PROCLEIX TIGRIS System не отслеживает стабильность комнатной температуры реагентов или жидкостей. Однако отслеживается время с момента загрузки каждого реагента в анализатор. Анализ с использованием реагентов, для которых истек срок хранения либо срок стабильности с момента размораживания/вскрытия, не допускается системой PROCLEIX TIGRIS System. Указания по хранению реагентов с момента размораживания/вскрытия приведены в таблице ниже.

Реагент/жидкость	Стабильность после размораживания/вскрытия*
wTCR, растворы зондов, ферментативный реагент, амплификационный реагент и селекционный реагент	60 часов**
Отмывочный раствор, масло, системная жидкость, жидкость для деактивации, реагенты Auto Detect	14 суток

* Срок хранения после размораживания/вскрытия включается в срок хранения при комнатной температуре, указанный в разделе «Общая информация», ИНСТРУКЦИИ ПО ХРАНЕНИЮ.

** Нельзя включать в очередь рабочие списки, если с момента вскрытия/размораживания реагентов прошло более 48 часов.

2. Чтобы проверить время до конца срока стабильности годных наборов реагентов в базе данных системы, напечатайте отчет по статусу аналитических реагентов.
- D. Извлеките бутылку с селекционным реагентом из места, где она хранилась при комнатной температуре.
 1. Перед использованием селекционный реагент следует выдержать при комнатной температуре.

2. Если селекционный реагент по ошибке хранился при температуре от 2 °C до 8 °C, а также, если температура в лаборатории находится в пределах от 2 °C до 15 °C, в бутылки может образоваться осадок.
 3. При наличии помутнения или осадка можно использовать RPI в соответствии с указаниями в QRG по PROCLEIX TIGRIS System. Не используйте реагенты, в которых осадок не растворился, либо имеется помутнение.
 4. При наличии пены удалите ее стерильным тампоном либо стерильной пипеткой. Для каждого флакона следует брать чистый тампон или пипетку.
 5. Запишите дату вскрытия флакона в отведенном месте на этикетке (OPEN DATE).
- E. Подготовка перечисленных ниже реагентов с помощью RPI описана в QRG по PROCLEIX TIGRIS System: TCR, зонд, ферментативный реагент, амплификационный реагент и избирательные зонды для определения HIV-1, HCV и HBV. Запишите дату размораживания каждого флакона в отведенном месте на этикетке (THAW DATE).
 - F. Убедитесь, что осадок полностью растворился. Не используйте реагенты, в которых осадок не растворился, либо имеется помутнение.
 - G. Температурные параметры RPI приведены в QRG по PROCLEIX TIGRIS System.
 - H. Подготовьте рабочий реагент для связывания мишени (working Target Capture Reagent, wTCR)
 1. Извлеките TCR из места, где он хранился при температуре от 2 °C до 8 °C. НЕМЕДЛЕННО энергично перемешайте содержимое бутылки (переверните ее не менее 10 раз). НЕ ПЕРЕМЕШИВАТЬ НА ВОРТЕКСЕ.
 2. Установите TCR в RPI и следуйте указаниям в QRG по PROCLEIX TIGRIS System.
 3. Разморозьте один флакон реагента внутреннего контроля при температуре от 2 °C до 8 °C либо при комнатной температуре в течение не более 8 часов. Не используйте RPI для размораживания реагента внутреннего контроля.
 4. Тщательно перемешайте реагент внутреннего контроля на вортексе либо путем осторожного переворачивания флакона.
 5. Выгрузив TCR из RPI и нагрев IC до комнатной температуры, перелейте все содержимое флакона реагента внутреннего контроля в бутылку для TCR. Теперь рабочий реагент для связывания мишени (working Target Capture Reagent, wTCR) готов. Тщательно перемешайте содержимое бутылки.
 6. В соответствующем месте на бутылке с TCR запишите дату добавления реагента внутреннего контроля и номер партии добавленного реагента (IC LOT). Запишите дату истечения срока годности wTCR в отведенном месте на этикетке.
 7. Не выбрасывайте флакон для IC, чтобы считать и внести в систему его штрих-код.
 - I. Разморозьте калибраторы при комнатной температуре.
 1. Флаконы с калибраторами предназначены для однократного использования и размораживаются перед каждой серией анализа.
 2. Осторожно перемешайте флаконы с калибраторами, перевернув их несколько раз, чтобы не образовалась пена.
 3. При наличии пены удалите ее стерильным тампоном либо стерильной пипеткой. Для каждого флакона следует брать чистый тампон или пипетку.
 - J. Следуйте указаниям по подготовке контрольных проб PROCLEIX ULTRIO TIGRIS во вкладышах к контрольным пробам PROCLEIX® ULTRIO® TIGRIS®.
 1. Не допускайте пенообразования в растворе реагента.

2. При наличии пены удалите ее стерильным тампоном либо стерильной пипеткой. Для каждого флакона следует брать чистый тампон или пипетку.
- K. Реагенты для избирательного анализа могут использоваться с любым зарегистрированным набором реагентов (амплификационный, ферментативный, селекционный реагент, TCR и зонд) в пределах основной партии.
- L. Отмывочный раствор поставляется при температуре окружающей среды и хранится при комнатной температуре. В ходе транспортировки и хранения, если температура опускается 2 °C до 15 °C, в отмывочном растворе может образоваться осадок. Для ускорения его растворения раствор можно нагреть. Температура не должна превышать 30 °C. Перед использованием отмывочного раствора убедитесь, что осадок полностью растворился. Не используйте реагенты, в которых осадок не растворился, либо имеется помутнение.
- M. Укажите дату вскрытия и загрузки в PROCLEIX TIGRIS System флаконов с отмывочным раствором, маслом и реагентами Auto Detect 1 и Auto Detect 2 в отведенном месте на этикетке (OPEN DATE).
- N. Для приготовления жидкости для деактивации вылейте содержимое одной бутылки буфера для жидкости для деактивации в бутылку для жидкости для деактивации.
1. Доведите раствор в бутылки для жидкости для деактивации 5% раствором гипохлорита натрия до линии уровня жидкости.
 2. Прикрепите штрих-код от буфера для жидкости для деактивации к верхней части бутылки. Во время учета запасов жидкостей этот штрих-код должен быть сосканирован и сохранен в системе.
 3. Запишите дату приготовления жидкости для деактивации на этикетке буфера.
- O. Для приготовления системной жидкости вылейте содержимое одной бутылки консерванта системной жидкости PROCLEIX® System в бутылку для системной жидкости.
1. Доведите раствор в бутылки для системной жидкости до линии уровня жидкости водой, соответствующей критериям типа 1 Национального комитета по клиническим лабораторным стандартам (NCCLS).
 2. Прикрепите штрих-код от консерванта системной жидкости PROCLEIX System к верхней части бутылки. Во время учета запасов жидкостей этот штрих-код должен быть сосканирован и сохранен в системе.
 3. Запишите дату приготовления системной жидкости на этикетке консерванта.
- P. В соответствии с указаниями в QRG по PROCLEIX TIGRIS System загрузите жидкости в PROCLEIX TIGRIS System.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

Примечание. Для снижения риска получения недействительных результатов, перед началом серии анализа внимательно прочтите весь вкладыш PROCLEIX® ULTRIO® Assay. Этот вкладыш следует использовать вместе с QRG по PROCLEIX® TIGRIS® System. Процедуры технического обслуживания и информацию о работе программного обеспечения см. в QRG по PROCLEIX TIGRIS System.

A. ПОДГОТОВКА ОБОРУДОВАНИЯ

См. QRG по PROCLEIX TIGRIS System.

B. РАЗМЕР СЕРИИ

1. Тест-набор рассчитан на серию анализа в среднем из 55 тестов. При меньшем размере серии относительное число полезных тестов будет меньше.
2. Каждый рабочий список для анализа с помощью PROCLEIX® ULTRIO® Assay, может содержать до 500 тестов.

C. КОНФИГУРАЦИЯ СЕРИИ

1. Каждый рабочий список должен начинаться с набора калибраторов и заканчиваться набором контрольных проб PROCLEIX® TIGRIS®.
2. Набор калибраторов для теста PROCLEIX ULTRIO Assay включает по одному флакону отрицательного калибратора и калибраторов, положительных по HIV-1, HCV и HBV. Набор контрольных проб PROCLEIX TIGRIS включает по одному флакону отрицательного контроля PROCLEIX® ULTRIO® TIGRIS®, положительного по HIV-1 контроля PROCLEIX® ULTRIO® TIGRIS®, положительного по HCV контроля PROCLEIX® ULTRIO® TIGRIS® и положительного по HBV контроля PROCLEIX® ULTRIO® TIGRIS®.
3. Набор калибраторов для избирательных тестов включает по одному флакону отрицательного калибратора и соответствующего положительного калибратора. Набор контрольных проб PROCLEIX TIGRIS включает по одному флакону отрицательного контроля PROCLEIX TIGRIS и соответствующего положительного контроля (т. е. положительного по HIV-1 контроля PROCLEIX ULTRIO TIGRIS, положительного по HCV контроля PROCLEIX ULTRIO TIGRIS, или положительного по HBV контроля PROCLEIX ULTRIO TIGRIS).
4. Контролируемая группа – это группа проб в рабочем списке, ограниченная контрольными пробами PROCLEIX TIGRIS. Результаты исследования контролируемой группы зависят от соответствия каждой контрольной пробы критериям действительности (подробно см. в разделе «Критерии действительности серии»). По умолчанию размер контролируемой группы составляет 172 пробы, однако программное обеспечение системы PROCLEIX TIGRIS System software позволяет настраивать этот параметр. В начале первой контролируемой группы рабочего списка контрольные пробы PROCLEIX TIGRIS ставить необязательно.



5. Максимальный размер серии анализа для каждого из трех избирательных тестов составляет 100 проб, т. е. меньше, чем размер контролируемой группы по умолчанию. Таким образом, если размер контролируемой группы меньше 100, набор контрольных проб требуется включить только в конце каждого рабочего списка избирательного анализа, вне зависимости от размера этого списка.
6. Для определения позиции штатива и пробирки, в которые нужно установить калибраторы и контрольные пробы можно использовать печатный отчет по рабочему списку. Указания по просмотру и печати отчета по рабочему списку см. в QRG по PROCLEIX TIGRIS System.
7. Система автоматически считывает и проверяет правильность установки калибраторов и контрольных проб PROCLEIX TIGRIS. PROCLEIX TIGRIS System не допускает выполнения анализа, при неправильной установке калибраторов или контрольных проб PROCLEIX TIGRIS, а также, если на них отсутствует либо не может быть прочитан штрих-код.

D. ПРОЦЕСС ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТ

1. Подготовка реагентов должна выполняться в чистой зоне (свободной от матричных нуклеиновых кислот и ампликонов).
2. Зона загрузки проб должна быть чистой от ампликонов.

Е. ПАРАМЕТРЫ СРЕДЫ

В помещении, где работает PROCLEIX® TIGRIS® System (включая RPI) должна поддерживаться температура от 15 °C до 25 °C и влажность воздуха 20-85%.

Ф. ДЕКОНТАМИНАЦИЯ

1. В связи с чрезвычайно высокой точностью теста должны быть приняты все меры для предотвращения контаминации. Ежедневно протирайте столы 0,5% водным раствором гипохлорита натрия (разведенной хлорной известью). После не менее чем 15-минутной экспозиции раствор хлорной извести следует смыть водой. Растворы, содержащие хлор, могут разъедать металл. Во избежание коррозии тщательно смывайте раствор хлорной извести с поверхностей оборудования.
2. Аналоги хлорной извести можно использовать только для обработки зон подготовки проб и в инкубаторе для подготовки реагентов. **Не используйте аналоги хлорной извести для обработки PROCLEIX TIGRIS System.**
3. Система PROCLEIX TIGRIS System деконтаминируется автоматически путем добавления жидкости для деактивации в MTU перед их утилизацией.
4. Следуйте инструкциям в QRG по PROCLEIX TIGRIS System по деконтаминации и техническому обслуживанию аппарата.

Г. ВОДА, СООТВЕТСТВУЮЩАЯ КРИТЕРИЯМ ТИПА 1 НАЦИОНАЛЬНОГО КОМИТЕТА ПО КЛИНИЧЕСКИМ ЛАБОРАТОРНЫМ СТАНДАРТАМ (NCCLS)

Требуется вода, соответствующая критериям типа 1 Национального комитета по клиническим лабораторным стандартам (NCCLS). Колебания до 100 кое/мл отрицательно не влияют на результаты анализа. См. инструкции производителя относительно технического обслуживания водяной системы.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

Следует использовать калибраторы и реагенты с избирательными зондами PROCLEIX® ULTRIO® Assay из одной и той же основной партии PROCLEIX® ULTRIO® и избирательных анализов. Оператор должен убедиться, что номер основной партии калибраторов и реагентов с избирательными зондами PROCLEIX ULTRIO Assay соответствует номеру основной партии реагентов набора, указанному на листке используемой партии реагентов PROCLEIX ULTRIO Assay.

Образцы от доноров тканей и органов, включая трупный материал, должны исследоваться только по методике обследования индивидуальных доноров. Для исследования трупной (без сердцебиения) крови можно брать растворенные и нерастворенные образцы, как указано в разделах СБОР, ХРАНЕНИЕ И ОБРАБОТКА ОБРАЗЦОВ, образцы трупной крови.

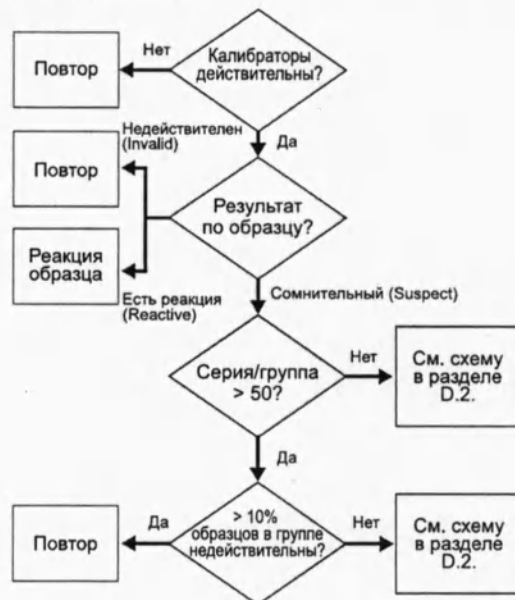
Указания по подготовке оборудования и штативов и выполнению анализа см. в QRG по PROCLEIX® TIGRIS® System.

ПРОЦЕДУРЫ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА

И. КРИТЕРИИ СООТВЕТСТВИЯ ТЕСТОВ PROCLEIX® ULTRIO® ASSAY И ИЗБИРАТЕЛЬНЫХ ТЕСТОВ PROCLEIX® HIV-1, HCV И HBV

Критерии действительности серии

- A. Если серия (рабочий список) или контролируемая группа зарегистрирована программой как недействительная, действуйте согласно схеме ниже:



- B. В контексте системы PROCLEIX® TIGRIS® System термин «Suspect» (Сомнительный) относится к не давшим реакции пробам, которые не являются недействительными автоматически, однако подлежат дальнейшей оценке в соответствии с критериями в данном разделе. При определенных условиях, изложенных в разделе D, эти пробы могут быть расценены как действительные, не давшие положительной реакции.

- C. Действительная серия должна содержать минимальное число действительных калибраторов, отвечающих следующим критериям соответствия:

1. В серии анализа PROCLEIX® ULTRIO® Assay действительными должны быть не менее семи из девяти калибраторов. Действительными должны также быть не менее двух из трех дублирующих отрицательных калибраторов и не менее пяти из шести дублирующих положительных калибраторов.
2. В серии избирательного анализа PROCLEIX® на HIV-1, HCV или HBV действительными должны быть не менее двух из трех дублирующих отрицательных калибраторов и не менее двух из трех дублирующих положительных калибраторов.
3. PROCLEIX® TIGRIS® System software автоматически проверяет критерии соответствия для калибраторов. Если число действительных калибраторов меньше минимально допустимого, PROCLEIX TIGRIS System software автоматически регистрирует серию как недействительную.
4. Для действительных серий автоматически рассчитываются значения порогов для внутреннего контроля (быстрогаснущий сигнал) и определяемой последовательности (медленногаснущий сигнал).
5. Сигнал внутреннего контроля ниже порога не делает результат по пробе или положительному калибратору недействительным при положительной реакции на определяемую последовательность (медленногаснущий сигнал).

D. Интерпретация результатов проводится в соответствии с разделением на контролируемые группы, как показано ниже.

1. Результаты анализа пробы включаются в отчет, только если вся контролируемая группа действительна. Контролируемая группа считается действительной, если действительны наборы контрольных проб PROCLEIX® TIGRIS® в начале и в конце группы (за исключением первой группы, в которой контрольные пробы PROCLEIX TIGRIS имеются только в конце). Набор контрольных проб действителен, если действительны все входящие в него пробы.
2. Контрольная проба PROCLEIX TIGRIS может быть объявлена недействительной по одной из двух причин (определения см. в QRG по PROCLEIX TIGRIS System):
 - a. Ошибки аппарата
 - b. Ошибки обработки результатов

В обоих случаях не давшие положительной реакции пробы до и после набора контрольных проб PROCLEIX TIGRIS будут отмечены PROCLEIX TIGRIS System software как сомнительные (Suspect). Недействительные пробы будут отмечены как «Недействительные» (Invalid), а давшие реакцию – как «Есть реакция» (Reactive). Указания приведены в схеме ниже:



3. Если контрольные пробы PROCLEIX TIGRIS недействительны по причине аппаратной ошибки, результаты по всем сомнительным пробам следует считать действительными с отрицательной реакцией, при условии, что следующий набор контрольных проб действителен. Если в следующих контрольных группах нет действительных контрольных проб, все сомнительные пробы должны считаться недействительными и подлежат повторному исследованию с тем же тест-набором.
4. Если контрольные пробы PROCLEIX TIGRIS недействительны по причине ошибки обработки результатов, все сомнительные пробы должны считаться недействительными и подлежат повторному исследованию с тем же тест-набором.
5. Контроль правильности обработки результатов анализа осуществляется PROCLEIX TIGRIS System software автоматически.

E. Рабочий список или отдельная проба могут быть объявлены недействительными оператором, если обнаружены и задокументированы определенные проблемы, связанные с техническими вопросами, оператором либо аппаратом.

F. Если недействительны более 10% образцов в контролируемой группе PROCLEIX ULTRIO Assay, состоящей из более чем 50 образцов, пробы, давшие реакцию, будут отмечены как «Есть реакция» (Reactive), не давшие реакцию – как «Сомнительные» (Suspect) а недействительные – как «Недействительные» (Invalid). Если рабочий список PROCLEIX ULTRIO Assay состоит из более чем 50 образцов, и разделение на контролируемые группы отсутствует, критерий 10% недействительных результатов рассчитывается для всего рабочего списка.

1. Если оператор отметил отдельные пробы как недействительные вне PROCLEIX TIGRIS System software 10%, доля недействительных проб должна быть рассчитана вручную.
2. Все сомнительные образцы в рабочем списке подлежат повторному исследованию. Давшие положительную реакцию образцы обозначаются как «Есть реакция» (Reactive) и должны исследоваться с помощью избирательных тестов на HIV-1, HCV и HBV.
3. Если размер рабочего списка или контролируемой группы составляет 50 или меньше проб, PROCLEIX TIGRIS System software не применяет критерий 10% недействительных проб автоматически. Поэтому оператор должен провести дополнительную интерпретацию данных. Если более 10% проб являются недействительными в связи с повторением одной и той же аппаратной ошибки (т. е. отмечаются одним и тем же флажком ошибки), контролируемая группа должна считаться недействительной. Для получения дополнительной помощи обратитесь в службу технической поддержки Chiron.

II. КРИТЕРИИ СООТВЕТСТВИЯ ДЛЯ КАЛИБРОВКИ И РАСЧЕТА ПОРОГА

A. PROCLEIX® ULTRIO® Assay

Критерии соответствия отрицательного калибратора

Анализ отрицательного калибратора (Negative Calibrator, NC) проводится трехкратно. В каждом отрицательном калибраторе сигнал внутреннего контроля (Internal Control, IC) должен иметь значение не меньше 75000 RLU и не больше 375000 RLU. В каждом отрицательном калибраторе сигнал определяемой последовательности должен иметь значение не меньше 0 RLU и не больше 45000 RLU. Если один из отрицательных калибраторов недействителен в связи с выходом значения сигнала IC либо определяемой последовательности за указанные пределы, средний сигнал отрицательных калибраторов (NC_x) будет рассчитан, исходя из двух приемлемых значений. Серия считается недействительной и должна быть исследована повторно, если сигнал IC или определяемой последовательности в двух и более из трех отрицательных калибраторов находится вне указанных пределов.

Определение среднего сигнала отрицательных калибраторов (NC_x) по внутреннему контролю [NC_x (Внутренний контроль)].

Пример:

Отрицательный калибратор	RLU внутреннего контроля
1	124000
2	126000
3	125000
Сумма RLU внутреннего контроля =	375000

$$NC_x \text{ (Внутренний контроль)} = \frac{\text{Сумма RLU внутреннего контроля}}{3} = 125000$$

Определение среднего сигнала отрицательных калибраторов (NC_x) по определяемой последовательности [NC_x (Определяемая последовательность)].

Пример:

Отрицательный калибратор	RLU определяемой последовательности
1	14000
2	16000
3	15000
Сумма RLU определяемой последовательности	= 45000

$$NC_x \text{ (Определяемая последовательность)} = \frac{\text{Сумма RLU определяемой последовательности}}{3} = 15000$$

Контрольные критерии положительного калибратора HIV-1

В тест-наборе PROCLEIX® ULTRIO® Assay калибратор, положительный по HIV-1, исследуется двукратно. В каждом положительном калибраторе (Positive Calibrator, PC) по HIV-1 сигнал определяемой последовательности должен иметь значение не меньше 300000 RLU и не больше 1800000 RLU. Если сигнал одного из положительных калибраторов по HIV-1 находится вне указанных пределов, средний сигнал положительного калибратора по HIV-1 (HIV-1 PC_x) будет равен приемлемому значению сигнала второго положительного калибратора по HIV-1. Серия считается недействительной и должна быть исследована повторно, если сигнал определяемой последовательности в обоих положительных калибраторах по HIV-1 находится вне указанных пределов. Сигнал IC не должен превышать 475000 RLU.

Определение среднего сигнала положительных калибраторов по HIV-1 (HIV-1 PC_x) по анализируемому веществу [HIV-1 PC_x (Анализируемое вещество)].

Пример:

Калибратор, положительный по HIV-1	RLU определяемой последовательности
1	690000
2	700000
Сумма RLU определяемой последовательности	= 1390000

$$HIV-1 PC_x \text{ (Анализируемое вещество)} = \frac{\text{Сумма RLU определяемой последовательности}}{2} = 695000$$

Критерии соответствия положительного калибратора HCV

В тест-наборе PROCLEIX® ULTRIO® Assay калибратор, положительный по HCV, исследуется двукратно. В каждом положительном калибраторе (Positive Calibrator, PC) по HCV сигнал определяемой последовательности должен иметь значение не меньше 200000 RLU и не больше 1000000 RLU. Если сигнал одного из положительных калибраторов по HCV находится вне указанных пределов, средний сигнал положительного калибратора по HCV (HCV PC_x) будет равен приемлемому значению сигнала второго положительного калибратора по HCV. Серия считается недействительной и должна быть исследована повторно, если сигнал определяемой последовательности в обоих положительных калибраторах по HCV находится вне указанных пределов. Сигнал IC не должен превышать 475000 RLU.

Определение среднего сигнала положительных калибраторов по HCV (HCV PC_x) по определяемой последовательности [HCV PC_x (Определяемая последовательность)].

Пример:

Калибратор, положительный по HCV	RLU определяемой последовательности
1	350000
2	360000
Сумма RLU определяемой последовательности	= 710000

$$HCV PC_x \text{ (Определяемая последовательность)} = \frac{\text{Сумма RLU определяемой последовательности}}{2} = 355000$$

Критерии соответствия положительного калибратора HBV

В тест-наборе PROCLEIX® ULTRIO® Assay калибратор, положительный по HBV, исследуется двукратно. В каждом положительном калибраторе (Positive Calibrator, PC) по HBV сигнал определяемой последовательности должен иметь значение не меньше 300000 RLU и не больше 1800000 RLU. Если сигнал одного из положительных калибраторов по HBV находится вне указанных пределов, средний сигнал положительного калибратора по HBV (HBV PC_x) будет равен приемлемому значению сигнала второго положительного калибратора по HBV. Серия считается недействительной и должна быть исследована повторно, если сигнал определяемой последовательности в обоих положительных калибраторах по HBV находится вне указанных пределов. Сигнал IC не должен превышать 475000 RLU.

Определение среднего сигнала положительных калибраторов по HBV (HBV PC_x) по исследуемому веществу [HBV PC_x (Исследуемое вещество)].

Пример:

Калибратор, положительный по HBV	RLU определяемой последовательности
1	690000
2	700000
Сумма RLU определяемой последовательности	= 1390000

$$HBV PC_x \text{ (Анализируемое вещество)} = \frac{\text{Сумма RLU определяемой последовательности}}{2} = 695000$$

Расчет порога сигнала внутреннего контроля

Порог сигнала внутреннего контроля = 0,5 x [NC_x (Внутренний контроль)]

В продолжение примера по отрицательному калибратору выше:

Порог сигнала внутреннего контроля = 0,5 x (125000)

Порог сигнала внутреннего контроля = 62500 RLU

Расчет порога сигнала определяемой последовательности HIV-1/HCV/HBV

Порог сигнала определяемой последовательности = NC_x (Определяемая последовательность) + $[0,02 \times HIV-1 PC_x$ (Определяемая последовательность)] + $[0,04 \times HCV PC_x$ (Определяемая последовательность)] + $[0,02 \times HBV PC_x$ (Определяемая последовательность)]

В продолжение примера по отрицательному и положительному калибратору выше:

Порог сигнала определяемой последовательности = $15000 + (0,02 \times 695000) + (0,04 \times 355000) + (0,02 \times 695000)$

Порог сигнала определяемой последовательности = 57000 RLU

Сведенная таблица расчета контрольных критериев PROCLEIX® ULTRIO® Assay

Контрольный критерий	
Отрицательный калибратор	
Определяемая последовательность	≥ 0 и ≤ 45000 RLU
Внутренний контроль	≥ 75000 и ≤ 375000 RLU
Калибратор, положительный по HIV-1	
Определяемая последовательность	≥ 300000 и ≤ 1800000 RLU
Внутренний контроль	≤ 475000 RLU
Калибратор, положительный по HCV	
Определяемая последовательность	≥ 200000 и ≤ 1000000 RLU
Внутренний контроль	≤ 475000 RLU
Калибратор, положительный по HBV	
Определяемая последовательность	≥ 300000 и ≤ 1800000 RLU
Внутренний контроль	≤ 475000 RLU

Сведенная таблица расчета пороговых значений PROCLEIX® ULTRIO® Assay

Порог сигнала определяемой последовательности =	Средний сигнал RLU определяемой последовательности NC + $0,02 \times$ (Средний сигнал RLU определяемой последовательности в PC HIV-1) + $0,04 \times$ (Средний сигнал RLU определяемой последовательности в PC HCV) + $0,02 \times$ (Средний сигнал RLU определяемой последовательности в PC HBV)
Порог сигнала внутреннего контроля =	$0,5 \times$ (Средний сигнал RLU отрицательного калибратора в IC)

В. Избирательный тест PROCLEIX® HIV-1**Критерии соответствия отрицательного калибратора**

Анализ отрицательного калибратора проводится трехкратно. В каждом отрицательном калибраторе (Negative Calibrator, NC) сигнал внутреннего контроля (Internal Control, IC) должен иметь значение не меньше 75000 RLU и не больше 375000 RLU. В каждом отрицательном калибраторе сигнал определяемой последовательности должен иметь значение не меньше 0 RLU и не

больше 45000 RLU. Если один из отрицательных калибраторов недействителен в связи с выходом значения сигнала IC либо определяемой последовательности за указанные пределы, средний сигнал отрицательных калибраторов (NC_x) будет рассчитан, исходя из двух приемлемых значений. Серия считается недействительной и должна быть исследована повторно, если сигнал IC или определяемой последовательности в двух и более из трех отрицательных калибраторов находится вне указанных пределов.

Определение среднего сигнала отрицательных калибраторов (NC_x) по внутреннему контролю [NC_x (Внутренний контроль)].

Пример:

Отрицательный калибратор	RLU внутреннего контроля
1	124000
2	125000
3	126000
Сумма RLU внутреннего контроля	= 375000

$$NC_x \text{ (Внутренний контроль)} = \frac{\text{Сумма RLU внутреннего контроля}}{3} = \frac{375000}{3} = 125000$$

Определение среднего сигнала отрицательных калибраторов (NC_x) по определяемой последовательности [NC_x (Определяемая последовательность)].

Пример:

Отрицательный калибратор	RLU определяемой последовательности
1	12000
2	11000
3	13000
Сумма RLU определяемой последовательности	= 36000

$$NC_x \text{ (Определяемая последовательность)} = \frac{\text{Сумма RLU определяемой последовательности}}{3} = \frac{36000}{3} = 12000$$

Контрольные критерии положительного калибратора HIV-1

В избирательном анализе PROCLEIX® HIV-1 калибратор, положительный по HIV-1, исследуется трехкратно. В каждом положительном калибраторе (Positive Calibrator, PC) по HIV-1 сигнал определяемой последовательности должен иметь значение не меньше 300000 RLU и не больше 1800000 RLU. Если сигнал одного из положительных калибраторов по HIV-1 находится вне указанных пределов, средний сигнал положительного калибратора по HIV-1 ($HIV-1 PC_x$) будет рассчитан, исходя из двух приемлемых значений положительных калибраторов по HIV-1. Серия считается недействительной и должна быть исследована повторно, если сигнал определяемой последовательности в двух и более из трех положительных калибраторов по HIV-1 находится вне указанных пределов. Сигнал IC не должен превышать 475000 RLU.

Определение среднего сигнала положительных калибраторов по HIV-1 (HIV-1 PC_x) по определяемой последовательности [HIV-1 PC_x (Определяемая последовательность)].

Пример:

Калибратор, положительный по HIV-1	RLU определяемой последовательности
1	1000000
2	1100000
3	1050000
Сумма RLU определяемой последовательности	= 3150000

$$\text{HIV-1 PC}_x \text{ (Определяемая последовательность)} = \frac{\text{Сумма RLU определяемой последовательности}}{3} = 1050000$$

Контрольные критерии положительного калибратора HCV и положительного калибратора HBV

Эти калибраторы не используются для избирательного анализа на HIV-1 с помощью PROCLEIX® TIGRIS® System.

Расчет порога сигнала внутреннего контроля

Порог сигнала внутреннего контроля = $0,5 \times [NC_x \text{ (Внутренний контроль)}]$

В продолжение примера по отрицательному калибратору выше:

Порог сигнала внутреннего контроля = $0,5 \times (125000)$

Порог сигнала внутреннего контроля = 62500 RLU

Расчет порога сигнала определяемой последовательности

Порог сигнала определяемой последовательности = $NC_x \text{ (Определяемая последовательность)} + [0,04 \times \text{HIV-1 PC}_x \text{ (Определяемая последовательность)}]$

В продолжение примера по отрицательному калибратору и положительному по HIV-1 калибратору выше:

Порог сигнала определяемой последовательности = $12000 + (0,04 \times 1050000)$

Порог сигнала определяемой последовательности = 54000 RLU

Калибраторы для HCV и HBV не используются для избирательного анализа на HIV-1 с помощью PROCLEIX TIGRIS System. Используются только три дублирующих отрицательных калибратора и три дублирующих калибратора на HIV-1. Это означает, что при проведении избирательного анализа из всех положительных калибраторов ULTRIO анализу подвергают только положительный калибратор для выполняемого избирательного теста. Таким образом, за счет исключения ненужных тестов повышается производительность системы.

Сводная таблица расчета критериев соответствия избирательного анализа PROCLEIX® HIV-1

Контрольный критерий			
Отрицательный калибратор			
Определяемая последовательность	≥ 0	и	$\leq 45000 \text{ RLU}$
Внутренний контроль	≥ 75000	и	$\leq 375000 \text{ RLU}$
Калибратор, положительный по HIV-1			
Определяемая последовательность	≥ 300000	и	$\leq 1800000 \text{ RLU}$
Внутренний контроль	$\leq 475000 \text{ RLU}$		

Сводная таблица расчета пороговых значений избирательного анализа PROCLEIX® HIV-1

Порог сигнала определяемой последовательности =	Средний сигнал RLU определяемой последовательности NC + $0,04 \times$ (Средний сигнал RLU определяемой последовательности в PC HIV-1)
Порог сигнала внутреннего контроля =	$0,5 \times$ (Средний сигнал RLU отрицательного калибратора в IC)

С. Избирательный анализ PROCLEIX® HCV

Критерии соответствия отрицательного калибратора

Анализ отрицательного калибратора проводится трехкратно. В каждом отрицательном калибраторе сигнал внутреннего контроля (Internal Control, IC) должен иметь значение не меньше 75000 RLU и не больше 375000 RLU. В каждом отрицательном калибраторе сигнал определяемой последовательности должен иметь значение не меньше 0 RLU и не больше 45000 RLU. Если один из отрицательных калибраторов недействителен в связи с выходом значения сигнала IC либо определяемой последовательности за указанные пределы, средний сигнал отрицательных калибраторов (NC_x) будет рассчитан, исходя из двух приемлемых значений. Серия считается недействительной и должна быть исследована повторно, если сигнал IC или определяемой последовательности в двух и более из трех отрицательных калибраторов находится вне указанных пределов.

Определение среднего сигнала отрицательных калибраторов (NC_x) по внутреннему контролю [NC_x (Внутренний контроль)].

Пример:

Отрицательный калибратор	RLU внутреннего контроля
1	124000
2	126000
3	125000
Сумма RLU внутреннего контроля	= 375000

$$NC_x \text{ (Внутренний контроль)} = \frac{\text{Сумма RLU внутреннего контроля}}{3} = 125000$$

Определение среднего сигнала отрицательных калибраторов (NC_x) по определяемой последовательности [NC_x (Определяемая последовательность)].

Пример:

Отрицательный калибратор	RLU определяемой последовательности
1	20000
2	22000
3	18000
Сумма RLU определяемой последовательности	= 60000

$$NC_x \text{ (Определяемая последовательность)} = \frac{\text{Сумма RLU определяемой последовательности}}{3} = 20000$$

Критерии соответствия положительного калибратора HCV

В избирательном тестанализе PROCLEIX® HCV калибратор, положительный по HCV, исследуется трехкратно. В каждом положительном калибраторе по HCV сигнал должен иметь значение не больше 2700000 RLU и не меньше 400000 RLU. Если сигнал одного из положительных калибраторов по HCV находится вне указанных пределов, средний сигнал положительного калибратора по HCV ($HCV PC_x$) будет рассчитан, исходя из двух приемлемых значений положительных калибраторов по HCV. Серия считается недействительной и должна быть исследована повторно, если сигнал определяемой последовательности в двух и более из трех положительных калибраторов по HCV находится вне указанных пределов. Сигнал IC не должен превышать 475000 RLU.

Определение среднего сигнала положительных калибраторов по HCV ($HCV PC_x$) по определяемой последовательности [$HCV PC_x$ (Определяемая последовательность)].

Пример:

Калибратор, положительный по HCV	RLU определяемой последовательности
1	1300000
2	1200000
3	1250000
Сумма RLU определяемой последовательности	= 3750000

$$HCV PC_x \text{ (Определяемая последовательность)} = \frac{\text{Сумма RLU определяемой последовательности}}{3} = 1250000$$

Критерии соответствия положительного калибратора HIV-1 и положительного калибратора HBV

Эти калибраторы не используются для избирательного анализа на HCV с помощью PROCLEIX® TIGRIS® System.

Расчет порога сигнала внутреннего контроля

Порог сигнала внутреннего контроля = $0,5 \times [NC_x \text{ (Внутренний контроль)}]$

В продолжение примера по отрицательному калибратору выше:

Порог сигнала внутреннего контроля = $0,5 \times (125000)$

Порог сигнала внутреннего контроля = 62500 RLU

Расчет порога сигнала определяемой последовательности

Порог сигнала определяемой последовательности = $NC_x \text{ (Определяемая последовательность)} + [0,04 \times HCV PC_x \text{ (Определяемая последовательность)}]$

В продолжение примера по отрицательному калибратору и положительному по HCV калибратору выше:

Порог сигнала определяемой последовательности = $20000 + (0,04 \times 1250000)$

Порог сигнала определяемой последовательности = 70000 RLU

Калибраторы для HIV-1 и HBV не используются для избирательного анализа на HCV с помощью PROCLEIX TIGRIS System. Используются только три дублирующих отрицательных калибратора и три дублирующих калибратора на HCV. Это означает, что при проведении избирательного анализа из всех положительных калибраторов ULTRIO анализу подвергают только положительный калибратор для выполняемого избирательного теста. Таким образом, за счет исключения ненужных тестов повышается производительность системы.

Сводная таблица расчета критериев соответствия избирательного теста PROCLEIX® HCV

Контрольный критерий	
Отрицательный калибратор	
Определяемая последовательность	≥ 0 и ≤ 45000 RLU
Внутренний контроль	≥ 75000 и ≤ 375000 RLU
Калибратор, положительный по HCV	
Определяемая последовательность	≥ 400000 и ≤ 2700000 RLU
Внутренний контроль	≤ 475000 RLU

Сводная таблица расчета пороговых значений избирательного анализа PROCLEIX® HCV

Порог сигнала определяемой последовательности =	Средний сигнал RLU определяемой последовательности NC + $0,04 \times$ (Средний сигнал RLU определяемой последовательности в PC HCV)
Порог сигнала внутреннего контроля =	$0,5 \times$ (Средний сигнал RLU отрицательного калибратора в IC)

D. Избирательный тест PROCLEIX® HBV

Критерии соответствия отрицательного калибратора

Анализ отрицательного калибратора проводится трехкратно. В каждом отрицательном калибраторе (Negative Calibrator, NC) сигнал внутреннего контроля (Internal Control, IC) должен иметь значение не меньше 75000 RLU и не больше 375000 RLU. В каждом отрицательном калибраторе сигнал определяемой последовательности должен иметь значение не меньше 0 RLU и не больше 45000 RLU. Если один из отрицательных калибраторов недействителен в связи с выходом значения сигнала IC либо определяемой последовательности за указанные пределы, средний сигнал отрицательных калибраторов (NC_x) будет рассчитан, исходя из двух приемлемых значений. Серия считается недействительной и должна быть исследована повторно, если сигнал IC или определяемой последовательности в двух и более из трех отрицательных калибраторов находится вне указанных пределов.

Определение среднего сигнала отрицательных калибраторов (NC_x) по внутреннему контролю [NC_x (Внутренний контроль)].

Пример:

Отрицательный калибратор	RLU внутреннего контроля
1	124000
2	126000
3	125000
Сумма RLU внутреннего контроля	= 375000

$$NC_x \text{ (Внутренний контроль)} = \frac{\text{Сумма RLU внутреннего контроля}}{3} = 125000$$

Определение среднего сигнала отрицательных калибраторов (NC_x) по определяемой последовательности [NC_x (Определяемая последовательность)].

Пример:

Отрицательный калибратор	RLU определяемой последовательности
1	12000
2	11000
3	13000
Сумма RLU определяемой последовательности	= 36000

$$NC_x \text{ (Определяемая последовательность)} = \frac{\text{Сумма RLU определяемой последовательности}}{3} = 12000$$

Критерии соответствия положительного калибратора HBV

В избирательном анализе PROCLEIX® HBV калибратор, положительный по HBV, исследуется трехкратно. В каждом положительном калибраторе (Positive Calibrator, PC) по HBV сигнал определяемой последовательности должен иметь значение не меньше 300000 RLU и не больше 1800000 RLU. Если сигнал одного из положительных калибраторов по HBV находится вне указанных пределов, средний сигнал положительного калибратора по HBV будет рассчитан, исходя из двух приемлемых значений положительных калибраторов по HBV. Серия считается недействительной и должна быть исследована повторно, если сигнал определяемой последовательности в двух и более из трех положительных калибраторов по HBV находится вне указанных пределов. Сигнал IC не должен превышать 475000 RLU.

Определение среднего сигнала положительных калибраторов по HBV ($HBV PC_x$) значения по анализируемому веществу [$HBV PC_x$ (Анализируемое вещество)].

Пример:

Калибратор, положительный по HBV	RLU определяемой последовательности
1	1150000
2	1160000
3	1170000
Сумма RLU определяемой последовательности	= 3480000

$$HBV PC_x \text{ (Анализируемое вещество)} = \frac{\text{Сумма RLU определяемой последовательности}}{3} = 1160000$$

Критерии соответствия положительного калибратора HIV-1 и положительного калибратора HCV

Эти калибраторы не используются для избирательного анализа на HBV с помощью PROCLEIX® TIGRIS® System.

Расчет порога сигнала внутреннего контроля

Порог сигнала внутреннего контроля = $0,5 \times [NC_x \text{ (Внутренний контроль)}]$

В продолжение примера по отрицательному калибратору выше:

Порог сигнала внутреннего контроля = $0,5 \times (125000)$

Порог сигнала внутреннего контроля = 62500 RLU

Расчет порога сигнала определяемой последовательности

Порог сигнала определяемой последовательности = $NC_x \text{ (Определяемая последовательность)} + [0,04 \times HBV PC_x \text{ (Определяемая последовательность)}]$

В продолжение примера по отрицательному калибратору и положительному по HBV калибратору выше:

Порог сигнала определяемой последовательности = $12000 + (0,04 \times 1160000)$

Порог сигнала определяемой последовательности = 58400 RLU

Калибраторы для HCV и HIV-1 не используются для избирательного анализа на HBV с помощью PROCLEIX® TIGRIS® System. Используются только три дублирующих отрицательных калибратора и три дублирующих калибратора на HBV. Это означает, что при проведении избирательного анализа из всех положительных калибраторов ULTRIO анализу подвергают только положительный контроль для выполняемого избирательного теста. Таким образом, за счет исключения ненужных тестов повышается производительность системы.

Сводная таблица расчета критериев соответствия избирательного теста PROCLEIX® HBV

Контрольный критерий		
Отрицательный калибратор		
Определяемая последовательность	≥ 0	и ≤ 45000 RLU
Внутренний контроль	≥ 75000	и ≤ 375000 RLU
Калибратор, положительный по HBV		
Определяемая последовательность	≥ 300000	и ≤ 1800000 RLU
Внутренний контроль	≤ 475000 RLU	

Сведенная таблица расчета пороговых значений избирательного теста PROCLEIX® HBV

Порог сигнала определяемой последовательности =	Средний сигнал RLU определяемой последовательности NC + 0,04 x (Средний сигнал RLU определяемой последовательности в PC HBV)
Порог сигнала внутреннего контроля =	0,5 x (Средний сигнал RLU отрицательного калибратора в IC)

Контрольные критерии для контрольных проб PROCLEIX® TIGRIS®

Система PROCLEIX® TIGRIS® System предусматривает использование контрольных проб PROCLEIX® TIGRIS® для контролированных групп в рабочих списках. Более подробно см. в QRG по PROCLEIX® TIGRIS® System. Контролируемая группа считается действительной, если для всех контрольных проб в начале и в конце группы (за исключением первой группы, в которой контрольные пробы имеются только в конце) зафиксирована надлежащая реакция (положительная для положительных контрольных проб и отрицательная для отрицательных).

Контрольные критерии для контрольных проб PROCLEIX® TIGRIS® при использовании PROCLEIX® ULTRIO® Assay

При анализе с помощью PROCLEIX® ULTRIO® Assay действительная отрицательная контрольная проба PROCLEIX® ULTRIO® TIGRIS®, действительная контрольная проба PROCLEIX® ULTRIO® TIGRIS® по HIV-1, действительная контрольная проба PROCLEIX® ULTRIO® TIGRIS® по HCV и действительная контрольная проба PROCLEIX® ULTRIO® TIGRIS® по HBV должна находиться в начале и в конце контролируемой группы (за исключением первой группы), чтобы результаты анализа группы считались действительными. Отрицательный контроль принимается при S/CO меньше 1,00 (нет реакции). Остальные контрольные пробы (HIV-1, HCV и HBV) принимаются при S/CO больше или равно 1,00 (есть реакция).

Контрольный критерий		
Отрицательный контроль		
Определяемая последовательность	≥ 0	и ≤ 150000 RLU
S/CO определяемой последовательности	$< 1,00$	
Внутренний контроль	≥ 75000	и ≤ 375000 RLU
S/CO внутреннего контроля	$\geq 1,00$	
Контроль по HIV-1		

Определяемая последовательность	≥ 45000	и	≤ 1800000 RLU
S/CO определяемой последовательности	≥ 1,00	и	< 40,00
Внутренний контроль	≤ 475000 RLU		
Контроль по HCV			
Определяемая последовательность	≥ 45000	и	≤ 1000000 RLU
S/CO определяемой последовательности	≥ 1,00	и	< 20,00
Внутренний контроль	≤ 475000 RLU		
Контроль по HBV			
Определяемая последовательность	≥ 45000	и	≤ 1800000 RLU
S/CO определяемой последовательности	≥ 1,00	и	< 40,00
Внутренний контроль	≤ 475000 RLU		

Контрольные критерии для контрольных образцов избирательного теста PROCLEIX® TIGRIS® на HIV-1

При анализе с помощью избирательного теста на HIV-1 действительная отрицательная контрольная проба PROCLEIX ULTRIO TIGRIS и действительная контрольная проба PROCLEIX ULTRIO TIGRIS по HIV-1 должна находиться в начале и в конце контролируемой группы (за исключением первой группы), чтобы результаты анализа группы считались действительными. Другие контрольные пробы не требуются. Отрицательный контроль принимается при S/CO меньше 1,00 (нет реакции). Контрольная проба по HIV-1 принимается при S/CO не меньше 1,00 (есть реакция).

Контрольный критерий		
Отрицательный контроль		
Определяемая последовательность	≥ 0	и ≤ 150000 RLU
S/CO определяемой последовательности	$< 1,00$	
Внутренний контроль	≥ 75000	и ≤ 375000 RLU
S/CO внутреннего контроля	$\geq 1,00$	
Контроль по HIV-1		
Определяемая последовательность	≥ 45000	и ≤ 1800000 RLU
S/CO определяемой последовательности	$\geq 1,00$	и $< 40,00$
Внутренний контроль	≤ 475000 RLU	

Контрольные критерии для контрольных образцов избирательного теста PROCLEIX® TIGRIS® на HCV

При анализе с помощью избирательного теста на HCV действительная отрицательная контрольная проба PROCLEIX ULTRIO TIGRIS и действительная контрольная проба PROCLEIX ULTRIO TIGRIS по HCV должна находиться в начале и в конце контролируемой группы (за исключением первой группы), чтобы результаты анализа образцов группы считались действительными. Другие контрольные пробы не требуются. Отрицательный контроль принимается при S/CO меньше 1,00 (нет реакции). Контрольная проба по HCV принимается при S/CO не меньше 1,00 (есть реакция).

Контрольный критерий		
Отрицательный контроль		
Определяемая последовательность	≥ 0 и ≤ 150000 RLU	
S/CO определяемой последовательности	$< 1,00$	
Внутренний контроль	≥ 75000 и ≤ 375000 RLU	
S/CO внутреннего контроля	$\geq 1,00$	
Контроль по HCV		
Определяемая последовательность	≥ 45000 и ≤ 2700000 RLU	
S/CO определяемой последовательности	$\geq 1,00$ и $< 40,00$	
Внутренний контроль	≤ 475000 RLU	

Контрольные критерии для контрольных образцов избирательного теста PROCLEIX® TIGRIS® на HBV

При анализе с помощью избирательного теста на HBV действительная отрицательная контрольная проба PROCLEIX ULTRIO TIGRIS и действительная контрольная проба PROCLEIX ULTRIO TIGRIS по HBV должна находиться в начале и в конце контролируемой группы, чтобы результаты анализа образцов группы считались действительными. Другие контрольные пробы не требуются. Отрицательный контроль принимается при S/CO меньше 1,00 (нет реакции). Контрольная проба по HBV принимается при S/CO не меньше 1,00 (есть реакция).

Контрольный критерий		
Отрицательный контроль		
Определяемая последовательность	≥ 0 и ≤ 150000 RLU	
S/CO определяемой последовательности	$< 1,00$	
Внутренний контроль	≥ 75000 и ≤ 375000 RLU	
S/CO внутреннего контроля	$\geq 1,00$	
Контроль по HBV		
Определяемая последовательность	≥ 45000 и ≤ 1800000 RLU	
S/CO определяемой последовательности	$\geq 1,00$ и $< 40,00$	
Внутренний контроль	≤ 475000 RLU	

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Все описанные выше расчеты выполняются программным обеспечением PROCLEIX® TIGRIS® System software. Для каждого теста определяются два пороговых значения: для сигнала определяемой последовательности (медленногаснущий сигнал), т. е. порог сигнала определяемой последовательности, и для сигнала внутреннего контроля (быстрогаснущий сигнал), т. е. порог сигнала внутреннего контроля. Методика расчета этих пороговых значений показана выше. Для каждой пробы определяются значения сигнала определяемой последовательности и внутреннего контроля в RLU. Отношение сигнала определяемой последовательности к порогу сигнала определяемой последовательности в RLU указывается в отчете как отношение сигнала определяемой последовательности к порогу (Signal/Cutoff, S/CO).

Если сигнал определяемой последовательности в пробе меньше порога (т. е. S/CO определяемой последовательности $< 1,00$), чтобы результат считался действительным, сигнал внутреннего контроля (Internal Control, IC) должен быть больше или равен порогу сигнала внутреннего контроля (IC Cutoff). В таком случае по внутреннему контролю будет зафиксирован Действительный (Valid) результат, а

проба будет обозначена как Нет реакции (Non-reactive). Если сигнал определяемой последовательности больше или равен порогу сигнала определяемой последовательности, (т. е. S/CO определяемой последовательности $\geq 1,00$), будет зафиксирован результат анализа пробы Есть реакция (Reactive). Если сигнал определяемой последовательности меньше порога сигнала определяемой последовательности (т. е. S/CO определяемой последовательности $< 1,00$), а сигнал внутреннего контроля меньше порога сигнала внутреннего контроля, будет зарегистрирован результат Недействительный (Invalid) по внутреннему контролю и Недействительный (Invalid) по пробе. Сигнал внутреннего контроля для всех проб не должен превышать 650000 RLU. Проба автоматически будет объявлена Недействительной (Invalid).

При исследовании неразведенных образцов трупной (без сердечбиения) крови причиной получения недействительного результата может стать наличие в пробе ингибиторных веществ. В таком случае можно развести пробу в соответствии с разделом СБОР, ХРАНЕНИЕ И ОБРАБОТКА ОБРАЗЦОВ, образцы трупной крови и повторить анализ только этой пробы.

Резюме интерпретации результатов исследования проб:

Интерпретация пробы	Критерий
Нет реакции	S/CO определяемой последовательности $< 1,00$ и IC $\geq$ Порог IC и IC ≤ 650000 RLU
Есть реакция	S/CO определяемой последовательности $\geq 1,00$ и IC ≤ 650000 RLU
Недействительный	IC > 650000 RLU Или S/CO определяемой последовательности $< 1,00$ и IC $<$ Порог IC

► ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

СПЕЦИФИЧНОСТЬ

PROCLEIX® System - специфичность теста PROCLEIX® ULTRIO® и избирательных тестов при исследовании нормальной крови доноров

Исследованию с помощью теста PROCLEIX® ULTRIO® Assay (ULTRIO) и трех избирательных тестов PROCLEIX® (dHIV-1, dHCV и dHBV) были подвергнуты 2947 образцов замороженной нормальной донорской плазмы, которые ранее были проверены с помощью лицензированных серологических тестов на антитела anti-HIV, anti-HCV и HBsAg. Одна проба дала положительную реакцию на HCV после повторного исследования и количественного анализа NAT. Эта проба была исключена из расчетов. Общее число сбоев по внутреннему контролю (Internal Control, IC) при первоначальном исследовании составило 18 из 2946 (0,61%). Во всех случаях при повторном тестировании этих IC проб были получены действительные результаты. Это означает, что ни в одной пробе не наблюдалось угнетение реакции амплификации. Первоначально положительная реакция была получена при исследовании 0,24% (7 из 2946) образцов. Частота положительных реакций при первоначальном анализе с помощью ULTRIO Assay составила 0% (0 из 736). Частота положительных реакций первоначального анализа с помощью dHIV-1, dHCV и dHBV составила 0,14% (1 из 730), 0,54% (4 из 740) и 0,27% (2 из 740) соответственно. Общая специфичность после первоначального исследования составила 99,76%. После повторного исследования специфичность теста составила 100% (Таблица 1а).

Таблица 1а. PROCLEIX® System - специфичность теста PROCLEIX® ULTRIO® и избирательных тестов при исследовании нормальной замороженной плазмы доноров крови*

	ULTRIO	dHIV-1	dHCV	dHBV
Исследовано проб	736	730	740	740
Реакция при первоначальном обследовании	0**	1	4	2
Частота положительных реакций при первоначальном обследовании	0%	0,14%	0,54%	0,27%
Специфичность после первоначального исследования	100%	99,86%	99,46%	99,73%
Скорректированная частота положительных реакций	0%	0%***	0%***	0%***
Специфичность после повторного исследования	100%	100%	100%	100%
Общее среднее S/CO отрицательных проб по определяемой последовательности	0,08 ± 0,05	0,13 ± 0,07	0,08 ± 0,08	0,06 ± 0,08

*Для исследования были использованы реагенты из двух разных партий.

**Один из образцов дал положительную реакцию только при исследовании с помощью тестов ULTRIO и dHCV. Положительная реакция на HCV в этой пробе была подтверждена при помощи количественного анализа на нуклеиновую кислоту HCV. Проба была исключена из анализа.

***После повторного анализа положительная реакция не была получена ни для одной из проб, которые дали положительную реакцию при первоначальном исследовании.

PROCLEIX® TIGRIS® System - специфичность теста PROCLEIX® ULTRIO® и избирательных тестов при обследовании нормальной донорской крови

Исследованию с помощью теста PROCLEIX® ULTRIO® Assay (ULTRIO) и трех избирательных тестов PROCLEIX® (dHIV-1, dHCV и dHBV) были подвергнуты 6006 образцов замороженной нормальной донорской плазмы, которые ранее были проверены с помощью лицензированных серологических тестов на антитела anti-HIV, anti-HCV и HBsAg и лицензированных тестов NAT на HIV-1 и HCV. Общее число сбоев по внутреннему контролю (Internal Control, IC) при первоначальном исследовании составило 4 из 6006 (0,07%). Во всех случаях при повторном тестировании этих IC проб были получены действительные результаты. Это означает, что ни в одной пробе не наблюдалось угнетение реакции амплификации. Первоначально положительная реакция была получена при исследовании 0,17% (10 из 6006) образцов. Частота положительных реакций при первоначальном анализе с помощью ULTRIO теста составила 0,40% (6 из 1500). Частота получения положительных результатов первоначального анализа с помощью dHIV-1, dHCV и dHBV составила 0% (0 из 1500), 0,27% (4 из 1500) и 0% (0 из 1506) соответственно. Общая специфичность после первоначального исследования составила 99,83%. После повторного исследования специфичность теста составила 100%.

Таблица 1b. PROCLEIX® TIGRIS® System - специфичность теста PROCLEIX® ULTRIO® и избирательных тестов при исследовании нормальной замороженной плазмы доноров крови*

	ULTRIO	dHIV-1	dHCV	dHBV
Исследовано проб	1500	1500	1500	1506
Реакция при первоначальном обследовании	6	0	4	0
Частота положительных реакций при первоначальном обследовании	0,40%	0%	0,27%	0%
Специфичность после первоначального исследования	99,60%	100%	99,73%	100%
Скорректированная частота положительных реакций	0%**	0%	0%**	0%
Специфичность после повторного исследования	100%	100%	100%	100%
Общее среднее S/CO отрицательных проб по определяемой последовательности	0,05 ± 0,07	0,03 ± 0,05	0,04 ± 0,07	0,03 ± 0,05

*Для исследования были использованы реагенты из трех разных партий.

**После повторного анализа положительная реакция не была получена ни для одной из проб, которые дали положительную реакцию при первоначальном исследовании.

ИССЛЕДОВАНИЯ НЕСПЕЦИФИЧНОЙ РЕАКТИВНОСТИ

PROCLEIX® System - специфичность и чувствительность теста PROCLEIX® ULTRIO® и избирательных тестов при наличии факторов донора и забора материала, осложняющих анализ

Перекрестная реактивность или влияние на результат посторонних веществ при исследовании с помощью ULTRIO теста и соответствующих избирательных тестов гемолизированных, липидемических образцов и образцов, содержащих сывороточный альбумин (до 6 г/дл), гемоглобин (до 500 мг/дл) и липиды (до 3000 мг/дл) обнаружена не была. При детекции на HIV-1 и HCV не была обнаружена перекрестная реактивность или влияние на результат посторонних веществ, а при детекции на HBV не была обнаружена перекрестная реактивность во время анализа естественной иктерической плазмы или плазмы, содержащей билирубин в концентрации до 20 мг/дл. Однако высокий уровень билирубина (при его добавлении в пробу) обуславливает некоторое снижение аналитической чувствительности определения HBV. Этот эффект не был обнаружен при концентрации билирубина 2,5 мг/дл.

При исследовании образцов пациентов с аутоиммунными заболеваниями и заболеваниями печени, не являющихся следствием инфекции HCV или HBV, перекрестная реактивность и влияние посторонних веществ на результат анализа не наблюдалось. Было исследовано большое число образцов пациентов со следующими аутоиммунными состояниями: ревматоидный артрит, ревматоидный фактор, антинуклеарные антитела, рассеянный склероз, красная системная волчанка и множественная миелома. Кроме того, исследовались образцы от лиц, вакцинированных от гриппа, от пациентов с повышенным уровнем IgM, IgG, ALT, а также от пациентов с алкогольным циррозом печени.

При исследовании плазмы, контаминированной бактериями, а также плазмы пациентов, инфицированных другими кровяными агентами, случаи перекрестной реактивности и влияния посторонних веществ на результат анализа не наблюдались. Было исследовано большое число образцов пациентов со следующими вирусными инфекциями: простой герпес 1 и 2 типа, ЦМВ, вирус Эпштейна-Барра, вирус гепатита А, HTLV-I, HTLV-II, HIV-2, вирус гепатита G, краснухи и парвовирус В-19.

PROCLEIX® TIGRIS® System - специфичность и чувствительность теста PROCLEIX® ULTRIO® и избирательных тестов при наличии факторов донора и забора образцов

Перекрестная реактивность или влияние на результат посторонних веществ при исследовании с помощью ULTRIO теста и соответствующих избирательных тестов гемолизированных, липидемических образцов и образцов, содержащих сывороточный альбумин (до 6 г/дл), гемоглобин (до 500 мг/дл) и липиды (до 3000 мг/дл) обнаружена не была. При детекции на HIV-1 и HCV не была обнаружена перекрестная реактивность или влияние на результат посторонних веществ, а при детекции на HBV не была обнаружена перекрестная реактивность во время анализа естественной иктерической плазмы или плазмы, содержащей билирубин в концентрации до 20 мг/дл. Однако высокий уровень билирубина (при его добавлении в пробу) обуславливает некоторое снижение аналитической чувствительности определения HBV. Этот эффект не был обнаружен при концентрации билирубина 2,5 мг/дл.

При исследовании образцов пациентов с аутоиммунными заболеваниями и заболеваниями печени, не являющихся следствием инфекции HCV или HBV, перекрестная реактивность и влияние посторонних веществ на результат анализа не наблюдалось. Было исследовано большое число образцов пациентов со следующими аутоиммунными состояниями: ревматоидный фактор, антинуклеарные антитела, красная системная волчанка и множественная миелома. Кроме того, исследовались образцы от лиц, вакцинированных от гриппа, от пациентов с повышенным уровнем IgM, IgG, ALT, а также от пациентов с алкогольным циррозом печени.

При исследовании плазмы, контаминированной бактериями, а также плазмы пациентов, инфицированных другими кровяными агентами, случаи перекрестной реактивности и влияния посторонних веществ на результат анализа не наблюдались. Было исследовано большое число образцов пациентов со следующими вирусными инфекциями: простой герпес 1 и 2 типа, ЦМВ, вирус Эпштейна-Барра, вирус гепатита А, HTLV-I, HTLV-II, вирус гепатита G, краснухи и парвовирус В-19.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ

PROCLEIX® System - исследование образцов от HIV-1, HCV или HBV-инфицированных лиц

У коммерческого поставщика были приобретены 1272 образца заведомо положительных по RNA вирусов HIV-1 или HCV, либо по серологическим маркерам HBV с использованием доступных в продаже тест-систем. Эти образцы были разделены на положительные по RNA вируса HIV-1 ($n = 425$), положительные по RNA вируса HCV ($n = 412$) и положительные по HBsAg ($n = 435$). Для исследования были использованы реагенты из двух разных партий. Пробы исследовали с помощью тест-набора ULTRIO теста в неразведенном виде, а также в разведении 1:8 и 1:16. Кроме того, неразведенные пробы подвергли анализу с помощью тест-наборов dHIV-1, dHCV и dHBV. Для разведения использовали обработанную человеческую сыворотку, давшую отрицательную реакцию на антитела к HIV1/2, антитела к HCV и HBsAg.

Ниже представлены данные о чувствительности теста, полученные при исследовании положительных по HIV-1 или HCV образцов с неизвестной концентрацией вируса или с концентрацией вируса не менее 100 копий/мл, а также положительных по HBV образцов с неизвестной концентрацией вируса или с концентрацией вируса не менее 15 МЕ/мл. Из анализа были исключены образцы, содержащие вирусную RNA в концентрации < 100 копий/мл (HIV-1 и HCV) и вирусную DNA в концентрации < 15 МЕ/мл (HBV) по результатам дополнительного анализа для разрешения дискордантных результатов. Из анализа были также исключены 25 заведомо HIV-1-положительных, 12 HCV-положительных и 42 HBV-положительных образца с концентрацией вируса ниже минимальной требующейся для анализа. Общее число включенных в анализ образцов составило 400 HIV-1-положительных, 400 HCV-положительных и 393 HBV-положительных (Таблица 2).

Чувствительность определения HIV-1. Чувствительность определения HIV-1 в HIV-1-положительных неразведенных образцах при помощи тест-наборов ULTRIO и dHIV-1 составила 99,50% (доверительный интервал [Confidence Interval, CI] 95%: 98,21-99,94%) и 100% (95% CI: 99,08-100%), соответственно. Чувствительность тест-набора ULTRIO теста для разведенных (1:8) HIV-1-положительных проб составила 98,50% (95% CI: 96,76-99,45%). Чувствительность тест-набора ULTRIO теста для разведенных (1:16) HIV-1-положительных проб составила 98,25% (95% CI: 96,43-99,29%).

Чувствительность определения HCV. Чувствительность определения HCV в HCV-положительных неразведенных образцах при помощи тест-наборов ULTRIO и dHCV составила 100% (95% CI: 99,08-100%) и 99,75% (95% CI: 98,61-99,99%), соответственно. Чувствительность тест-набора ULTRIO теста для разведенных (1:8) HCV-положительных проб составила 100% (95% CI: 99,08-100%). Чувствительность тест-набора ULTRIO теста для разведенных (1:16) HCV-положительных проб составила 99,75% (95% CI: 98,61-99,99%).

Чувствительность определения HBV. Чувствительность определения HBV в HBV-положительных неразведенных образцах при помощи тест-наборов ULTRIO и dHBV составила 99,75% (95% CI: 98,59-99,99%) и 98,73% (95% CI: 97,06-99,59%), соответственно. Чувствительность тест-набора ULTRIO теста для разведенных (1:8) HBV-положительных проб составила 97,48% (95% CI: 94,88-98,98%). Чувствительность тест-набора ULTRIO теста для разведенных (1:16) HBV-положительных проб составила 97,67% (95% CI: 94,99-99,14%).

Общая чувствительность. Общая клиническая чувствительность тест-набора ULTRIO теста с учетом всех проб (концентрация RNA и DNA ≥ 100 копий/мл или ≥ 15 МЕ/мл), исследованных в неразведенном состоянии, составила 99,75% (95% CI: 99,27-99,95). Между тестами ULTRIO и dHIV-1, ULTRIO и dHCV, а также ULTRIO и dHBV имелись расхождения, которые, однако, были статистически незначительными, на что указывают перекрывающиеся доверительные интервалы (95%) (Таблица 2).

Таблица 2. PROCLEIX® System - клиническая чувствительность теста PROCLEIX® ULTRIO® и избирательных тестов при исследовании заведомо положительных образцов

Проба	ULTRIO											
	Чувствительность при исследовании неразведенных образцов				Чувствительность при исследовании разведенных образцов (1:8)				Чувствительность при исследовании разведенных образцов (1:16)			
	N	TP	%	(95% CI)	N	TP	%	(95% CI)	N	TP	%	(95% CI)
Все	1193	1190	99,75	(99,27-99,95)	1077	1064	98,79	(97,94-99,36)	1056	1042	98,67	(97,79-99,27)
Только HIV	400	398	99,50	(98,21-99,94)	400	394	98,50	(96,76-99,45)	400	393	98,25	(96,43-99,29)
Только HCV	400	400	100	(99,08-100)	399	399	100	(99,08-100)	399	398	99,75	(98,61-99,99)
Только HBV	393	392	99,75	(98,59-99,99)	278	271	97,48	(94,88-98,98)	257	251	97,67	(94,99-99,14)

dHIV-1				
Чувствительность				
Проба	N	TP	%	(95% CI)
Только HIV	400	400	100	(99,08-100)

dHCV				
Чувствительность				
Проба	N	TP	%	(95% CI)
Только HCV	400	399	99,75	(98,61-99,99)

dHBV				
Чувствительность				
Проба	N	TP	%	(95% CI)
Только HBV	393	388	98,73	(97,06-99,59)
CI = доверительный интервал				
Концентрация RNA (HIV-1, HCV) ≥ 100 копий/мл				
Концентрация DNA (HBV) ≥ 15 МЕ/мл				

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ

PROCLEIX® System - диагностическая чувствительность

Дополнительный анализ чувствительности тест-наборов с включением всех 1272 исследованных проб, вне зависимости от концентрации нуклеиновых кислот (выше или ниже заявленного предела детекции) показал, что диагностическая чувствительность PROCLEIX® ULTRIO® Assay составляет 99,06% (95% CI: 97,61-99,74) для HIV-1, 97,82% (95% CI: 95,89-99,00) для HCV и 97,93% (95% CI: 96,11-99,05) для HBV, общая диагностическая чувствительность 98,27% (95% CI: 97,39-98,91). Общая диагностическая чувствительность составила 91,27% и 89,62% при разведении проб 1:8 и 1:16, соответственно. Аналитическая чувствительность избирательных анализов была близка к наблюдаемой с PROCLEIX ULTRIO теста, на что указывают 95% перекрывающиеся доверительные интервалы частоты получения положительной реакции. Диагностическая чувствительность избирательного теста на HIV-1 по результатам исследования всех 425 действительных неразведенных проб составила 98,35% (95% CI: 96,64-99,34). Диагностическая чувствительность избирательного теста на HCV по результатам исследования всех 412 действительных неразведенных проб составила 98,30% (95% CI: 96,53-99,31). Диагностическая чувствительность избирательного теста на HBV по результатам исследования всех 435 действительных неразведенных проб составила 96,09% (95% CI: 93,82-97,71).

PROCLEIX® System - исследование проб от пациентов в фазе сероконверсии

Исследованию с помощью тестов ULTRIO, dHIV-1, dHCV и dHBV были подвергнуты доступные в продаже панели сероконверсии, полученные от доноров плазмафереза. Использовали по десять наборов панелей сероконверсии HIV-1, HCV и HBV, исследование проводили с применением реагентов одной партии. Результаты анализа сравнивали с полученными с помощью тестов на антитела Abbott HIV-1/2 и на антиген Abbott HIV-1 p24 (панели сероконверсии HIV-1), тестов Ortho HCV 3.0 ELISA или Abbott Anti-HCV 2.0 (панели сероконверсии HCV) и тестов Abbott Prism HBsAg (панели сероконверсии HBV).

При исследовании неразведенных образцов с помощью ULTRIO теста удавалось обнаружить HIV-1-инфекцию в среднем на 14 и 8 дней раньше, чем с помощью тестов Abbott на антитела к HIV-1/2 и на антиген HIV-1 p24, соответственно (Таблица 3). При исследовании образцов в разведении 1:8 и 1:16 с помощью ULTRIO теста удавалось обнаружить HIV-1-инфекцию в среднем на 11,5 и 4 дней раньше, чем с помощью тестов Abbott на антитела к HIV-1/2 и на антиген HIV-1 p24, соответственно. При исследовании неразведенных образцов с помощью dHIV-1 удавалось обнаружить HIV-1-инфекцию в среднем на 14 и 7 дней раньше, чем с помощью тестов Abbott на антитела к HIV-1/2 и на антиген HIV-1 p24, соответственно. Сокращение окна сероконверсии при исследовании с помощью тест-наборов ULTRIO и dHIV-1, в сравнении с тестом на антитела Abbott HIV-1/2, было зафиксировано для всех 10 панелей. Анализ с помощью ULTRIO теста позволил определить инфекцию раньше, чем тест на антиген p24, в 9 из 9 панелей, положительных по этому антигену.

Таблица 3. PROCLEIX® System - определение RNA HIV-1 в панелях сероконверсии HIV-1 с помощью теста PROCLEIX® ULTRIO® и избирательного теста на HIV-1

Идентификатор панели	Разница в сроке детекции в сравнении с реакцией на антитела к HIV-1/2, дни				Разница в сроке детекции в сравнении с реакцией на антиген HIV-1 p24, дни			
	ULTRIO			dHIV-1	ULTRIO			dHIV-1
	Неразведенный образец	1:8	1:16		Неразведенный образец	1:8	1:16	
BCP 6240	12	7	7	7	7	2	2	2
BCP 6246*	11	7	7	11	4	0	0	4
BCP 6247	16	9	9	14	9	2	2	7
BCP 9011*	15	13	13	15	15	13	13	15
BCP 9016*	12	7	7	12	8	3	3	8
BCP 9018	14	11	11	11	10	7	7	7
BCP 9021*	14	14	14	14	4	4	4	4
BCP 9030	14	14	14	14	7	7	7	7
BCP 9031*	15	12	12	15	22	19	19	22
BCP 9032* [^]	15	15	15	19	НО	НО	НО	НО
Медиана	14	11,5	11,5	14	8	4	4	7

*В расчетах не учитывали промежуточные положительные реакции в тесте ULTRIO, полученные до экспоненциального возрастания вiremii.

[^]В данной панели в течение 54 дней отсутствовала сероконверсия по антигену HIV-1 p24.

НО = не определяется в реакции Abbott HIV-1 p24 Антиген, поэтому сравнение с тестом ULTRIO и с избирательным тестом невозможно.

При исследовании неразведенных образцов с помощью теста ULTRIO удавалось обнаружить HCV-инфекцию в среднем на 32 дня раньше, чем с помощью тестов на антитела к HCV (Таблица 4). При исследовании образцов в разведении 1:8 и 1:16 с помощью теста ULTRIO удавалось обнаружить HCV-инфекцию в среднем на 32 дня раньше, чем с помощью тестов на антитела к HCV, соответственно. При исследовании неразведенных образцов с помощью теста dHCV удавалось обнаружить HCV-инфекцию в среднем на 34,5 дня раньше, чем с помощью тестов на антитела к HCV. Сокращение окна сероконверсии при исследовании с помощью тест-наборов ULTRIO и dHCV, в сравнении с тестом на антитела к HCV, было зафиксировано для 9 из 10 тестовых образцов.

Таблица 4. PROCLEIX® System - определение RNA HCV в тестовых образцах сероконверсии HCV с помощью теста PROCLEIX® ULTRIO® и избирательного теста на HCV

Идентификатор панели	Разница в сроке детекции в сравнении с реакцией на антитела к HCV, дни			
	ULTRIO			dHCV
	Неразведенный образец	1:8	1:16	Неразведенный образец
BCP 6211	44	44	44	44
BCP 6213	27	27	27	30
BCP 6216	0	0	0	0
BCP 6222	23	23	23	23
BCP 6225	33	33	33	39
BCP 6227	52	34	34	52
BCP 6228*	31	31	31	31
BCP 9041	38	38	38	38
BCP 9045*	46	46	46	46
BCP 9047*	29	29	29	29
Медиана	32	32	32	34,5

*Получение положительной реакции при исследовании первого образца панели сероконверсии с помощью теста ULTRIO в сравнении с Ortho HCV 3.0.

При исследовании неразведенных образцов с помощью теста ULTRIO удавалось обнаружить HBV-инфекцию в среднем на 18,5 дня раньше, чем с помощью тестов на HBsAg (Таблица 5). При исследовании образцов в разведении 1:8 и 1:16 с помощью теста ULTRIO удавалось обнаружить инфекцию в среднем на 11,5 и 6,5 дня раньше, соответственно. При исследовании неразведенных образцов с помощью теста dHBV удавалось обнаружить HBV-инфекцию в среднем на 17 дней раньше, чем с помощью тестов на HBsAg. Сокращение окна сероконверсии при исследовании с помощью тест-наборов ULTRIO и dHBV, в сравнении с тестом на антитела к HBV, было зафиксировано для 10 из 10 панелей.

Таблица 5. PROCLEIX® System - определение DNA HBV в панелях сероконверсии HBV с помощью теста PROCLEIX® ULTRIO® и избирательного теста на HBV

Идентификатор панели	Разница в сроке детекции в сравнении с реакцией на HBsAg, дни			
	ULTRIO			dHBV
	Неразведенный образец	1:8	1:16	Неразведенный образец
BCP 6283	17	3	3	17
BCP 6284	11	7	7	11
BCP 6285*	10	3	3	12
BCP 6291*	19	19	19	17
BCP 6292*	23	11	0	23
BCP 11006*	21	21	21	23
BCP 11008*	22	12	8	19
BCP 11014	18	16	0	16
BCP 11015	29	29	27	29
BCP 11017	15	6	6	15
Медиана	18,5	11,5	6,5	17

*Получение положительной реакции при исследовании первого образца панели сероконверсии с помощью теста ULTRIO в сравнении с Abbott Prism HBsAg.

АНАЛИТИЧЕСКАЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ

В качестве панелей для определения аналитической чувствительности теста использовали серийные разведения вируса HIV-1 типа В, и стандартов ВОЗ вирусов HIV-1 (97/656), HCV (96/790) и HBV (97/746). Панели вируса HIV-1 типа В приготовили путем серийного разведения супернатанта тканевой культуры HIV-1 типа В, полученного от компании BBI Biotech Research Laboratories, Inc. (Гейтерсберг, Мэриленд). Для количественной оценки штамма вируса, использованного для приготовления панели, использовали собственный количественный тест на HIV-1, откалиброванный по стандарту VQA Standard, Virology Quality Assurance Laboratory, медицинский центр Rush-Presbyterian St. Luke's Medical Center, Rush University, Чикаго, Иллинойс. Для каждого уровня концентрации вируса четырьмя операторами было проведено по 20 дублирующих тестов (в общей сложности по 80 тестов) с использованием двух партий реагентов PROCLEIX® System. Аналогичные наборы панелей были исследованы с помощью TIGRIS® System. Для каждого уровня концентрации вируса на четырех аппаратах было проведено по 30 дублирующих тестов (в общей сложности по 120 тестов) с использованием трех партий реагентов PROCLEIX® System. Доверительные интервалы 95% для частоты получения положительной реакции были получены на основании точного биномиального распределения. Приводится выполненный с помощью модели Probit расчет концентрации вируса, при которой вероятность детекции составляет 50% и 95%.

PROCLEIX® System - детекция вируса HIV-1 типа В

Вирус HIV-1 типа В определялся при помощи тестов ULTRIO и dHIV-1 в 100% случаев при уровне 300 копий/мл и 100 копий/мл, а также в > 97% случаев при уровне 30 копий/мл для обоих тестов. Частота получения положительной реакции при уровне 10 копий/мл составила 70% и 69% для тест-наборов ULTRIO и dHIV-1, соответственно. Частота детекции положительной реакции при уровне 3 копии/мл составила 30% и 20% для тест-наборов ULTRIO и dHIV-1, соответственно. Между тестами имелись расхождения, которые, однако, были статистически незначительными, на что указывают перекрывающиеся доверительные интервалы (95%) (Таблица 6а).

Таблица 6а. PROCLEIX® System - детекция вируса HIV-1 типа В в панелях для исследования аналитической чувствительности

HIV-1 В копий/мл	ULTRIO						dHIV-1					
	Число прореаги- ровавших проб/	%	Доверительные интервал 95%		Среднее	%CV	Число прореаги- ровавших проб/	%	Доверительные интервал 95%		Среднее	%CV
	Исследова- но ^А		Нижний	Верхний			Исследова- но ^А		Нижний	Верхний		
300	80/80	100	95	100	16,22	12	80/80	100	95	100	27,43	13
100	80/80	100	95	100	13,76	11	80/80	100	95	100	22,01	18
30	77/79 ^А	97	91	100	10,40	33	79/80	99	93	100	16,29	37
10	55/79 ^А	70	58	79	7,81	40	55/80	69	57	79	12,84	50
3	24/80	30	20	41	5,99	57	16/79 ^А	20	12	31	12,47	60
0	0/79 ^А	0	0	4	0,12	65	0/80	0	0	4	0,13	80

^АНедействительные результаты не включены.

PROCLEIX® TIGRIS® System - детекция вируса HIV-1 типа В

Вирус HIV-1 типа В определялся при помощи тестов ULTRIO и dHIV-1 в 100% случаев при уровне 300 копий/мл и 100 копий/мл. Частота получения положительной реакции при уровне 30 копий/мл составила 92% и 88% для тест-наборов ULTRIO и dHIV-1, соответственно. Частота получения положительной реакции при уровне 10 копий/мл составила 60% и 57% для тест-наборов ULTRIO и dHIV-1, соответственно. Частота детекции положительной реакции при уровне 3 копии/мл составила 18% и 26% для тест-наборов ULTRIO и dHIV-1, соответственно. Между тестами имелись расхождения, которые, однако, были статистически незначительными, на что указывают перекрывающиеся доверительные интервалы (95%) (Таблица 6b).

Таблица 6b. PROCLEIX® TIGRIS® System - детекция вируса HIV-1 типа В в панелях для исследования аналитической чувствительности

HIV-1 В копий/мл	ULTRIO						dHIV-1					
	Число прореаги- ровавших проб/ Исследовано ^А	%	Доверительные интервал 95%		Среднее S/CO	%CV	Число прореаги- ровавших проб/ Исследовано ^А	%	Доверительные интервал 95%		Среднее S/CO	%CV
			Положи- тельные	Нижний Верхний					Положи- тельные	Нижний Верхний		
300	119/119 ^А	100	97	100	14,98	9	118/118 ^А	100	97	100	22,77	5
100	118/118 ^А	100	97	100	12,52	15	120/120	100	97	100	19,00	18
30	108/118 ^А	92	85	96	8,42	44	104/118 ^А	88	81	93	12,28	49
10	71/119 ^А	60	50	69	6,82	54	68/120	57	47	66	9,62	58
3	21/120	18	11	26	4,11	79	31/118 ^А	26	19	35	9,81	58
0	0/120	0	0	3	0,05	109	0/120	0	0	3	0,03	142

^АНедействительные результаты не включены.

PROCLEIX® System - детекция стандарта ВОЗ вируса HIV-1 (97/656)**

Частота детекции HIV-1 стандарта ВОЗ с помощью тест-набора dHIV-1 составила 100% при уровнях 600, 200 и 60 МЕ/мл. При уровне 20 МЕ/мл и 6 МЕ/мл частота детекции вируса составила 91% и 58%, соответственно (Таблица 7a).

Таблица 7a. PROCLEIX® System - детекция стандарта ВОЗ вируса HIV-1 в панелях для исследования аналитической чувствительности

HIV-1 ВОЗ (97/656) МЕ/мл	dHIV-1					
	Число прореагировавших проб/ Исследовано ^А	%	Доверительные интервал 95%		Среднее S/CO	%CV
			Положи- тельные	Нижний Верхний		
600	80/80	100	95	100	29,44	18
200	80/80	100	95	100	24,13	17
60	79/79 ^А	100	95	100	21,94	22
20	73/80	91	83	96	16,82	38
6	46/80	58	46	68	12,08	59
0	0/77 ^А	0	0	4	0,11	92

^АНедействительные результаты не включены.

** В связи с вероятной перекрестной реактивностью данного стандарта с HBV,³⁶ испытывали только тест-набор dHIV-1. За более подробной информацией обращайтесь в Национальный институт биологических стандартов и контрольных образцов (National Institute for Biological Standards and Control, NIBSC), Blanche Lane, South Mimms, Potters Bar, Hertfordshire EN6 3QG, U.K (Великобритания). Enquiries@nibsc.ac.uk или <http://www.nibsc.ac.uk>. Телефон: 44 (0) 1707 641000. Факс: 44 (0) 1707 646854.

PROCLEIX® TIGRIS® System - детекция стандарта ВОЗ вируса HIV-1 (97/656)

Частота детекции HIV-1 стандарта ВОЗ с помощью тест-набора dHIV-1 составила 100% при уровнях 600, 200 и 60 МЕ/мл. При уровне 20 МЕ/мл и 6 МЕ/мл частота детекции вируса составила 90% и 58%, соответственно (Таблица 7b).

Таблица 7b. PROCLEIX® TIGRIS® System - детекция стандарта ВОЗ вируса HIV-1 в панелях для исследования аналитической чувствительности

HIV-1 ВОЗ (97/656) МЕ/мл	dHIV-1					
	Число прореагировавших проб/ Исследовано ^А	%	Доверительные интервал 95%		Среднее S/CO	%CV
			Нижний	Верхний		
600	120/120	100	97	100	24,48	5
200	119/119 ^А	100	97	100	22,52	5
60	118/118 ^А	100	97	100	20,07	14
20	108/120	90	83	95	14,64	39
6	69/120	58	48	67	10,32	52
0	0/120	0	0	3	0,03	151

^АНедействительные результаты не включены.

PROCLEIX® System - детекция стандарта ВОЗ вируса HCV (96/790)

При уровне 100 МЕ/мл, 30 МЕ/мл и 10 МЕ/мл частота детекции стандарта ВОЗ вируса HCV с помощью тест-наборов ULTRIO и dHCV составила 100%. При уровне 3 МЕ/мл частота детекции вируса с помощью тест-набора ULTRIO составила 93%. При уровне 3 МЕ/мл частота детекции вируса с помощью тест-набора dHCV составила 99%. Частота определения вируса при уровне 1 МЕ/мл составила 61% и 59% для тест-наборов ULTRIO и dHCV, соответственно. Статистически значимые различия между частотой получения положительных реакций на стандарт ВОЗ вируса HCV при помощи тестов ULTRIO и dHCV отсутствовали (Таблица 8a).

Таблица 8a. PROCLEIX® System - детекция стандарта ВОЗ вируса HCV в панелях для исследования аналитической чувствительности

HCV ВОЗ (96/790) МЕ/мл	ULTRIO						dHCV					
	Число прореагировавших проб/ Исследовано ^А	%	Доверительные интервал 95%		Среднее S/CO	%CV	Число прореагировавших проб/ Исследовано ^А	%	Доверительные интервал 95%		Среднее S/CO	%CV
			Нижний	Верхний					Нижний	Верхний		
100	80/80	100	95	100	8,47	9	80/80	100	95	100	24,38	4
30	80/80	100	95	100	7,54	7	80/80	100	95	100	22,42	6
10	80/80	100	95	100	7,47	7	80/80	100	95	100	21,93	8
3	74/80	93	84	97	7,04	15	79/80	99	93	100	20,53	19
1	49/80	61	50	72	7,08	13	47/80	59	47	70	18,02	36
0	0/80	0	0	4	0,09	63	0/78 ^А	0	0	4	0,05	162

^АНедействительные результаты не включены.

PROCLEIX® TIGRIS® System - детекция стандарта ВОЗ вируса HCV (96/790)

При уровне 100 МЕ/мл, 30 МЕ/мл и 10 МЕ/мл частота детекции стандарта ВОЗ вируса HCV с помощью тест-наборов ULTRIO и dHCV составила 100%. При уровне 3 МЕ/мл частота детекции вируса с помощью тест-набора ULTRIO составила 90%. При уровне 1 МЕ/мл частота детекции вируса с помощью тест-набора dHCV составила 88%. Частота определения вируса при уровне 1 МЕ/мл составила 59% и 56% для тест-наборов ULTRIO и dHCV, соответственно. Статистически значимые различия между частотой детекции положительных реакций на стандарт ВОЗ вируса HCV при помощи тестов ULTRIO и dHCV отсутствовали (Таблица 8b).

Таблица 8b. PROCLEIX® TIGRIS® System - детекция стандарта ВОЗ вируса HCV в панелях для исследования аналитической чувствительности

HCV ВОЗ (96/790)	ULTRIO						dHCV					
	Число прореаги- ровавших проб/	%	Доверительные интервал 95%		Среднее		Число прореаги- ровавших проб/	%	Доверительные интервал 95%		Среднее	
	МЕ/мл	Исследова- но^	Положи- тельные	Нижний	Верхний		S/CO	%CV	Исследова- но^	Положи- тельные	Нижний	
100	115/115^	100	97	100	7,67	5	119/119^	100	97	100	23,45	6
30	119/119^	100	97	100	7,55	5	119/119^	100	97	100	22,93	6
10	120/120	100	97	100	7,38	8	119/119^	100	97	100	22,48	8
3	108/120	90	83	95	6,63	21	106/120	88	81	94	19,88	27
1	70/118^	59	50	68	6,11	34	66/118^	56	47	65	16,99	37
0	0/120	0	0	3	0,05	109	0/119^	0	0	3	0,03	186

^АНедействительные результаты не включены.

PROCLEIX® System - детекция стандарта ВОЗ вируса HBV (97/746)

При уровне 45 МЕ/мл и 15 МЕ/мл частота детекции стандарта ВОЗ вируса HBV при помощи тестов ULTRIO и dHBV составила 100%. Частота детекции HBV при уровне 5 МЕ/мл при помощи тестов ULTRIO и dHBV составила соответственно 74% и 75%, при уровне 1,67 МЕ/мл – соответственно 35% и 44%, и при уровне 0,56 МЕ/мл – соответственно 11% и 13%. Статистически значимые различия между частотой детекции положительных реакций на стандарт ВОЗ вируса HBV при помощи тестов ULTRIO и dHBV отсутствовали (Таблица 9a).

Таблица 9a. PROCLEIX® System - детекция стандарта ВОЗ вируса HBV в панелях для исследования аналитической чувствительности

HBV ВОЗ (97/746)	ULTRIO						dHBV						
	Число прореаги- ровавших проб/	%	Доверительные интервал 95%		Среднее	%CV	Число прореаги- ровавших проб/	%	Доверительные интервал 95%		Среднее	%CV	
			Исследо- вано	Положи- тельные					Нижний	Верхний			Исследо- вано
МЕ/мл													
45	80/80	100	95	100	16,10	4	80/80	100	95	100	25,48	4	
15	80/80	100	95	100	14,89	12	80/80	100	95	100	23,08	14	
5	59/80	74	63	83	13,70	19	60/80	75	64	84	21,40	27	
1,67	28/80	35	25	46	10,33	51	35/80	44	33	55	17,91	48	
0,56	9/80	11	5	20	12,21	42	10/80	13	6	22	20,94	27	
0	0/80	0	0	4	0,07	42	0/80	0	0	4	0,04	144	

PROCLEIX® TIGRIS® System - детекция стандарта ВОЗ вируса HBV (97/746)

При уровне 45 МЕ/мл частота детекции стандарта ВОЗ вируса HBV при помощи тестов ULTRIO и dHBV составила 100%. Частота детекции вируса при уровне 15 МЕ/мл составила 97% и 98% для тест-наборов ULTRIO и dHBV, соответственно. Частота детекции HBV при уровне 5 МЕ/мл при помощи тестов ULTRIO и dHBV составила, соответственно, 75% и 77%, при уровне 1,67 МЕ/мл – соответственно, 31% и 33%, и при уровне 0,56 МЕ/мл – соответственно, 15% и 12%. Статистически значимые различия между частотой детекции положительных реакций на стандарт ВОЗ вируса HBV при помощи тестов ULTRIO и dHBV отсутствовали (Таблица 9b).

Таблица 9b. PROCLEIX® TIGRIS® System - детекция стандарта ВОЗ вируса HBV в панелях для исследования аналитической чувствительности

HBV ВОЗ (97/746) МЕ/мл	ULTRIO						dHBV					
	Число прореаги- ровавших проб/	%	Доверительные интервал 95%		Среднее	%CV	Число прореаги- ровавших проб/	%	Доверительные интервал 95%		Среднее	%CV
	Исследова- но ^А		Положи- тельные	Нижний	Верхний		Исследова- но ^А		Положи- тельные	Нижний	Верхний	
45	120/120	100	97	100	14,97	5	119/119 ^А	100	97	100	24,00	8
15	116/120	97	92	99	14,57	11	116/118 ^А	98	94	100	23,48	12
5	88/118 ^А	75	66	82	13,03	27	90/117 ^А	77	68	84	21,49	18
1,67	37/120	31	23	40	10,90	27	39/120	33	24	42	17,10	45
0,56	18/120	15	9	23	11,63	38	14/119 ^А	12	7	19	10,90	101
0	0/119 ^А	0	0	3	0,04	103	0/119 ^А	0	0	3	0,02	227

^АНедействительные результаты не включены.

PROCLEIX® System - Probit-анализ

Предполагаемый уровень вирусных нуклеиновых кислот в копиях/мл и МЕ/мл, при котором вероятность детекции вируса составляет 50% и 95%, был рассчитан для каждой мишени путем обработки данных об аналитической чувствительности с помощью модели Probit. Уровень HIV-1 типа В, при котором частота детекции вируса равна 95%, составляет 20,72 копий/мл для теста ULTRIO и 17,84 копий/мл для теста dHIV-1. Уровень модели ВОЗ HIV-1, при котором частота определения вируса равна 95%, составляет для теста dHIV-1 19,62 МЕ/мл. Уровень модели ВОЗ HCV, при котором частота детекции вируса равна 95%, составляет 2,78 МЕ/мл и 1,95 МЕ/мл для тестов ULTRIO и dHCV соответственно. Уровень HBV, при котором вероятность детекции вируса равна 95%, составляет 7,46 МЕ/мл и 7,42 МЕ/мл для тестов ULTRIO и dHBV соответственно (Таблица 10а).

Таблица 10а. PROCLEIX® System - вероятность детекции вирусов HIV-1, HCV и HBV

Исследованная панель	Тест	Вероятность детекции	
		50% (границы доверительного интервала 95%)	95% (границы доверительного интервала 95%)
[HIV-1 В] копий/мл	ULTRIO Тест	8,51 (7,16-10,16)	20,72 (17,68-25,43)
[HIV-1 В] копий/мл	Тест dHIV-1	8,47 (7,34-9,88)	17,84 (15,42-21,57)
[HIV ВОЗ (97/656)] МЕ/мл	Тест dHIV-1	8,14 (6,73-9,63)	19,62 (17,15-23,16)
HCV ВОЗ (96/790) МЕ/мл	ULTRIO Тест	1,20 (1,00-1,40)	2,78 (2,44-3,27)
HCV ВОЗ (96/790) МЕ/мл	Тест dHCV	1,00 (0,86-1,16)	1,95 (1,67-2,41)
HBV ВОЗ (97/746) МЕ/мл	ULTRIO Тест	3,18 (2,72-3,76)	7,46 (6,43-8,97)
HBV ВОЗ (97/746) МЕ/мл	Тест dHBV	2,95 (2,49-3,52)	7,42 (6,35-9,02)

PROCLEIX® TIGRIS® System - Probit-анализ

Предполагаемый уровень вирусных нуклеиновых кислот в копиях/мл и МЕ/мл, при котором вероятность детекции вируса составляет 50% и 95%, был рассчитан для каждой мишени путем обработки данных об аналитической чувствительности с помощью модели Probit. Уровень HIV-1 типа В, при котором частота детекции вируса равна 95%, составляет 28,79 копий/мл для теста ULTRIO и 32,15 копий/мл для теста dHIV-1. Уровень модели ВОЗ HIV-1, при котором частота определения вируса равна 95%, составляет для теста dHIV-1 20,26 МЕ/мл. Уровень модели ВОЗ HCV, при котором частота детекции вируса равна 95%, составляет 3,01 МЕ/мл и 3,17 МЕ/мл для тестов ULTRIO и dHCV соответственно. Уровень HBV, при котором вирус определяется в 95% случаев, составляет 10,44 МЕ/мл и 8,52 МЕ/мл для тестов ULTRIO и dHBV соответственно (Таблица 10b).

Таблица 10b. PROCLEIX® TIGRIS® System - вероятность детекции HIV-1, HCV и HBV

Исследованная панель	Тест	Вероятность детекции	
		50% (границы доверительного интервала 95%)	95% (границы доверительного интервала 95%)
[HIV-1 В] копий/мл	ULTRIO Тест	12,39 (10,95-14,00)	28,79 (25,85-32,68)
[HIV-1 В] копий/мл	Тест dHIV-1	12,74 (11,14-14,50)	32,15 (28,74-36,70)
[HIV ВОЗ (97/656)] МЕ/мл	Тест dHIV-1	8,38 (7,22-9,60)	20,26 (18,14-23,09)
HCV ВОЗ (96/790) МЕ/мл	ULTRIO Тест	1,28 (1,11-1,46)	3,01 (2,71-3,42)
HCV ВОЗ (96/790) МЕ/мл	Тест dHCV	1,37 (1,19-1,55)	3,17 (2,85-3,59)
HBV ВОЗ (97/746) МЕ/мл	ULTRIO Тест	4,26 (3,73-4,88)	10,44 (9,20-12,16)
HBV ВОЗ (97/746) МЕ/мл	Тест dHBV	3,74 (3,32-4,24)	8,52 (7,56-9,84)

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ДЕТЕКЦИИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ВАРИАНТОВ HIV-1, HCV, И HBV

Для определения чувствительности детекции генетических вариантов вирусов было использовано большое число образцов и изолятов тканевых культур.

PROCLEIX® System - детекция генетических вариантов HIV-1 с помощью теста PROCLEIX® ULTRIO® и избирательного теста на HIV-1

Количественное определение вируса в образцах и изолятах тканевых культур HIV-1 групп М (подтипы А, В, С, D, Е, F и G), N и О выполняли с помощью коммерческих или собственных тест-систем для количественного определения RNA HIV-1. Образцы разводили отрицательной человеческой плазмой до концентрации вируса 300, 100 и 30 копий/мл. Разведенные образцы подвергали исследованию с помощью тестов ULTRIO и dHIV-1. Всего было исследовано 53 уникальных образца и изолята тканевых культур, анализ проводили с помощью PROCLEIX® System с применением реагентов из одной партии. В 6 образцах была обнаружена коинфекция HCV и/или HBV; эти образцы исследовали только с помощью тест-системы dHIV-1. Все HIV-1-положительные образцы дали положительную реакцию в тестах ULTRIO и dHIV-1 при концентрации вирусов 300 копий/мл. При концентрации вирусов 100 копий/мл положительная реакция была получена для 46 из 47 образцов в тесте ULTRIO и для 52 из 53 образцов в тесте dHIV-1. При концентрации вирусов 30 копий/мл положительная реакция была получена для всех образцов в тесте dHIV-1 и для 42 из 47 образцов в тесте ULTRIO (Таблица 11а).

Таблица 11а. PROCLEIX® System - детекция генетических вариантов HIV-1 с помощью теста PROCLEIX® ULTRIO® и избирательного теста на HIV-1

Генетический вариант	Конц. копий/мл	ULTRIO	dHIV-1
HIV-1, группа М подтип А	300	7/7	7/7
	100	7/7	7/7
	30	7/7	7/7
HIV-1, группа М подтип В	300	5/5	7/7
	100	5/5	7/7
	30	4/5	7/7
HIV-1, группа М подтип С	300	8/8	8/8
	100	7/8	8/8
	30	5/8	8/8
HIV-1, группа М подтип D	300	7/7	7/7
	100	7/7	6/7
	30	7/7	7/7
HIV-1, группа М подтип Е	300	6/6	7/7
	100	6/6	7/7
	30	6/6	7/7
HIV-1, группа М подтип F	300	4/4	6/6
	100	4/4	6/6
	30	4/4	6/6
HIV-1, группа М подтип G	300	2/2	3/3
	100	2/2	3/3
	30	2/2	3/3
HIV-1, группа N	300	1/1	1/1
	100	1/1	1/1
	30	0/1	1/1
HIV-1, группа О	300	7/7	7/7
	100	7/7	7/7
	30	7/7	7/7
Сумма вариантов HIV-1	300	47/47	53/53
	100	46/47	52/53
	30	42/47	53/53

PROCLEIX® TIGRIS® System - детекция генетических вариантов HIV-1 с помощью теста PROCLEIX® ULTRIO® и избирательного теста на HIV-1

Количественное определение вируса в образцах и изолятах тканевых культур HIV-1 групп М (подтипы А, В, С, D, Е, F и G), N и О выполняли с помощью коммерческих или собственных тест-систем для количественного определения RNA HIV-1. Образцы разводили отрицательной человеческой плазмой до концентрации вируса 300, 100 и 30 копий/мл. Разведенные образцы подвергали исследованию с помощью тестов ULTRIO и dHIV-1. Всего было исследовано 54 уникальных образца и изолята, анализ проводили с помощью PROCLEIX® TIGRIS® System с применением реагентов из трех партий. В 6 образцах была обнаружена коинфекция HCV и/или HBV; эти образцы исследовали только с помощью тест-системы dHIV-1. Все HIV-1-положительные образцы дали положительную реакцию в тестах ULTRIO и dHIV-1 при концентрации вирусов 300 копий/мл и 100 копий/мл с реагентами всех трех партий. При концентрации вирусов 30 копий/мл положительная реакция была получена для 52 из 54 образцов в тесте dHIV-1 и для 48 из 48 образцов в тесте ULTRIO с партией реактивов (Clinical Lot, CL) 1, для 52 из 54 в тесте dHIV-1 и для 44 из 48 в тесте ULTRIO с CL2, а также для 51 из 54 в тесте dHIV-1 и для 46 из 48 в тесте ULTRIO с CL3 (Таблица 11b).

Таблица 11b. PROCLEIX® TIGRIS® System - детекция генетических вариантов HIV-1 с помощью теста PROCLEIX® ULTRIO® и избирательного теста на HIV-1

Генетический вариант	Конц. копий/мл	CL1		CL2		CL3	
		ULTRIO	dHIV-1	ULTRIO	dHIV-1	ULTRIO	dHIV-1
HIV-1, группа М подтип А	300	8/8	9/9	8/8	9/9	8/8	9/9
	100	8/8	9/9	8/8	9/9	8/8	9/9
	30	8/8	9/9	8/8	8/9	8/8	9/9
HIV-1, группа М подтип В	300	6/6	7/7	6/6	7/7	6/6	7/7
	100	6/6	7/7	6/6	7/7	6/6	7/7
	30	6/6	6/7	6/6	7/7	6/6	7/7
HIV-1, группа М подтип С	300	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
	100	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
	30	8/8	7/8	7/8	7/8	8/8	6/8
HIV-1, группа М подтип D	300	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6
	100	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6
	30	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6
HIV-1, группа М подтип Е	300	8/8	9/9	8/8	9/9	8/8	9/9
	100	8/8	9/9	8/8	9/9	8/8	9/9
	30	8/8	9/9	8/8	9/9	8/8	9/9
HIV-1, группа М подтип F	300	3/3	5/5	3/3	5/5	3/3	5/5
	100	3/3	5/5	3/3	5/5	3/3	5/5
	30	3/3	5/5	3/3	4/5	3/3	5/5
HIV-1, группа М подтип G	300	1/1	2/2	1/1	2/2	1/1	2/2
	100	1/1	2/2	1/1	2/2	1/1	2/2
	30	1/1	2/2	1/1	2/2	1/1	2/2
HIV-1, группа N	300	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
	100	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
	30	1/1	1/1	0/1	0/1	0/1	1/1
HIV-1, группа О	300	7/7	7/7	7/7	7/7	7/7	7/7
	100	7/7	7/7	7/7	7/7	7/7	7/7
	30	7/7	7/7	5/7	7/7	6/7	6/7
Сумма вариантов HIV-1	300	48/48	54/54	48/48	54/54	48/48	54/54
	100	48/48	54/54	48/48	54/54	48/48	54/54
	30	48/48	52/54	44/48	52/54	46/48	51/54

PROCLEIX® System - детекция генетических вариантов HCV с помощью теста PROCLEIX® ULTRIO® и избирательного теста на HCV

Для количественного определения RNA HCV в образцах с HCV генотипов 1, 2, 3, 4, 5 и 6 была использована коммерческая система количественного определения RNA HCV. Образцы разводили отрицательной человеческой плазмой до концентрации вируса 300, 100 и 30 копий/мл. Разведенные образцы подвергали исследованию с помощью тестов ULTRIO и dHCV. Всего было исследовано 42 уникальных образца, анализ проводили с помощью PROCLEIX® System с применением реагентов из одной партии. В 2 образцах была обнаружена коинфекция HIV-1 и/или HBV; эти образцы исследовали только с помощью тест-системы dHCV. При исследовании с помощью тестов ULTRIO и dHCV для образцов всех генотипов вируса HCV с концентрацией 300, 100 и 30 копий/мл получена положительная реакция (Таблица 12а).

Таблица 12а. PROCLEIX® System - детекция генетических вариантов HCV с помощью теста PROCLEIX® ULTRIO® и избирательного теста на HCV

Генетический вариант	Концентрация копий/мл	ULTRIO	dHCV
HCV Генотип 1	300	7/7	7/7
	100	7/7	7/7
	30	7/7	7/7
HCV Генотип 2	300	13/13	14/14
	100	13/13	14/14
	30	13/13	14/14
HCV Генотип 3	300	6/6	6/6
	100	6/6	6/6
	30	6/6	6/6
HCV Генотип 4	300	6/6	7/7
	100	6/6	7/7
	30	6/6	7/7
HCV Генотип 5	300	3/3	3/3
	100	3/3	3/3
	30	3/3	3/3
HCV Генотип 6	300	5/5	5/5
	100	5/5	5/5
	30	5/5	5/5
Сумма вариантов HCV	300	40/40	42/42
	100	40/40	42/42
	30	40/40	42/42

PROCLEIX® TIGRIS® System - детекция генетических вариантов HCV с помощью теста PROCLEIX® ULTRIO® и избирательного теста на HCV

Для количественного определения RNA HCV в образцах с HCV генотипов 1, 2, 3, 4, 5 и 6 была использована коммерческая система количественного определения RNA HCV. Образцы разводили отрицательной человеческой плазмой до концентрации вируса 300, 100 и 30 копий/мл. Разведенные образцы подвергали исследованию с помощью тестов ULTRIO и dHCV. Всего был исследован 61 уникальный образец, анализ проводили с помощью PROCLEIX® TIGRIS® System с применением реагентов из трех партий. В 1 образце была обнаружена коинфекция HIV-1; этот образец исследовали только с помощью тест-системы dHCV. При исследовании с помощью тестов ULTRIO и dHCV с реагентами из каждой партии для образцов всех генотипов вируса HCV с концентрацией 300 копий/мл получена положительная реакция. При концентрации вирусов 100 копий/мл положительная реакция была получена для 61 из 61 образцов в тесте dHCV с реагентами каждой из трех партий. При концентрации вирусов 30 копий/мл положительная реакция была получена для 60 из 60 образцов в тесте ULTRIO была получена для 60 из 60 образцов с реагентами CL1, и для 59 из 60 образцов с реагентами CL2 и CL3. При концентрации вирусов 30 копий/мл положительная реакция была получена для 59 из 61 образцов в тесте dHCV и для 60 из 60 образцов в тесте ULTRIO с партией CL1, для 59 из 61 в тесте dHCV и для 59 из 60 в тесте ULTRIO с CL2, а также для 61 из 61 в тесте dHCV и для 60 из 60 в тесте ULTRIO с CL3 (Таблица 12b).

Таблица 12b. PROCLEIX® TIGRIS® System - детекция генетических вариантов HCV с помощью теста PROCLEIX® ULTRIO® и избирательного теста на HCV

Генетический вариант	Конц. копий/мл	CL1		CL2		CL3	
		ULTRIO	dHCV	ULTRIO	dHCV	ULTRIO	dHCV
HCV Генотип 1	300	11/11	11/11	11/11	11/11	11/11	11/11
	100	11/11	11/11	11/11	11/11	11/11	11/11
	30	11/11	11/11	11/11	11/11	11/11	11/11
HCV Генотип 2	300	12/12	13/13	12/12	13/13	12/12	13/13
	100	12/12	13/13	11/12	13/13	11/12	13/13
	30	12/12	12/13	11/12	12/13	12/12	13/13
HCV Генотип 3	300	12/12	12/12	12/12	12/12	12/12	12/12
	100	12/12	12/12	12/12	12/12	12/12	12/12
	30	12/12	11/12	12/12	11/12	12/12	12/12
HCV Генотип 4	300	14/14	14/14	14/14	14/14	14/14	14/14
	100	14/14	14/14	14/14	14/14	14/14	14/14
	30	14/14	14/14	14/14	14/14	14/14	14/14
HCV Генотип 5	300	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6
	100	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6
	30	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6
HCV Генотип 6	300	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
	100	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
	30	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
Сумма вариантов HCV	300	60/60	61/61	60/60	61/61	60/60	61/61
	100	60/60	61/61	59/60	61/61	59/60	61/61
	30	60/60	59/61	59/60	59/61	60/60	61/61

PROCLEIX® System - детекция генетических вариантов HBV с помощью теста PROCLEIX® ULTRIO® и избирательного теста на HBV

Для количественного определения DNA HBV в образцах с HBV генотипов A, B, C, D, E, F и G была использована коммерческая система количественного определения DNA HBV. Образцы разводили отрицательной человеческой плазмой до концентрации вируса 300, 100 и 30 копий/мл. Разведенные образцы подвергали исследованию с помощью тестов ULTRIO и dHBV. Всего было исследовано 56 уникальных образцов, анализ проводили с помощью PROCLEIX® System с применением реагентов из одной партии. При исследовании с помощью тестов ULTRIO и dHBV получена положительная реакция для всех образцов генотипов вируса HBV с концентрацией 300 копий/мл и для 54 из 56 образцов с концентрацией 100 копий/мл. При концентрации вирусов 30 копий/мл положительная реакция была получена для 46 из 56 образцов в тесте ULTRIO и для 47 из 56 образцов в тесте dHBV (Таблица 13а).

Таблица 13а. PROCLEIX® System - детекция генетических вариантов HBV с помощью теста PROCLEIX® ULTRIO® и избирательного теста на HBV

Генетический вариант	Конц. копий/мл	ULTRIO	dHBV
HBV Генотип A	300	15/15	15/15
	100	14/15	15/15
	30	12/15	14/15
HBV Генотип B	300	7/7	7/7
	100	7/7	7/7
	30	7/7	7/7
HBV Генотип C	300	9/9	9/9
	100	9/9	9/9
	30	8/9	7/9
HBV Генотип D	300	10/10	10/10
	100	9/10	9/10
	30	6/10	7/10
HBV Генотип E	300	5/5	5/5
	100	5/5	5/5
	30	4/5	4/5
HBV Генотип F	300	9/9	9/9
	100	9/9	8/9
	30	8/9	7/9
HBV Генотип G	300	1/1	1/1
	100	1/1	1/1
	30	1/1	1/1
Сумма вариантов HBV	300	56/56	56/56
	100	54/56	54/56
	30	46/56	47/56

PROCLEIX® TIGRIS® System - детекция генетических вариантов HBV с помощью теста PROCLEIX® ULTRIO® и избирательного теста на HBV

Для количественного определения DNA HBV в образцах с HBV генотипов A, B, C, D, E, F и G была использована коммерческая система количественного определения DNA HBV. Образцы разводили отрицательной человеческой плазмой до концентрации вируса 300, 100 и 30 копий/мл. Разведенные образцы подвергали исследованию с помощью тестов ULTRIO и dHBV. Всего было исследовано 57 уникальных образцов, анализ проводили с помощью PROCLEIX® TIGRIS® System с применением реагентов из трех партий. При исследовании с помощью тестов ULTRIO и dHBV с реагентами всех трех партий для образцов всех генотипов вируса HBV с концентрацией 300 копий/мл получена положительная реакция. При концентрации вирусов 100 копий/мл получена положительная реакция для 55 из 57 образцов с реагентами CL1, 52 из 57 и 57 из 57 с реагентами CL2 и 56 из 57 с реагентами CL3 в обоих тестах. При концентрации вирусов 30 копий/мл получена положительная реакция для 42 из 57 образцов в тесте ULTRIO и для 43 из 57 образцов в тесте dHBV с реагентами CL1, 41 из 57 в тесте ULTRIO и 50 из 57 в тесте dHBV с реагентами CL2, и 51 из 57 в тестах ULTRIO и dHBV с реагентами CL3 (Таблица 13b).

Таблица 13b. PROCLEIX® TIGRIS® System - детекция генетических вариантов HBV с помощью теста PROCLEIX® ULTRIO® и избирательного теста на HBV

Генетический вариант	Конц. копий/мл	CL1		CL2		CL3	
		ULTRIO	dHBV	ULTRIO	dHBV	ULTRIO	dHBV
HBV Генотип A	300	12/12	12/12	12/12	12/12	12/12	12/12
	100	11/12	12/12	11/12	12/12	12/12	12/12
	30	9/12	9/12	9/12	10/12	11/12	11/12
HBV Генотип B	300	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
	100	10/10	10/10	9/10	10/10	10/10	10/10
	30	6/10	8/10	4/10	10/10	8/10	9/10
HBV Генотип C	300	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
	100	10/10	10/10	9/10	10/10	10/10	9/10
	30	8/10	7/10	7/10	8/10	8/10	8/10
HBV Генотип D	300	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
	100	7/8	8/8	7/8	8/8	8/8	8/8
	30	7/8	5/8	5/8	7/8	7/8	7/8
HBV Генотип E	300	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
	100	8/8	7/8	7/8	8/8	8/8	8/8
	30	5/8	5/8	4/8	6/8	8/8	7/8
HBV Генотип F	300	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
	100	8/8	7/8	8/8	8/8	7/8	8/8
	30	6/8	8/8	7/8	8/8	8/8	8/8
HBV Генотип G	300	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
	100	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
	30	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
Сумма вариантов HBV	300	57/57	57/57	57/57	57/57	57/57	57/57
	100	55/57	55/57	52/57	57/57	56/57	56/57
	30	42/57	43/57	41/57	50/57	51/57	51/57

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ PROCLEIX® ULTRIO® ASSAY ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ ОБРАЗЦОВ ТРУПНОЙ КРОВИ, ВЗЯТОЙ ОТ ДОНОРОВ ТКАНЕЙ

Примечание. Все исследования рабочих характеристик тест-набора проводили на неразведенной трупной сыворотке, если не указано другого.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Специфичность теста PROCLEIX® ULTRIO® Assay и избирательных тестов при исследовании трупной крови с помощью систем PROCLEIX® System и PROCLEIX® TIGRIS® System

Для определения специфичности тест-наборов PROCLEIX® ULTRIO® Assay и dHIV-1, dHCV и dHBV исследовали серонегативные по HIV-1, HCV и HBV образцы трупной крови. Около 50 образцов трупной крови и 50 образцов нормальной донорской крови исследовали с помощью PROCLEIX® System и PROCLEIX® TIGRIS® System с применением трех партий реагентов. Специфичность теста PROCLEIX ULTRIO теста и тестов dHIV-1 и dHBV, проводимых в системах PROCLEIX System и PROCLEIX TIGRIS System при исследовании трупных образцов крови составила 100% (доверительный интервал 95%: 94%-100%). Специфичность теста dHCV при исследовании трупных образцов составила 98% (доверительный интервал 95%: 89%-100%) (Таблицы 14а и 14б.)

Таблица 14а. PROCLEIX® System - специфичность теста PROCLEIX® ULTRIO® Assay и избирательных тестов при исследовании образцов трупной крови

		Контрольные образцы	Трупные образцы
PROCLEIX® ULTRIO® Assay	Среднее S/CO IC	1,94	1,89
	Среднее S/CO определяемой последовательности	0,05	0,09
	Специфичность (%)	100	100
	95% CI специфичности	94-100	94-100
	N	50	47*
dHIV-1	Среднее S/CO IC	2,00	1,99
	Среднее S/CO определяемой последовательности	0,14	0,11
	Специфичность (%)	100	100
	95% CI специфичности	94-100	94-100
	N	50	50
dHCV	Среднее S/CO IC	2,07	1,98
	Среднее S/CO определяемой последовательности	0,14	0,21
	Специфичность (%)	100	98**
	95% CI специфичности	94-100	89-100
	N	50	49
dHBV	Среднее S/CO IC	2,01	2,02
	Среднее S/CO определяемой последовательности	0,11	0,10
	Специфичность (%)	100	100
	95% CI специфичности	94-100	94-100
	N	50	49***

*2 из 47 проб исследовали в разведении 1:4

**1 проба первоначально дала положительную реакцию, однако вследствие недостаточного количества материала разрешить вопрос окончательно не удалось

***4 из 49 проб исследовали в разведении 1:4

N = число проб

CI = доверительный интервал

Таблица 14b. PROCLEIX® TIGRIS® System - специфичность теста PROCLEIX® ULTRIO® Assay и избирательных тестов при исследовании образцов трупной крови

		Контрольные образцы	Трупные образцы
PROCLEIX® ULTRIO® Assay	Среднее S/CO IC	2,05	2,07
	Среднее S/CO определяемой последовательности	0,05	0,07
	Специфичность (%)	100	100
	95% CI специфичности	94-100	94-100
	N	50	48
dHIV-1	Среднее S/CO IC	2,04	2,04
	Среднее S/CO определяемой последовательности	0,03	0,03
	Специфичность (%)	100	100
	95% CI специфичности	94-100	94-100
	N	50	49*
dHCV	Среднее S/CO IC	2,02	2,03
	Среднее S/CO определяемой последовательности	0,03	0,10
	Специфичность (%)	100	98**
	95% CI специфичности	94-100	89-100
	N	50	49
dHBV	Среднее S/CO IC	2,02	2,02
	Среднее S/CO определяемой последовательности	0,03	0,02
	Специфичность (%)	100	100
	95% CI специфичности	94-100	94-100
	N	50	50

*2 из 49 проб исследовали в разведении 1:4

**1 проба первоначально дала положительную реакцию, однако вследствие недостаточного количества материала разрешить вопрос окончательно не удалось

N = число проб

CI = доверительный интервал

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ

Чувствительность детекции HIV-1 в системах PROCLEIX® System и PROCLEIX® TIGRIS® System

Для определения чувствительности тест-наборов PROCLEIX® ULTRIO® Assay и dHIV-1 исследовали серонегативные по HIV-1, HCV и HBV образцы трупной крови, в которые были добавлены низкие количества вируса HIV-1. Около 50 образцов трупной крови и 50 образцов нормальной донорской крови, в которые предварительно добавили приблизительно 200 копий/мл вируса HIV-1, исследовали с помощью PROCLEIX® System и PROCLEIX® TIGRIS® System с применением трех партий реагентов. Частота положительных реакций тестов PROCLEIX ULTRIO теста и dHIV-1, проводимых в системах PROCLEIX System и PROCLEIX TIGRIS System при исследовании трупных образцов крови составила 100% (доверительный интервал 95%: 94%-100%) (Таблицы 15a и 15b).

Таблица 15a. PROCLEIX® System - результаты теста PROCLEIX® ULTRIO® Assay и избирательного теста на HIV-1 при исследовании образцов трупной крови с внесенным вирусом HIV-1

		Контрольные образцы	Трупные образцы
PROCLEIX® ULTRIO® Assay	Среднее S/CO IC	2,36	2,31
	Среднее S/CO определяемой последовательности	12,85	12,05
	% Пол.	100	100
	95% CI (% пол.)	94-100	94-100
	N	50	50
dHIV-1	Среднее S/CO IC	2,12	2,07
	Среднее S/CO определяемой последовательности	17,01	15,89
	% Пол.	100	100
	95% CI (% пол.)	94-100	94-100
	N	50	50*

*1 из 50 проб исследовали в разведении 1:4

N = число проб

CI = доверительный интервал

Таблица 15b. PROCLEIX® TIGRIS® System - результаты теста PROCLEIX® ULTRIO® Assay и избирательного теста на HIV-1 при исследовании образцов трупной крови с внесенным вирусом HIV-1

		Контрольные образцы	Трупные образцы
PROCLEIX ULTRIO Assay	Среднее S/CO IC	2,17	2,21
	Среднее S/CO определяемой последовательности	12,70	12,49
	% Пол.	100	100
	95% CI (% пол.)	94-100	94-100
	N	49	51
dHIV-1	Среднее S/CO IC	1,84	2,02
	Среднее S/CO определяемой последовательности	20,28	21,28
	% Пол.	100	100
	95% CI (% пол.)	94-100	94-100
	N	51	50

N = число проб

CI = доверительный интервал

Чувствительность детекции HCV в системах PROCLEIX® System и PROCLEIX® TIGRIS® System

Для определения чувствительности тест-наборов PROCLEIX® ULTRIO® Assay и dHCV исследовали серонегативные по HIV-1, HCV и HBV образцы трупной крови, в которые были добавлены низкие количества вируса HCV. Около 50 образцов трупной крови и 50 образцов нормальной донорской крови, в которые предварительно добавили приблизительно 200 копий/мл вируса HCV, исследовали с помощью PROCLEIX® System и PROCLEIX® TIGRIS® System с применением трех партий реагентов. Частота положительных реакций тестов PROCLEIX ULTRIO Assay и dHCV, проводимых в системах PROCLEIX System и PROCLEIX TIGRIS System при исследовании трупных образцов крови составила 100% (доверительный интервал 95%: 94%-100%) (Таблицы 16a и 16b).

Таблица 16a. PROCLEIX® System - результаты теста PROCLEIX® ULTRIO® Assay и избирательного теста на HCV при исследовании образцов трупной крови с внесенным вирусом HCV

		Контрольные образцы	Трупные образцы
PROCLEIX® ULTRIO® Assay	Среднее S/CO IC	2,03	1,95
	Среднее S/CO определяемой последовательности	7,93	7,05
	% Пол.	100	100
	95% CI (% пол.)	94-100	94-100
	N	50	50
dHCV	Среднее S/CO IC	2,03	1,91
	S/CO определяемой последовательности	22,06	19,35
	% Пол.	100	100
	95% CI (% пол.)	94-100	94-100
	N	50	50*

*1 из 50 проб исследовали в разведении 1:4

N = число проб

CI = доверительный интервал

Таблица 16b. PROCLEIX® TIGRIS® System - результаты теста PROCLEIX® ULTRIO® Assay и избирательного теста на HCV при исследовании образцов трупной крови с внесенным вирусом HCV

		Контрольные образцы	Трупные образцы
PROCLEIX® ULTRIO® Assay	Среднее S/CO IC	2,09	2,06
	Среднее S/CO определяемой последовательности	7,89	7,58
	% Пол.	100	100
	95% CI (% пол.)	94-100	94-100
	N	50	51
dHCV	Среднее S/CO IC	1,88	1,91
	Среднее S/CO определяемой последовательности	23,21	23,32
	% Пол.	100	100
	95% CI (% пол.)	94-100	94-100
	N	50	50

N = число проб

CI = доверительный интервал

Чувствительность детекции HBV в системах PROCLEIX® System и PROCLEIX® TIGRIS® System

Для определения чувствительности тест-наборов PROCLEIX® ULTRIO® Assay и dHBV исследовали серонегативные по HIV-1, HCV и HBV образцы трупной крови, в которые были добавлены низкие количества вируса HBV. 50 образцов трупной крови и 50 образцов нормальной донорской крови, в которые предварительно добавили приблизительно 30 МЕ/мл вируса HBV, исследовали с помощью PROCLEIX® System и PROCLEIX® TIGRIS® System с применением трех партий реагентов. Частота положительных реакций при исследовании трупных образцов крови с помощью тест-набора PROCLEIX ULTRIO Assay составила 100% (доверительный интервал 95%: 94%-100%) в системе PROCLEIX System и 98% (доверительный интервал 95%: 90%-100%) в системе PROCLEIX TIGRIS System. Частота положительных реакций при исследовании с помощью тест-набора dHBV составила 100% (доверительный интервал 95%: 94%-100%) в системе PROCLEIX System и 94% (доверительный интервал 95%: 83%-99%) в системе PROCLEIX TIGRIS System (Таблицы 17а и 17б).

Таблица 17а. PROCLEIX® System - результаты теста PROCLEIX® ULTRIO® Assay и избирательного теста на HBV при исследовании образцов трупной крови с внесенным вирусом HBV

		Контрольные образцы	Трупные образцы
PROCLEIX® ULTRIO® Assay	Среднее S/CO IC	1,71	1,49
	Среднее S/CO определяемой последовательности	13,08	12,93
	% Пол.	100	100
	95% CI (% пол.)	94-100	94-100
	N	50	50*
dHBV	Среднее S/CO IC	1,86	1,57
	Среднее S/CO определяемой последовательности	20,76	20,07
	% Пол.	100	100**
	95% CI (% пол.)	94-100	94-100
	N	50	50

*1 из 50 проб исследовали в разведении 1:4

**Показана частота положительных реакций при повторном тестировании

N = число проб

CI = доверительный интервал

Таблица 17б. PROCLEIX® TIGRIS® System - результаты теста PROCLEIX® ULTRIO® Assay и избирательного теста на HBV при исследовании образцов трупной крови с внесенным вирусом HBV

		Контрольные образцы	Трупные образцы
PROCLEIX® ULTRIO® Assay	Среднее S/CO IC	1,97	1,97
	Среднее S/CO определяемой последовательности	14,77	14,45
	% Пол.	94	98*
	95% CI (% пол.)	83-99	90-100
	N	50	50**
dHBV	Среднее S/CO IC	2,04	2,17
	Среднее S/CO определяемой последовательности	22,85	23,52
	% Пол.	98*	94
	95% CI (% пол.)	90-100	83-99
	N	50	50

*Показана частота положительных реакций при повторном тестировании

**1 из 50 проб исследовали в разведении 1:4

N = число проб

CI = доверительный интервал

ВОСПРОИЗВОДИМОСТЬ

PROCLEIX® System - воспроизводимость

Тест-наборы ULTRIO, dHIV-1, dHCV и dHBV оценивали с системой PROCLEIX® System по следующим пяти факторам отклонений: две разные лаборатории (в одном и том же учреждении), разные операторы, разные люминометры, разные серии анализа, а также в пределах серии анализа. С помощью тест-наборов ULTRIO, dHIV-1, dHCV и dHBV исследовали панели, не содержащие вирус, а также содержащие HIV-1 В в концентрации 100 копий/мл, HCV 1a в концентрации 100 копий/мл и HBV А в концентрации 20 МЕ/мл. Анализ воспроизводимости результатов включал оценку отношений сигнал/порог (Signal/Cutoff, S/CO) и стандартного отклонения (standard deviation, SD) отношений S/CO по каждому из пяти факторов отклонений. Для положительных панелей анализировали среднее отношение S/CO определяемой последовательности, а для отрицательных панелей – S/CO внутреннего контроля (Internal Control, IC). Был определена доля каждого из пяти факторов в общем отклонении результатов в процентах.

Общая воспроизводимость результатов тестов ULTRIO, dHIV-1, dHCV и dHBV составила 99,0%-100% для положительных проб и 99,5%-100% для отрицательных проб. В наибольшей мере дисперсия результатов тестов ULTRIO, dHIV-1, dHCV и dHBV обусловлена отклонениями результатов в разных сериях и в одной серии (случайные ошибки). Следует отметить, что хотя в основном дисперсия результатов исследования являлась следствием этих факторов, %CV каждого из них не превышал 18% для любой положительной мишени или 23% для отрицательных проб в каждом тесте. Таким образом, данные тесты характеризуются устойчивой воспроизводимостью результатов, и наблюдаемые отклонения могут быть полностью отнесены на счет случайных ошибок. Другие факторы отклонений, в частности, разные лаборатории, операторы и люминометры не имеют, либо имеют минимальное влияние на рабочие характеристики тест-наборов (Таблица 18).

Таблица 18. PROCLEIX® System - воспроизводимость результатов тестов PROCLEIX® ULTRIO® Assay и избирательных тестов HIV-1, HCV и HBV

PROCLEIX ULTRIO Assay					Фактор отклонения									
Панель	Уровень	n	% положительных результатов	Среднее S/CO*	Разные лаборатории		Разные операторы		Разные люминометры		Разные серии		Одна серия	
					SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
HIV-1 В	100 копий/мл	180	100	15,38	0,18	1,17	0	0	0,32	2,09	0,70	4,54	0,72	4,65
HCV 1a	100 копий/мл	180	100	8,40	0	0	0,17	2,06	0,20	2,41	0,17	2,07	0,31	3,66
HBV А	20 МЕ/мл	175	100	16,15	0	0	0,38	2,34	0,09	0,53	1,35	8,35	2,28	14,08
Отрицательный	0	176	0,56	2,01	0	0	0	0	0	0	0,05	2,71	0,08	4,05

Избирательный анализ на HIV-1					Фактор отклонения									
Панель	Уровень	n	% положительных результатов	Среднее S/CO*	Разные лаборатории		Разные операторы		Разные люминометры		Разные серии		Одна серия	
					SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
HIV-1 В	100 копий/мл	179	100	26,09	0	0	0	0	0	0	3,57	13,67	4,68	17,93
Отрицательный	0	178	0	2,02	0	0	0	0	0	0	0,15	7,22	0,36	17,20

Избирательный анализ на HCV					Фактор отклонения									
Панель	Уровень	n	% положительных результатов	Среднее S/CO*	Разные лаборатории		Разные операторы		Разные люминометры		Разные серии		Одна серия	
					SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
HCV 1a	100 копий/мл	174	100	23,02	0	0	0	0	3,41	14,81	3,35	14,55	2,94	12,75
Отрицательный	0	176	0,56	2,10	0,16	7,57	0	0	0	0	0,30	14,37	0,48	22,60

Избирательный тест на HBV					Фактор отклонения									
Панель	Уровень	n	% положительных результатов	Среднее S/CO*	Разные лаборатории		Разные операторы		Разные люминометры		Разные серии		Одна серия	
					SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
HBV А	20 МЕ/мл	178	99	22,54	0	0	1,11	4,92	1,34	5,95	2,07	9,19	2,74	12,17
Отрицательный	0	178	0	2,10	0,07	3,10	0,08	3,72	0,05	2,12	0,23	10,42	0,43	19,69

*Среднее S/CO определяемой последовательности для положительной панели и среднее S/CO IC для отрицательной панели.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Barre-Sinoussi, F., J. C. Chermann, F. Rey, M. T. Nugeyre, S. Chamaret, J. Gruest, C. Dautet, C. Axler-Blin, F. Vezinet-Brun, C. Rouzioux, W. Rozenbaum, and L. Montagnier. 1983. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS). *Science*. **220**:868–871.
2. Popovic, M., M. G. Sarngadharan, E. Read, and R. C. Gallo. 1984. Detection, isolation, and continuous production of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and pre-AIDS. *Science*. **224**:497–500.
3. Gallo R. C., S. Z. Salahuddin, M. Popovic, G. M. Streater, M. Kaplan, D. F. Haynas, T. J. Palker, R. Redfield, J. Oleske, B. Safai, G. White, P. Foster, and P. D. Markham. 1984. Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV III) from patients with AIDS and at risk for AIDS. *Science*. **224**:500–503.
4. Piot P., F. A. Plummer, F. S. Mhalu, J.-L. Lamboray, J. Chin, and J. M. Mann. 1988. AIDS: An international perspective. *Science*. **239**:573–579.
5. Sarngadharan, J. G., M. Popovic, L. Broch, J. Scupbach, and R. C. Gallo. 1984. Antibodies reactive with human T-lymphotropic retroviruses (HTLV-III) in the serum of patients with AIDS. *Science*. **224**:506–508.
6. Gallo, D., J. S. Kimpton, and P. J. Dailey. 1987. Comparative studies on use of fresh and frozen peripheral blood lymphocyte specimens for isolation of human immunodeficiency virus and effects of cell lysis on isolation efficiency. *J Clin Microbiol*. **25**:1291–1294.
7. Clavel, F., D. Guetard, F. Brun-Vezinet, S. Chamaret, M. Rey, M. O. Santos-Ferraira, A. G. Laurent, C. Dauguet, C. Katlama, C. Rouzioux, D. Klatzmann, J. L. Champalimaud, and L. Montagnier. 1986. Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. *Science*. **233**:343–346.
8. Alter, H. J., R. H. Purcell, J. W. Shih, J. C. Melpolder, M. Houghton, Q.-L. Choo, and G. Kuo. 1989. Detection of antibody to hepatitis C virus in prospectively followed transfusion recipients with acute and chronic non-A, non-B hepatitis. *N Engl J Med*. **321**:1494–1500.
9. Esteban, J. I., A. Gonzalez, J. M. Hernandez, et al. 1990. Evaluation of antibodies to hepatitis C virus in a study of transfusion-associated hepatitis. *N Engl J Med*. **323**:1107–1120.
10. Van der Poel, C. L., H. W. Reesink, P. N. Lelle, A. Leentvaar-Kuypers, Q.-L. Choo, G. Kuo, and M. Houghton. 1989. Anti-hepatitis C antibodies and non-A, non-B post-transfusion hepatitis in the Netherlands. *Lancet*. **2**:297–298.
11. Choo, Q.-L., G. Kuo, A. J. Weiner, et al. 1989. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science*. **244**:362–364.
12. Alter, H. J., P. V. Holland, Ag. Morrow, et al. 1975. Clinical and serological analysis of transfusion associated hepatitis. *Lancet*. **2**:838–841.
13. Kuo, G., Q.-L. Choo, H. J. Alter, et al. 1989. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. *Science*. **244**:1494–1500.
14. Mimms, L. T., J. W. Mosley, F.B. Hollinger, et al. 1993. Effect of concurrent acute infection with hepatitis C virus on acute hepatitis B virus infection. *Brit Med J*. **307**:1095–1097.
15. Kuhns, M. C., A. L. McNamara, B. Peterson, et al. 1998. Detection of hepatitis B seroconversion by highly sensitive assays for surface antigen and HBV DNA. [Abstract S-342] *Transfusion*. **38** (10-Suppl): 91s.
16. Ulrich, P. P., R. A. Bhat, B. Seto, et al. 1989. Enzymatic amplification of hepatitis B virus DNA in serum compared with infectivity testing in chimpanzees. *J Infect Dis*. **160**:37–43.
17. Peddada, L., C. Heldebrandt, R. Smith, et al. 2000. HBV viremia preceding HBsAg positivity: implications for minipool (MP) and individual donation (ID) HBV nucleic acid testing (NAT). Abstract 100608 (submitted). American Assn of Blood Banks, 53rd Annual Meeting, Washington DC.
18. Rawal, B. D., S. H. Kleinman, M. C. Kuhns, M. P. Busch. 1998. Infectious HBV window period and its projected reduction by genome amplification testing. (Abstract S-343). *Transfusion*. **38** (10-Suppl): 91s.
19. Busch, M. P., S. L. Stramer, and S. H. Kleinman. 1997. Evolving applications of nucleic acid amplification assays for prevention of virus transmission by blood components and derivatives. In: Garrity G (ed): *Applications of Molecular Biology to Blood Transfusion Medicine*. AABB. Bethesda, MD. 123–176.
20. Busch, M. P., L. L. Lee, G. A. Satten, D. R. Henrard, H. Farzadegan, K. E. Nelson, S. Read, R. Y. Dodd, and L. R. Petersen. 1995. Time course of detection of viral and serologic markers preceding human immunodeficiency virus type 1 seroconversion: implications for screening of blood and tissue donors. *Transfusion*. **35**:91–97.
21. Schreiber, G. B., M. P. Busch, S. H. Kleinman, and J. J. Korelitz. 1996. For the Retrovirus Epidemiology Study: The risk of transfusion-transmitted viral infections. *N Engl J Med*. **334**:1685–1690.
22. McDonough, S., C. Giachetti, Y. Yang, D. Kolk, B. Billyard, and L. Mimms. 1998. High throughput assay for the simultaneous or separate detection of human immunodeficiency virus (HIV-1) and hepatitis C virus (HCV). *Infusion Therapy and Transfusion Medicine*. **25**:164–169.
23. Kacian, D. L. and T. J. Fultz. 1995. Nucleic acid sequence amplification methods. U. S. Patent 5, 399, 491.
24. Arnold, L. J., P. W. Hammond, W. A. Wiese, and N. C. Nelson. 1989. Assay formats involving acridinium-ester-labeled DNA probes. *Clin Chem*. **35**:1588–1594.
25. Nelson, N. C., A. BenCheikh, E. Matsuda, and M. Becker. 1996. Simultaneous detection of multiple nucleic acid targets in a homogeneous format. *Biochem*. **35**:8429–8438.
26. Centers for Disease Control. 1987. Recommendations for prevention of HIV transmission in health care settings. *In United States Morbid. and Mortal. Weekly Rep*. **36**, Supplement No. 2S.
27. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1986. Clinical laboratory hazardous waste; proposed guidelines. NCCLS Document GP5-P. Villanova, PA.
28. U.S. Environmental Protection Agency. EPA guide for infectious waste management. Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency, Publication No. EPA/530-SW-86-014, 1986.
29. Title 42, Code of Federal Regulations, Part 72, 1992.
30. 29 CFR Part 1910.1030. Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; Final Rule, Federal Register/ Vol. 56, No. 235/ December 6, 1991.
31. Giachetti, C., J. Linnen, D. P. Kolk, J. Dockter, M. K. McCormick, M. Ho-Sing-Loy, M. Park, K. Gillotte-Taylor, L. Mimms and S. H. McDonough. 2002. Highly Sensitive Multiplex Assay for Detection of HIV-1 and HCV RNA. *J. of Clin. Microbio.*, **40**: 2408–2419.
32. Linnen, J., J. M. Gilker, A. Menez, A. Vaughn, A. Broulik, J. Dockter, K. Gillotte-Taylor, D. P. Kolk, L. T. Mimms, and C. Giachetti. 2002. Sensitive detection of genetic variants of HIV-1 and HCV with an HIV-1/HCV assay based on Transcription-Mediated Amplification. *J. Virol. Methods*, **102**:139–155.
33. Kolk, D., J. Dockter, J. Linnen, M. Ho-Sing-Loy, K. Gillotte-Taylor, S. H. McDonough, L. Mimms and C. Giachetti. 2002. Significant Closure of the HIV-1 and HCV Pre-seroconversion Detection Windows with a TMA-driven HIV-1/HCV Assay. *J. of Clin. Microbio.*, **40**:1761–1766.
34. Jackson J. B., Smith, K., Knott, C., Dorepela, A., Simmons, A., Piwowar-Manning E., McDonough, S., Mimms, L. and Vargo, J.M. 2002. Sensitivity of the Procleix HIV-1/HCV Assay for detection of HIV-1 and HCV RNA in a High Risk Population. *J. of Clin. Microbio.*, **40**:2387–2391.
35. Vargo, J.M., Smith, K., Knott, C., Wang, S., Fang, C., McDonough, S., Giachetti, C., Caglioti, S., Gammon, R., Gilbert, D., Jackson, J.B., Richards, W., Stramer, S. Mimms, L. 2002. Clinical Specificity and Sensitivity of a Blood Screening Assay for Detection of HIV-1 and HCV RNA. *Transfusion*, **42**:876–885.
36. V. Shyamala, J. Cottrell, P. Arcangel, D. Madriaga, J. Linnen, B. Phelps, and D. Chien. 2004. Detection and Quantitation of HBV DNA in the WHO International Standard for HIV-1 RNA. 2004. *J. Virol. Methods*, **118**:69–72.

500690RU Ред. В / QCS 901409 Ред. В
2009-05

Производитель:

Gen-Probe Incorporated
10210 Genetic Center Drive
San Diego, CA 92121 США
(858) 410-8000



MLT Research Ltd
Attn. Dr. Andrew Rutter
5 Chiltern Close
Cardiff
CF14 5DL
United Kingdom

Служба поддержки покупателей Chiron

Северная Америка
Электронная почта: BTUSCS@chiron.com

Европа, Ближний Восток, Африка, Южная Америка, Азиатско-Тихоокеанский регион

Электронная почта: BTINTLCS@chiron.com

Служба технической поддержки Chiron

Северная Америка, Южная Америка

Телефон: (800) 452-6877

Факс: (800) 462-3938

Электронная почта: cts@chiron.com

Европа, Ближний Восток, Африка

Телефон: +33 1 55 49 00 36

или: +33 1 55 49 01 65

Факс: +33 1 55 49 01 69

Электронная почта: bthotlineeurope@chiron.com

Азиатско-Тихоокеанский регион

Телефон: +852 2161 3100

Факс: +852 2161 3199

Многоязычная маркировка: Только для экспорта из США

CHIRON, RIBA, PROCLEIX и ULTRIO являются торговыми марками компании Novartis Vaccines and Diagnostics, Inc.; TIGRIS является торговой маркой компании Gen-Probe Incorporated; PROCLIN (стилизиция) является торговой маркой Rohm and Haas Company; PPT является торговой маркой Becton, Dickinson and Company. Любые другие торговые марки, упоминающиеся в настоящем вкладыше, принадлежат соответствующим компаниям.

Данное изделие и его назначение защищены одним или несколькими следующими патентами:

Патенты США № 5,185,439, 5,283,174, 5,399,491, 5,437,990, 5,480,784, 5,585,481, 5,612,200, 5,639,604, 5,656,207, 5,656,744, 5,658,737, 5,696,251, 5,714,596, 5,756,011, 5,756,709, 5,780,219, 5,827,656, 5,840,873, 5,863,719, 5,888,779, 5,948,899, 5,955,261, 6,004,745, 6,074,816, 6,090,591, 6,110,678, 6,245,519, 6,252,059, 6,280,952, 6,410,276, RE37,891, 6,623,920, 6,649,749, 7,070,925 и 7,097,979; и их иностранными аналогами.

© 2003-2009 Gen-Probe Incorporated.

Генеральный директор
ООО "МедИнформ"

