

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора
от _____ 200__ г. № _____

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ООО «ИИАРМЕДИК ПЛЮС»



В.Г. Нестеренко

2009 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

набора реагентов для выявления антител к индивидуальным белкам ВИЧ 1 типа, ВИЧ 1 типа группы О, ВИЧ 2 типа в сыворотке или плазме крови человека методом иммунного блоттинга (линейный иммуноблот)

« ЛИА ВИЧ 1/2 ».

Назначение

Набор реагентов «ЛИА ВИЧ 1/2», далее по тексту – Набор, предназначен для подтверждения наличия антител к индивидуальным белкам ВИЧ 1 типа, ВИЧ 1 типа группы 0, ВИЧ 2 типа в сыворотке (плазме) крови человека методом линейного иммуноблота.

Принцип метода

Рекомбинантные белки и синтетические пептиды, представляющие собой антигенные детерминанты ВИЧ-1, ВИЧ-1гр.0, ВИЧ-2 нанесены в виде дискретных линий на нитроцеллюлозную мембрану с подложкой из нейлона, которая прикреплена к пластиковой полоске, что образует тест-полоску.

При постановке теста антитела к ВИЧ-1 или к ВИЧ-2 присутствующие в исследуемом образце сыворотки (плазмы) крови человека взаимодействуют с антигенами ВИЧ-1 или ВИЧ-2 нанесенными на тест-полоску: ВИЧ-1 - sgp120, gp41, p31, p24 и p17, или ВИЧ-2 - gp36 и sgp105, при этом антитела к ВИЧ-2 могут проявлять кросс-реактивность к антигенам ВИЧ-1 - p31, p24 и p17. Антитела к вирусам группы О ВИЧ-1 обнаруживаются по связыванию с антигеном sgp120.

На каждую тест-полоску также нанесены четыре контрольных линии: анти-стрептавидиновая линия (иммобилизованный стрептавидин), линия по интенсивности окрашивания соответствующая 3+ положительному контролю (иммобилизованные антитела к IgG человека, данная линия также является контролем внесения образца), линия по интенсивности окрашивания соответствующая 1+ положительному контролю (иммобилизованные IgG человека), линия по интенсивности окрашивания соответствующая критическому уровню $\pm$ (иммобилизованные IgG человека).

Тестируемый образец инкубируется в ванночке вместе с тест-полоской. Специфические антитела, если они присутствуют в образце, связываются с антигенами, нанесенными на тест-полоску. Затем вносятся козьи антитела к IgG человека, меченные щелочной фосфатазой. Эти антитела связываются с комплексом ВИЧ-антиген/антитело, которое сформировалось на полоске на предыдущем этапе ИФА-реакции. Инкубация тест-полоски с хромогеном дает темно-коричневый цвет на тех линиях, где присутствуют специфические антитела (пропорционально количеству антител). Развитие окраски останавливается добавлением серной кислоты.

В случае если тестируемый образец не содержит специфических антител, антитела к IgG человека, меченные щелочной фосфатазой, не

связываются с линиями, представляющими ВИЧ-антигены, а связываются только с контрольными линиями, нанесенными на тест-полоску.

Состав набора

Ингредиент	Количество	Описание
1	2	3
Тест-полоски ЛИА ВИЧ 1/2 с нанесенными антигенами	20 шт - одна пробирка.	Прозрачная пластиковая пробирка, закрытая пробкой и содержащая 20 ЛИА ВИЧ 1/2 тест-полосок с нанесенными в виде линий антигенами ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Капсула с силикагелем - внутри пробирки
К+ Положительный контрольный образец	0,12 мл - 1 флакон.	Сыворотка крови человека, содержащая антитела к ВИЧ-1,2; консервант - 0,01 % метилизотиазол / 0,1 % хлорацетамид, инактивированная - прозрачная бесцветная жидкость
К- Отрицательный контрольный образец	0,12 мл - 1 флакон.	Сыворотка крови человека, не содержащая антитела к ВИЧ-1,2; консервант - 0,01 % метилизотиазол / 0,1 % хлорацетамид, инактивированная – прозрачная бесцветная жидкость

1	2	3
Конъюгат	45 мл - 1 флакон.	Козьи антитела к IgG человека, меченные щелочной фосфатазой, в трис- буферном растворе, содержащем стабилизаторы белков бычьего происхождения, детергент и консервант - 0,01% метилизотиазол / 0,1 % хлорацетамид, прозрачная розового цвета жидкость
Хромоген	45 мл - 1 флакон.	Бромохлороиндолилфосфат/нитротетроз ол голубой в диметилформамиде; консервант - 0,01% метилизотиазолон / 0,1 % хлорацетамид, прозрачная светло- жёлтого цвета жидкость
Раствор для разведения образцов	30 мл - 1 флакон.	Фосфатный буферный раствор, содержащий хлорид натрия, детергент, стабилизаторы белков бычьего происхождения и консервант - 0,3% хлорацетамид, прозрачная ярко- зеленого цвета жидкость

1	2	3
Отмывающий раствор (концентрат x5)	45 мл - 1 флакон.	5-кратный концентрат трис-буферного раствора, содержащий хлорид натрия, детергент, консервант 0,02 % бромонитродиоксан, прозрачная, ярко-голубого цвета жидкость
Стоп-реагент	45 мл - 1 флакон.	0,1 М раствор серной кислоты. Прозрачная бесцветная жидкость
Рамка с ванночками для инкубации тест- полосок	2 шт	Содержит 11 ванночек для инкубации тест-полосок
Пластины липкие	5 шт	Пластиковая пластина, липкая, используется в качестве крышки для ванночки во время инкубации.
Трафарет-схема	1 шт	Для идентификации окрашенных линий на тест-полосках после проведения анализа
Форма для учета результатов теста	1 шт	Для учета результатов и хранения использованных тест-полосок

Меры предосторожности при работе с набором

Все компоненты крови и биологические материалы должны рассматриваться как потенциально инфекционные. К проведению анализа следует допускать только специально обученный персонал.

Обработка и утилизация образцов сывороток (плазмы) крови человека и других компонентов или отходов после завершения анализа должна проводиться в строгом соответствии с установленными нормами безопасности:

Автоклавирование в течение 60 мин при 121 °С;

Сжигание;

Смешение жидких отходов с раствором гипохлорита натрия (конечная концентрация гипохлорита должна быть равна $\pm 1\%$). Оставить на ночь до утилизации.

ВНИМАНИЕ!: Нейтрализуйте жидкие отходы, которые содержат кислоту, перед добавлением гипохлорита натрия (1% раствор щелочи NaOH).

Используйте индивидуальные защитные средства (перчатки и защитные очки), при работе с опасными и инфекционными материалами.

Утилизируйте отходы согласно национальным или федеральным руководствам, соблюдайте законодательство по охране окружающей среды.

Не сливайте стоп-реагент в сосуд с жидкими отходами, который содержит гипохлорит натрия.

Предварительные замечания:

1. Не используйте набор, если его срок годности истек.
2. Не используйте в одной постановке компоненты из наборов разных серий.
3. Убедитесь в том, что для проведения анализа был выбран нужный объем образцов и схема отмывки.
4. Избегайте микробиологической контаминации реагентов.

5. Убедитесь, что образцы и контроли, взятые для анализа, гомогенны.
6. Не касайтесь нитроцеллюлозной мембраны тест-полоски, всегда манипулируйте тест-полоской, держась за ее пластиковую подложку.
7. Используйте новый наконечник для пипетки для отбора каждого нового образца.
8. Убедитесь, что тест-полоска помещается в ванночку всегда мембраной вверх (при этом номер на тест-полоске должен быть ясно виден).
9. Все этапы инкубации проводите при помощи миксера с орбитальным вращением или миксера-качалки (см. Указания по процедуре инкубации).
10. Накрывайте ванночки специальной липкой пластиной, для избежания высыхания образцов.
11. Не использованные тест - полоски, как и проявленные, должны храниться вдали от источников яркого света и тепла.
12. Данный набор может быть использован только квалифицированным персоналом, обученным в области клинической лабораторной практики.
13. Не используйте тест-полоски и ванночки повторно.
14. Разрезание полосок может привести к недостоверным результатам.
15. После реакции тест-полоски должны быть полностью высушены, чтобы избежать неправильной интерпретации результатов, которая возможна из-за слабо видимых линий, появляющихся после внесения стоп-реагента.

Оборудование и материалы, необходимые для проведения анализа

1. Дистиллированная или деионизованная вода.
2. Полуавтоматические пипетки на 10 мкл, 20-200 мкл, 200-1000 мкл.
3. Миксер с орбитальным вращением или миксер-качалка (см. Указания по процедуре инкубации).
4. Миксер типа Вортекс или аналогичный.
5. Мерные цилиндры на 10 мл, 25 мл, 50, мл, 100 мл, 500 мл.

6. Таймер.

7. Дополнительные материалы:

- фен или воздушный инкубатор на 37 °С;
- пипетка-дозатор для дозирования стоп-реагента, конъюгата, хромогена и отмывающего раствора, а также одноразовые флаконы;
- вакуумный аспиратор, содержащий 5% гипохлорид натрия;
- одноразовые флаконы для приготовления рабочих растворов конъюгата и хромогена.

Приготовление реагентов

Перед проведением анализа выдержите все реагенты и пластиковую пробирку с тест - полосками при температуре от 15 до 30 °С в течение 30 мин; после проведения анализа немедленно возвратите все остатки реагентов в холодильник при температуре от 2 до 8 °С.

После открытия пластиковой пробирки, содержащей тест-полоски, неиспользованные тест-полоски сохраняют стабильность в течение 16 недель, если их хранить при температуре от 2 до 8 °С в плотно закрытой пробирке с капсулой осушителя.

Приготовление рабочего отмывающего раствора. Разведите 5-кратный концентрат отмывающего раствора в 5 раз дистиллированной или деионизированной водой. Рабочий отмывающий раствор хранится 2 недели, при температуре от 2 до 8 °С. Готовьте объём рабочего отмывающего раствора из расчета по 6,5 мл раствора на каждую ванночку, используемую в постановке теста.

Остальные реагенты набора – готовы к применению.

Анализируемые образцы

1. «ЛИА ВИЧ 1/2» может быть использован для тестирования плазмы или сыворотки крови человека, находящихся в пробирках, содержащих цитрат, гепарин или ЭДТА в качестве антикоагулянта.

Перед хранением образцы сыворотки или плазмы должны быть отделены от сгустков крови или клеток крови с помощью центрифугирования (800-1000 об/мин, 10 мин).

Храните образцы, взятые для анализа, при температуре от 2 до 8 °С. Если необходимо хранить образцы более 1 недели, заморозьте образцы в аликвотах и храните при температуре от минус 20 до минус 70 °С.

Не используйте образцы, подвергшиеся тепловой обработке.

Образцы, которые были повторно заморожены и оттаяны (более чем 3 раза), могут дать ложные результаты.

2. Схема анализа с помощью набора «ЛИА ВИЧ 1/2» предусматривает разведение исследуемых образцов специальным раствором для разведения (зеленого цвета). Разведение осуществляется непосредственно в ванночке для инкубации тест-полоски.

Проведение анализа

Пожалуйста, перед началом работы внимательно прочтите разделы Инструкции: «Меры предосторожности при работе с Набором» и «Предварительные замечания».

Протокол 16-часовой инкубации.

Этапы постановки анализа:

1. Внесите по 1 мл раствора для разведения образцов в каждую ванночку.
2. Внесите по 10 мкл исследуемой сыворотки (плазмы) или контрольных (К+, К-) образцов в соответствующие маркированные ванночки.
3. С помощью пинцета в каждую ванночку аккуратно мембраной вверх поместите по 1 тест-полоске, полностью погружая ее в жидкость.
4. Закройте ванночки липкой пластиной (крышкой).

5. Инкубируйте образцы в течение ночи (16 ± 2) часов при температуре от 18 до 25 °С на миксере с орбитальным вращением (160 об/мин при амплитуде кругового движения ≥ 13 мм; 90 об/мин при амплитуде кругового движения 24 мм) или миксере-качалке (34 об/мин, амплитуда качаний ≤ 80 мм). Для ночной инкубации образцов предпочтительно использовать миксер-качалку. Во время инкубационных этапов и этапов отмывки тест-полоска должна быть полностью погружена в жидкость мембраной вверх. Миксер с орбитальным вращением должен перемешивать содержимое ванночки таким образом, чтобы тест-полоска двигалась в ванночке «туда - сюда», а жидкость омывала тест-полоску, но не переливалась через край ванночки.

Скорость, развиваемая миксером с орбитальным вращением, является критичной для достижения эффективного окрашивания линий и достижения максимальной чувствительности анализа.

6. Осторожно снимайте пластиковую пластину с ванночек после окончания инкубации и тщательно удаляйте жидкость из ванночки, держа рамку под углом, чтобы позволить всей жидкости стечь в одну сторону ванночки.

Внесите по 1 мл рабочего отмывающего раствора в каждую ванночку и перемешивайте содержимое в течение 5 мин с помощью миксера с орбитальным вращением (при необходимости регулируйте скорость вращения). Во время процедуры отмывки следите, чтобы тест-полоска была полностью погружена в отмывающий раствор; не позволяйте тест-полоскам подсыхать между этапами процедуры отмывки; не нарушайте целостность мембраны тест-полосок при аспирации жидкости из ванночки. Процедуру отмывки повторяют 3 раза.

Отработанный раствор удаляют в специальную емкость, содержащую натрия гипохлорид (ТУ 6-01-1287-84) в конечной концентрации 1%.

Оставьте отработанный раствор на ночь для утилизации

7. Внесите по 1 мл раствора конъюгата в каждую ванночку.

8. Инкубируйте в течение 30 мин при температуре от 18 до 25 °С на миксере с орбитальным вращением.
9. Отмойте каждую тест-полоску согласно процедуре, изложенной в п. 6.
10. Внесите по 1 мл хромогена в каждую ванночку.
11. Инкубируйте в течение 30 мин при температуре от 18 до 25 °С на миксере с орбитальным вращением или миксере-качалке.
12. Удалите жидкость из ванночек (см. п. 6) и внесите по 1 мл стоп - реагента в каждую ванночку.
13. Инкубируйте в течение 10-30 мин при температуре от 18 до 25 °С на миксере с орбитальным вращением.
14. Удалите стоп - реагент из ванночек.
15. Выньте тест - полоски из ванночек с помощью пинцета и положите их мембраной вверх на фильтровальную бумагу.
16. После высыхания тест-полосок закрепите их в специальной форме для учета результатов анализа. Не прикрепляйте тест-полоски к бумаге скотчем за мембрану. Для ускорения высыхания положите тест-полоски в термостат (37 °С) на 30 мин или используйте фен в течение 1 мин. При хранении в темноте тест полоски сохраняют свой цвет.
17. Используя трафарет-схему расположения полос, соответствующих определенным белкам ВИЧ 1/2, проведите учет полученных результатов.

Протокол 3-х часовой инкубации

Для 3 часовой инкубации образцов следует выполнять те же 17 этапов анализа, как и в 16 часовой инкубации образцов, но примите во внимание изменения в этапах анализа 2-5-6 и 9. Объём следуемого образца или контрольного образца возрастет с 10 мкл до 20 мкл на этапе 2 и время инкубации изменится на 3 часа (этап 5). Отмывка после инкубации

образцов изменится для 3-х часовой процедуры на 3 раза по 6 минут (этап 6), и, наконец последняя отмывка будет 3 раза по 3 минуты 3-х часовой инкубации (этап 9).

Различия в процедуре анализа в зависимости от времени инкубации исследуемых образцов представлены в таблице и подчеркнуты.

Таблица.

	16 часовая инкубация	3 часовая инкубация
Раствор для разведения образцов	1 мл	1 мл
Исследуемый образец сыворотки (плазмы)	10 мкл	<u>20 мкл</u>
Контрольные (К+, К-) образцы	10 мкл	<u>20 мкл</u>
Тест-полоски ЛИА ВИЧ1/2	16 часов±2 часа	<u>3 часа</u>
Отмывка	1 мл / 3х5 мин	1 мл / <u>3х6 мин</u>
Конъюгат	1 мл / 30 мин	1 мл / 30 мин
Отмывка	1 мл / 3х5 мин	1 мл / <u>3х3 мин</u>
Хромоген	1 мл / 30 мин	1 мл / 30 мин
Стоп-реагент	1 мл / 10-30 мин	1 мл / 10-30 мин

Если при постановке реакции по 3-х часовому протоколу получили неопределенный результат, повторный анализ рекомендуется провести по 16 часовому протоколу.

Рекомендации для миксера с орбитальным вращением:

- диаметр кругового движения должен быть равным или большим 13 мм;
- рекомендуемая скорость для движения с эксцентриситетом 13 мм должна быть 160 об/мин;
- рекомендуемая скорость для движения с эксцентриситетом 24 мм должна быть 90 об/мин;
-

Для миксера-качалки:

- разница между мин и мах положениями платформы не должна превышать 80 мм во избежание разбрызгивания содержимого ванночек;
- рекомендуемая скорость составляет 34 об/мин.

После проведения анализа немедленно возвратите все реагенты в холодильник при температуре от 2 до 8 °С.

После открытия пластиковой пробирки, содержащей тест-полоски, неиспользованные тест-полоски сохраняют стабильность в течение 16 недель, если их хранить при температуре от 2 до 8 °С в плотно закрытой пробирке с капсулой осушителя. Не использованные тест-полоски, как и проявленные, должны храниться вдали от источников яркого света и тепла.

Регистрация и интерпретация результатов

Расположение и идентификация антигенов и контрольных линий на тест-полоске следующая:

На каждой тест-полоске расположены:

- идентификационный номер;
- стрептавидин;
- антитела к IgG, человека, интенсивность окраски – «3+»;
- IgG человека, интенсивность окраски – «1+»;
- IgG человека, интенсивность окраски – «±»;
- Антигенные линии: ВИЧ-1 - sgp 120, gp 41, p 31, p 24, p 17;; ВИЧ-2 - sgp 105, gp 36;

Интенсивность проявления окрашивания на контрольных линиях каждой тест-полоски используется для оценки степени взаимодействия ВИЧ-специфических антител в исследуемых образцах сыворотки (плазмы) крови с отдельными определенными антигенами ВИЧ-1,2, нанесенными на каждую тест-полоску.

Интенсивность окрашивания антигенных линий (R)		Оценка (уровень)
менее интенсивная, чем ±	$R < \pm$	- отрицательный
интенсивность равная ±	$R = \pm$	± неопределенный
более интенсивная, чем ±, но менее интенсивная, чем 1+ или равная ей	$\pm < R < 1+$	1+ слабоположительный
более интенсивная, чем 1+, но менее интенсивная, чем 3+	$1+ < R < 3+$	2+ положительный
интенсивность равная 3+	$R = 3+$	3+ положительный
более интенсивная, чем 3+	$R > 3+$	4+ высокоположительный

Интенсивность окрашивания и расположение проявленных линий на тест-полоске оценивается для каждого исследуемого образца отдельно при сравнении с интенсивностью окрашивания контрольных линий.

Для облегчения оценки результата прилагается специальная форма для учета результатов. Прикрепляйте проявленные тест - полоски к форме для учета результатов так, чтобы первая сверху самая яркая линия совпадала с первой сверху пунктирной линией. Это референсная линия, соответствующая контрольной линии интенсивности 3+ . При этом, полоски могут не точно совмещаться с обозначенным контуром, немного «съезжать» вниз или вверх. Пластиковый трафарет прилагается для дополнительной проверки учета результата по каждой тест-полоске. Принцип идентификации антигенных линий, аналогичный.

Валидация

Критерии качества проведения анализа:

На тест-полоске с К+ (положительный контрольный образец): интенсивность окрашивания антигенных линий не менее или равна 1+ для sgp120, gp41, p31, p24 и gp36. Окрашивание линий p 17 и sgp105 может отсутствовать;

На тест-полоске с К- (отрицательный контрольный образец): окраска любой антигенной линии отсутствует или ниже, чем $\pm$;

Следующие факты свидетельствуют, что результаты по отдельной тест-полоске можно учитывать:

контрольные линии каждой из интенсивностей $\pm$, 1+, 3+ ясно различимы;

интенсивность контрольной линии 3+ больше, чем линии 1+;

интенсивность контрольной линии стрептавидина отсутствует или меньше, чем $\pm$.

В противном случае анализ должен быть повторен на новой тест-полоске.

Примечание: Слабое окрашивание контрольных линий может наблюдаться для образцов с высоким содержанием IgG (выше нормального диапазона IgG).

Интерпретация результатов

Обширные исследования показали, что результаты могут быть интерпретированы как следующие:

Отрицательный результат

Если интенсивность окрашивания всех антигенных линий $\leq \pm$;

Если интенсивность одной линии $\pm$, остальные отрицательные.

Неопределенный результат

Если интенсивность окрашивания двух или более антигенных линий $\pm$;

Если интенсивность одной линии $\geq 1+$, интенсивность остальных отсутствует или $\pm$;

Если интенсивность двух или более линий $\geq 1+$, но необходимые условия положительного результата по ВИЧ, как это описано ниже, не выполнены;

Положительный результат

Если интенсивность двух линий $\geq 1+$, причем:

обе линии представляют собой оболочечные антигены ВИЧ одного типа (ВИЧ-1: sgp120 + gp41 или ВИЧ-2: sgp105 + gp36);

одна линия - оболочечный антиген (sgp120, gp41, sgp105 или gp36), вторая линия p24 антиген;

Если интенсивность трех или более линий $\geq 1+$, причем одна из них представляет собой оболочечный антиген (sgp120, gp41, sgp105 или gp36);

Примечание:

если получен неопределенный результат, рекомендуется тестировать другой образец того же пациента через несколько недель.

Если получен положительный результат (по критериям, описанным выше), приступайте к разделу Дифференциальный анализ.

Дифференциальный анализ

ВИЧ-1

- интенсивность линии одного из ВИЧ-1 антигенов (sgp120 или gp41) равна или более 1+ ($\geq 1+$), при этом только одна антигенная линия ВИЧ-2 (sgp105 или gp36) имеет максимальную интенсивность $\pm$;
- обе антигенные линии ВИЧ-1 (sgp120 или gp41) имеют интенсивность $\geq 1+$, при этом только одна антигенная линия ВИЧ-2 (sgp105 или gp36) имеет максимальную интенсивность 1+;

ВИЧ-2

- интенсивность линии одного из ВИЧ-2 антигенов (sgp105 или gp36) равна или более 1+ ($\geq 1+$), при этом только одна антигенная линия ВИЧ-1 (sgp120 или gp41) имеет максимальную интенсивность $\pm$;
- обе антигенные линии ВИЧ-2 (sgp105 или gp36) имеют интенсивность $\geq 1+$, при этом только одна антигенная линия ВИЧ-1 (sgp120 или gp41) имеет максимальную интенсивность 1+.

Критерии интерпретации

Антигенная линия интерпретируется как положительная, если интенсивность ее окрашивания минимум 1+;

ENV1 - обозначение оболочечного антигена ВИЧ-1 (sgp120 или gp41);

ENV2 - обозначение оболочечного антигена ВИЧ-2 (sgp105 или gp36).

нет положительных линий	нет линий с интенсивностью $\pm$	отрицат
	1 линия с интенсивностью $\pm$	отрицат
	2 или более линий с интенсивностью $\pm$	неопред
1 положительная линия ($\geq 1+$)		неопред

2 положительных линии ($\geq 1+$)	нет ENV линий	неопред
	1 ENV1 линия + p24 линия	ВИЧ-1*
	2 ENV1 линии	ВИЧ-1*
	1 ENV2 линия + p24 линия	ВИЧ-
	2 ENV2 линии	2**
	любая другая комбинация	ВИЧ- 2** неопред
3 и более положительных линий ($\geq 1+$)	нет ENV линий	неопред
	1 или 2 ENV1 линии	ВИЧ-1*
	1 или 2 ENV2 линии	ВИЧ-
	1 ENV1 +1 ENV2 линии	2**
	2 ENV1 +1 ENV2 линии ***, причем ENV2 = 1+	ВИЧ
	ENV2 > 1+	ВИЧ-1
	1 ENV1 +2 ENV2 линии ***, причем ENV1 = 1+	ВИЧ
	ENV1 > 1+	ВИЧ-2
	2 ENV1+2 ENV2 линии	ВИЧ
		ВИЧ

- * - если интенсивность $\pm$ наблюдается на обеих ENV2 линиях, образец не типифицируется; в этом случае образец определяется как положительный по ВИЧ.
- ** - если интенсивность $\pm$ наблюдается на обеих ENV1 линиях, образец не типифицируется; в этом случае образец определяется как положительный по ВИЧ.
- *** - если интенсивность оставшихся ENV линий $\pm$, образец не типифицируется; в этом случае образец определяется как положительный по ВИЧ.

Ограничения процедуры

Для достижения оптимального качества проводимого анализа необходимо четко следовать инструкции.

Отрицательный результат не исключает, тем не менее, возможность инфицированности пациента ВИЧ.

Образец, дающий положительный результат на стрептавидиновой контрольной линии, может давать перекрестные реакции с другими ВИЧ антигенными линиями и не может быть определен как ВИЧ положительный.

Использование разбавленных образцов может давать ложные результаты.

Аналитические характеристики набора

1. Чувствительность.

Чувствительность на «Стандартной панели сывороток, содержащих антитела к ВИЧ-1 типа» (ОСО 42-28-212-93-02П) – 100%.

Чувствительность на «Стандартной панели сывороток, содержащих антитела к ВИЧ-2 типа» (ОСО 42-28-216-02) – 100%

Рекламации на качество Набора направлять в адрес предприятия – изготовителя:

ООО «НИАРМЕДИК ПЛЮС» Россия, 125047, г. Москва, ул. 4-я Тверская-Ямская; д.2/11, стр.2, тел./факс (495) 741-49-89 и в адрес Национального органа контроля МИБП, ФГУН ГИСК им. Л.А. Тарасевича Роспотребнадзора РФ, Россия, 119002, г. Москва, пер..Сивцев Вражек, д. 41, (495) 241-39-22.

Генеральный директор
ООО «НИАРМЕДИК ПЛЮС»



В.Г. Нестеренко



УТВЕРЖДАЮ

Главный государственный
санитарный врач

Российской Федерации



Г.Г. Онищенко

«20» 07 2007г.

№ 01-11/146-07

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

набора реагентов для выявления антител к индивидуальным белкам ВИЧ 1 типа, ВИЧ 1 типа группы О, ВИЧ 2 типа в сыворотке или плазме крови человека методом иммунного блоттинга (линейный иммуоблот)

« ЛИА ВИЧ 1/2 ».

Назначение

Набор реагентов «ЛИА ВИЧ 1/2», далее по тексту – Набор, предназначен для подтверждения наличия антител к индивидуальным белкам ВИЧ 1 типа, ВИЧ 1 типа группы О, ВИЧ 2 типа в сыворотке (плазме) крови человека методом линейного иммуоблота.

Принцип метода

Рекомбинантные белки и синтетические пептиды, представляющие собой антигенные детерминанты ВИЧ-1, ВИЧ-1гр.0, ВИЧ-2 нанесены в виде дискретных линий на нитроцеллюлозную мембрану с подложкой из нейлона, которая прикреплена к пластиковой полоске, что образует тест-полоску.

«СОГЛАСОВАНО»

Руководитель Национального

органа контроля МИБП

Директор ФГУН ГИСК им. Л.А. Тарасевича

Роспотребнадзора

Медуницын Н.В.

« 12 » 2007 г.



При постановке теста антитела к ВИЧ-1 или к ВИЧ-2 присутствующие в исследуемом образце сыворотки (плазмы) крови человека взаимодействуют с антигенами ВИЧ-1 или ВИЧ-2 нанесенными на тест-полоску: ВИЧ-1 - sgp120, gp41, p31, p24 и p17, или ВИЧ-2 - gp36 и sgp105, при этом антитела к ВИЧ-2 могут проявлять кросс-реактивность к антигенам ВИЧ-1 - p31, p24 и p17. Антитела к вирусам группы О ВИЧ-1 обнаруживаются по связыванию с антигеном sgp120.

На каждую тест-полоску также нанесены четыре контрольных линии: анти-стрептавидиновая линия (иммобилизованный стрептавидин), линия по интенсивности окрашивания соответствующая 3+ положительному контролю (иммобилизованные антитела к IgG человека, данная линия также является контролем внесения образца), линия по интенсивности окрашивания соответствующая 1+ положительному контролю (иммобилизованные IgG человека), линия по интенсивности окрашивания соответствующая критическому уровню $\pm$ (иммобилизованные IgG человека).

Тестируемый образец инкубируется в ванночке вместе с тест-полоской. Специфические антитела, если они присутствуют в образце, связываются с антигенами, нанесенными на тест-полоску. Затем вносятся козы антитела к IgG человека, меченные щелочной фосфатазой. Эти антитела связываются с комплексом ВИЧ-антиген/антитело, которое сформировалось на полоске на предыдущем этапе ИФА-реакции. Инкубация тест-полоски с хромогеном дает темно-коричневый цвет на тех линиях, где присутствуют специфические антитела (пропорционально количеству антител). Развитие окраски останавливается добавлением серной кислоты.

В случае если тестируемый образец не содержит специфических антител, антитела к IgG человека, меченные щелочной фосфатазой, не

связываются с линиями, представляющими ВИЧ-антигены, а связываются только с контрольными линиями, нанесенными на тест-полоску.

Состав набора

Ингредиент	Количество	Описание
1	2	3
Тест-полоски ЛИА ВИЧ 1/2 с нанесенными антигенами	20 шт - одна пробирка.	Прозрачная пластиковая пробирка, закрытая пробкой и содержащая 20 ЛИА ВИЧ 1/2 тест-полосок с нанесенными в виде линий антигенами ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Капсула с силикагелем - внутри пробирки
К+ Положительный контрольный образец	0,12 мл - 1 флакон.	Сыворотка крови человека, содержащая антитела к ВИЧ-1,2; консервант - 0,01 % метилизотиазол / 0,1 % хлорацетамид, инактивированная - прозрачная бесцветная жидкость
К- Отрицательный контрольный образец	0,12 мл - 1 флакон.	Сыворотка крови человека, не содержащая антитела к ВИЧ-1,2; консервант - 0,01 % метилизотиазол / 0,1 % хлорацетамид, инактивированная – прозрачная бесцветная жидкость

1	2	3
Конъюгат	45 мл - 1 флакон.	Козьи антитела к IgG человека, меченные щелочной фосфатазой, в трис- буферном растворе, содержащем стабилизаторы белков бычьего происхождения, детергент и консервант - 0,01% метилизотиазол / 0,1 % хлорацетамид, прозрачная розового цвета жидкость
Хромоген	45 мл - 1 флакон.	Бромохлороиндолилфосфат/нитротетроз ол голубой в диметилформамиде; консервант - 0,01% метилизотиазолон / 0,1 % хлорацетамид, прозрачная светло- жёлтого цвета жидкость
Раствор для разведения образцов	30 мл - 1 флакон.	Фосфатный буферный раствор, содержащий хлорид натрия, детергент, стабилизаторы белков бычьего происхождения и консервант - 0,3% хлорацетамид, прозрачная ярко- зеленого цвета жидкость

1	2	3
Отмывающий раствор (концентрат x5)	45 мл - 1 флакон.	5-кратный концентрат трис-буферного раствора, содержащий хлорид натрия, детергент, консервант 0,02 % бромонитродидоксан, прозрачная, ярко-голубого цвета жидкость
Стоп-реагент	45 мл - 1 флакон.	0,1 М раствор серной кислоты. Прозрачная бесцветная жидкость
Рамка с ванночками для инкубации тест- полосок	2 шт	Содержит 11 ванночек для инкубации тест-полосок
Пластины липкие	5 шт	Пластиковая пластина, липкая, используется в качестве крышки для ванночки во время инкубации.
Трафарет-схема	1 шт	Для идентификации окрашенных линий на тест-полосках после проведения анализа
Форма для учета результатов теста	1 шт	Для учета результатов и хранения использованных тест-полосок

Меры предосторожности при работе с набором

Все компоненты крови и биологические материалы должны рассматриваться как потенциально инфекционные. К проведению анализа следует допускать только специально обученный персонал.

Обработка и утилизация образцов сывороток (плазмы) крови человека и других компонентов или отходов после завершения анализа должна проводиться в строгом соответствии с установленными нормами безопасности:

Автоклавирование в течение 60 мин при 121 °C;

Сжигание;

Смешение жидких отходов с раствором гипохлорита натрия (конечная концентрация гипохлорита должна быть равна $\pm 1\%$). Оставить на ночь до утилизации.

ВНИМАНИЕ!: Нейтрализуйте жидкие отходы, которые содержат кислоту, перед добавлением гипохлорита натрия (1% раствор щелочи NaOH).

Используйте индивидуальные защитные средства (перчатки и защитные очки), при работе с опасными и инфекционными материалами.

Утилизируйте отходы согласно национальным или федеральным руководствам, соблюдайте законодательство по охране окружающей среды.

Не сливайте стоп-реагент в сосуд с жидкими отходами, который содержит гипохлорит натрия.

Предварительные замечания:

1. Не используйте набор, если его срок годности истек.
2. Не используйте в одной постановке компоненты из наборов разных серий.
3. Убедитесь в том, что для проведения анализа был выбран нужный объем образцов и схема отмывки.
4. Избегайте микробиологической контаминации реагентов.

5. Убедитесь, что образцы и контроли, взятые для анализа, гомогенны.
6. Не касайтесь нитроцеллюлозной мембраны тест-полоски, всегда манипулируйте тест-полоской, держась за ее пластиковую подложку.
7. Используйте новый наконечник для пипетки для отбора каждого нового образца.
8. Убедитесь, что тест-полоска помещается в ванночку всегда мембраной вверх (при этом номер на тест-полоске должен быть ясно виден).
9. Все этапы инкубации проводите при помощи миксера с орбитальным вращением или миксера-качалки (см. Указания по процедуре инкубации).
10. Накрывайте ванночки специальной липкой пластиной, для избежания высыхания образцов.
11. Не использованные тест - полоски, как и проявленные, должны храниться вдали от источников яркого света и тепла.
12. Данный набор может быть использован только квалифицированным персоналом, обученным в области клинической лабораторной практики.
13. Не используйте тест-полоски и ванночки повторно.
14. Разрезание полосок может привести к недостоверным результатам.
15. После реакции тест-полоски должны быть полностью высушены, чтобы избежать неправильной интерпретации результатов, которая возможна из-за слабо видимых линий, появляющихся после внесения стоп-реагента.

Оборудование и материалы, необходимые для проведения анализа

1. Дистиллированная или деионизованная вода.
2. Полуавтоматические пипетки на 10 мкл, 20-200 мкл, 200-1000 мкл.
3. Миксер с орбитальным вращением или миксер-качалка (см. Указания по процедуре инкубации).
4. Миксер типа Вортекс или аналогичный.
5. Мерные цилиндры на 10 мл, 25 мл, 50, мл, 100 мл, 500 мл.

6. Таймер.

7. Дополнительные материалы:

- фен или воздушный инкубатор на 37 °С;
- пипетка-дозатор для дозирования стоп-реагента, конъюгата, хромогена и отмывающего раствора, а также одноразовые флаконы;
- вакуумный аспиратор, содержащий 5% гипохлорид натрия;
- одноразовые флаконы для приготовления рабочих растворов конъюгата и хромогена.

Приготовление реагентов

Перед проведением анализа выдержите все реагенты и пластиковую пробирку с тест - полосками при температуре от 15 до 30 °С в течение 30 мин; после проведения анализа немедленно возвратите все остатки реагентов в холодильник при температуре от 2 до 8 °С.

После открытия пластиковой пробирки, содержащей тест-полоски, неиспользованные тест-полоски сохраняют стабильность в течение 16 недель, если их хранить при температуре от 2 до 8 °С в плотно закрытой пробирке с капсулой осушителя.

Приготовление рабочего отмывающего раствора. Разведите 5-кратный концентрат отмывающего раствора в 5 раз дистиллированной или деионизированной водой. Рабочий отмывающий раствор хранится 2 недели, при температуре от 2 до 8 °С. Готовьте объём рабочего отмывающего раствора из расчета по 6,5 мл раствора на каждую ванночку, используемую в постановке теста.

Остальные реагенты набора – готовы к применению.

Анализируемые образцы

1. «ЛИА ВИЧ 1/2» может быть использован для тестирования плазмы или сыворотки крови человека, находящихся в пробирках, содержащих цитрат, гепарин или ЭДТА в качестве антикоагулянта.

Перед хранением образцы сыворотки или плазмы должны быть отделены от сгустков крови или клеток крови с помощью центрифугирования (800-1000 об/мин, 10 мин).

Храните образцы, взятые для анализа, при температуре от 2 до 8 °С. Если необходимо хранить образцы более 1 недели, заморозьте образцы в аликвотах и храните при температуре от минус 20 до минус 70 °С.

Не используйте образцы, подвергшиеся тепловой обработке.

Образцы, которые были повторно заморожены и оттаяны (более чем 3 раза), могут дать ложные результаты.

2. Схема анализа с помощью набора «ЛИА ВИЧ 1/2» предусматривает разведение исследуемых образцов специальным раствором для разведения (зеленого цвета). Разведение осуществляется непосредственно в ванночке для инкубации тест-полоски.

Проведение анализа

Пожалуйста, перед началом работы внимательно прочтите разделы Инструкции: «Меры предосторожности при работе с Набором» и «Предварительные замечания».

Протокол 16-часовой инкубации.

Этапы постановки анализа:

1. Внесите по 1 мл раствора для разведения образцов в каждую ванночку.
2. Внесите по 10 мкл исследуемой сыворотки (плазмы) или контрольных (К+, К-) образцов в соответствующие маркированные ванночки.
3. С помощью пинцета в каждую ванночку аккуратно мембраной вверх поместите по 1 тест-полоске, полностью погружая ее в жидкость.
4. Закройте ванночки липкой пластиной (крышкой).

5. Инкубируйте образцы в течение ночи (16 ± 2) часов при температуре от 18 до 25 °C на миксере с орбитальным вращением (160 об/мин при амплитуде кругового движения ≥ 13 мм; 90 об/мин при амплитуде кругового движения 24 мм) или миксере-качалке (34 об/мин, амплитуда качаний ≤ 80 мм). Для ночной инкубации образцов предпочтительно использовать миксер-качалку. Во время инкубационных этапов и этапов отмывки тест-полоска должна быть полностью погружена в жидкость мембраной вверх. Миксер с орбитальным вращением должен перемешивать содержимое ванночки таким образом, чтобы тест-полоска двигалась в ванночке «туда - сюда», а жидкость омывала тест-полоску, но не переливалась через край ванночки.

Скорость, развиваемая миксером с орбитальным вращением, является критичной для достижения эффективного окрашивания линий и достижения максимальной чувствительности анализа.

6. Осторожно снимайте пластиковую пластину с ванночек после окончания инкубации и тщательно удаляйте жидкость из ванночки, держа рамку под углом, чтобы позволить всей жидкости стечь в одну сторону ванночки.

Внесите по 1 мл рабочего отмывающего раствора в каждую ванночку и перемешивайте содержимое в течение 5 мин с помощью миксера с орбитальным вращением (при необходимости регулируйте скорость вращения). Во время процедуры отмывки следите, чтобы тест-полоска была полностью погружена в отмывающий раствор; не позволяйте тест-полоскам подсыхать между этапами процедуры отмывки; не нарушайте целостность мембраны тест-полосок при аспирации жидкости из ванночки. Процедуру отмывки повторяют 3 раза.

Отработанный раствор удаляют в специальную емкость, содержащую натрия гипохлорид (ТУ 6-01-1287-84) в конечной концентрации 1%.

Оставьте отработанный раствор на ночь для утилизации

7. Внесите по 1 мл раствора конъюгата в каждую ванночку.

8. Инкубируйте в течение 30 мин при температуре от 18 до 25 °С на миксере с орбитальным вращением.
9. Отмойте каждую тест-полоску согласно процедуре, изложенной в п. 6.
10. Внесите по 1 мл хромогена в каждую ванночку.
11. Инкубируйте в течение 30 мин при температуре от 18 до 25 °С на миксере с орбитальным вращением или миксере-качалке.
12. Удалите жидкость из ванночек (см. п. 6) и внесите по 1 мл стоп - реагента в каждую ванночку.
13. Инкубируйте в течение 10-30 мин при температуре от 18 до 25 °С на миксере с орбитальным вращением.
14. Удалите стоп - реагент из ванночек.
15. Выньте тест - полоски из ванночек с помощью пинцета и положите их мембраной вверх на фильтровальную бумагу.
16. После высыхания тест-полосок закрепите их в специальной форме для учета результатов анализа. Не прикрепляйте тест-полоски к бумаге скотчем за мембрану. Для ускорения высыхания положите тест-полоски в термостат (37 °С) на 30 мин или используйте фен в течение 1 мин. При хранении в темноте тест полоски сохраняют свой цвет.
17. Используя трафарет-схему расположения полос, соответствующих определенным белкам ВИЧ 1/2, проведите учет полученных результатов.

Протокол 3-х часовой инкубации

Для 3 часовой инкубации образцов следует выполнять те же 17 этапов анализа, как и в 16 часовой инкубации образцов, но примите во внимание изменения в этапах анализа 2-5-6 и 9. Объём следуемого образца или контрольного образца возрастет с 10 мкл до 20 мкл на этапе 2 и время инкубации изменится на 3 часа (этап 5). Отмывка после инкубации

образцов изменится для 3-х часовой процедуры на 3 раза по 6 минут (этап 6), и, наконец последняя отмывка будет 3 раза по 3 минуты 3-х часовой инкубации (этап 9).

Различия в процедуре анализа в зависимости от времени инкубации исследуемых образцов представлены в таблице и подчеркнуты.

Таблица.

	16 часовая инкубация	3 часовая инкубация
Раствор для разведения образцов	1 мл	1 мл
Исследуемый образец сыворотки (плазмы)	10 мкл	<u>20 мкл</u>
Контрольные (К+, К-) образцы	10 мкл	<u>20 мкл</u>
Тест-полоски ЛИА ВИЧ1/2	16 часов±2 часа	<u>3 часа</u>
Отмывка	1 мл / 3х5 мин	1 мл / <u>3х6 мин</u>
Конъюгат	1 мл / 30 мин	1 мл / 30 мин
Отмывка	1 мл / 3х5 мин	1 мл / <u>3х3 мин</u>
Хромоген	1 мл / 30 мин	1 мл / 30 мин
Стоп-реагент	1 мл / 10-30 мин	1 мл / 10-30 мин

Если при постановке реакции по 3-х часовому протоколу получили неопределенный результат, повторный анализ рекомендуется провести по 16 часовому протоколу.

Рекомендации для миксера с орбитальным вращением:

- диаметр кругового движения должен быть равным или большим 13 мм;
- рекомендуемая скорость для движения с эксцентриситетом 13 мм должна быть 160 об/мин;
- рекомендуемая скорость для движения с эксцентриситетом 24 мм должна быть 90 об/мин;
-

Для миксера-качалки:

- разница между мин и мах положениями платформы не должна превышать 80 мм во избежание разбрызгивания содержимого ванночек;
- рекомендуемая скорость составляет 34 об/мин.

После проведения анализа немедленно возвратите все реагенты в холодильник при температуре от 2 до 8 °С.

После открытия пластиковой пробирки, содержащей тест-полоски, неиспользованные тест-полоски сохраняют стабильность в течение 16 недель, если их хранить при температуре от 2 до 8 °С в плотно закрытой пробирке с капсулой осушителя. Не использованные тест-полоски, как и проявленные, должны храниться вдали от источников яркого света и тепла.

Регистрация и интерпретация результатов

Расположение и идентификация антигенов и контрольных линий на тест-полоске следующая:

На каждой тест-полоске расположены:

- идентификационный номер;
- стрептавидин;
- антитела к IgG, человека, интенсивность окраски – «3+»;
- IgG человека, интенсивность окраски – «1+»;
- IgG человека, интенсивность окраски – «±»;
- Антигенные линии: ВИЧ-1 - sgp 120, gp 41, p 31, p 24, p 17,; ВИЧ-2 - sgp 105, gp 36;

Интенсивность проявления окрашивания на контрольных линиях каждой тест-полоски используется для оценки степени взаимодействия ВИЧ-специфических антител в исследуемых образцах сыворотки (плазмы) крови с отдельными определенными антигенами ВИЧ-1,2, нанесенными на каждую тест-полоску.

Интенсивность окрашивания антигенных линий (R)		Оценка (уровень)
менее интенсивная, чем ±	$R < \pm$	- отрицательный
интенсивность равная ±	$R = \pm$	± неопределенный
более интенсивная, чем ±, но менее интенсивная, чем 1+ или равная ей	$\pm < R < 1+$	1+ слабоположительный
более интенсивная, чем 1+, но менее интенсивная, чем 3+	$1+ < R < 3+$	2+ положительный
интенсивность равная 3+	$R = 3+$	3+ положительный
более интенсивная, чем 3+	$R > 3+$	4+ высокоположительный

Интенсивность окрашивания и расположение проявленных линий на тест-полоске оценивается для каждого исследуемого образца отдельно при сравнении с интенсивностью окрашивания контрольных линий.

Для облегчения оценки результата прилагается специальная форма для учета результатов. Прикрепляйте проявленные тест - полоски к форме для учета результатов так, чтобы первая сверху самая яркая линия совпадала с первой сверху пунктирной линией. Это референсная линия, соответствующая контрольной линии интенсивности 3+ . При этом, полоски могут не точно совмещаться с обозначенным контуром, немного «съезжать» вниз или вверх. Пластиковый трафарет прилагается для дополнительной проверки учета результата по каждой тест-полоске. Принцип идентификации антигенных линий, аналогичный.

Валидация

Критерии качества проведения анализа:

На тест-полоске с К+ (положительный контрольный образец): интенсивность окрашивания антигенных линий не менее или равна 1+ для sgp120, gp41, p31, p24 и gp36. Окрашивание линий p 17 и sgp105 может отсутствовать;

На тест-полоске с К- (отрицательный контрольный образец): окраска любой антигенной линии отсутствует или ниже, чем $\pm$;

Следующие факты свидетельствуют, что результаты по отдельной тест-полоске можно учитывать:

контрольные линии каждой из интенсивностей $\pm$, 1+, 3+ ясно различимы;

интенсивность контрольной линии 3+ больше, чем линии 1+;

интенсивность контрольной линии стрептавицина отсутствует или меньше, чем $\pm$.

В противном случае анализ должен быть повторен на новой тест-полоске.

Примечание: Слабое окрашивание контрольных линий может наблюдаться для образцов с высоким содержанием IgG (выше нормального диапазона IgG).

Интерпретация результатов

Обширные исследования показали, что результаты могут быть интерпретированы как следующие:

Отрицательный результат

Если интенсивность окрашивания всех антигенных линий $\leq \pm$;

Если интенсивность одной линии $\pm$, остальные отрицательные.

Неопределенный результат

Если интенсивность окрашивания двух или более антигенных линий $\pm$;

Если интенсивность одной линии $\geq 1+$, интенсивность остальных отсутствует или $\pm$;

Если интенсивность двух или более линий $\geq 1+$, но необходимые условия положительного результата по ВИЧ, как это описано ниже, не выполнены;

Положительный результат

Если интенсивность двух линий $\geq 1+$, причем:

обе линии представляют собой оболочечные антигены ВИЧ одного типа (ВИЧ-1: sgp120 + gp41 или ВИЧ-2: sgp105 + gp36);

одна линия - оболочечный антиген (sgp120, gp41, sgp105 или gp36), вторая линия p24 антиген;

Если интенсивность трех или более линий $\geq 1+$, причем одна из них представляет собой оболочечный антиген (sgp120, gp41, sgp105 или gp36);

Примечание:

если получен неопределенный результат, рекомендуется тестировать другой образец того же пациента через несколько недель.

Если получен положительный результат (по критериям, описанным выше), приступайте к разделу Дифференциальный анализ.

Дифференциальный анализ

ВИЧ-1

- интенсивность линии одного из ВИЧ-1 антигенов (sgp120 или gp41) равна или более 1+ ($\geq 1+$), при этом только одна антигенная линия ВИЧ-2 (sgp105 или gp36) имеет максимальную интенсивность $\pm$;
- обе антигенные линии ВИЧ-1 (sgp120 или gp41) имеют интенсивность $\geq 1+$, при этом только одна антигенная линия ВИЧ-2 (sgp105 или gp36) имеет максимальную интенсивность 1+;

ВИЧ-2

- интенсивность линии одного из ВИЧ-2 антигенов (sgp105 или gp36) равна или более 1+ ($\geq 1+$), при этом только одна антигенная линия ВИЧ-1 (sgp120 или gp41) имеет максимальную интенсивность $\pm$;
- обе антигенные линии ВИЧ-2 (sgp105 или gp36) имеют интенсивность $\geq 1+$, при этом только одна антигенная линия ВИЧ-1 (sgp120 или gp41) имеет максимальную интенсивность 1+.

Критерии интерпретации

Антигенная линия интерпретируется как положительная, если интенсивность ее окрашивания минимум 1+;

ENV1 - обозначение оболочечного антигена ВИЧ-1 (sgp120 или gp41);

ENV2 - обозначение оболочечного антигена ВИЧ-2 (sgp105 или gp36).

нет положительных линий	нет линий с интенсивностью $\pm$	отрицат
	1 линия с интенсивностью $\pm$	отрицат
	2 или более линий с интенсивностью $\pm$	неопред
1 положительная линия ($\geq 1+$)		неопред

2 положительных линии ($\geq 1+$)	нет ENV линий	неопред
	1 ENV1 линия + p24 линия	ВИЧ-1*
	2 ENV1 линии	ВИЧ-1*
	1 ENV2 линия + p24 линия	ВИЧ-
	2 ENV2 линии	2**
	любая другая комбинация	ВИЧ- 2** неопред
3 и более положительных линий ($\geq 1+$)	нет ENV линий	неопред
	1 или 2 ENV1 линии	ВИЧ-1*
	1 или 2 ENV2 линии	ВИЧ-
	1 ENV1 +1 ENV2 линии	2**
	2 ENV1 +1 ENV2 линии ***, причем ENV2 = 1+	ВИЧ
	ENV2 > 1+	ВИЧ-1
	1 ENV1 +2 ENV2 линии ***, причем ENV1 = 1+	ВИЧ
	ENV1 > 1+	ВИЧ-2
	2 ENV1+2 ENV2 линии	ВИЧ
		ВИЧ

- * - если интенсивность $\pm$ наблюдается на обеих ENV2 линиях, образец не типифируется; в этом случае образец определяется как положительный по ВИЧ.
- ** - если интенсивность $\pm$ наблюдается на обеих ENV1 линиях, образец не типифируется; в этом случае образец определяется как положительный по ВИЧ.
- *** - если интенсивность оставшихся ENV линий $\pm$, образец не типифируется; в этом случае образец определяется как положительный по ВИЧ.

Ограничения процедуры

Для достижения оптимального качества проводимого анализа необходимо четко следовать инструкции.

Отрицательный результат не исключает, тем не менее, возможность инфицированности пациента ВИЧ.

Образец, дающий положительный результат на стрептавидиновой контрольной линии, может давать перекрестные реакции с другими ВИЧ антигенными линиями и не может быть определен как ВИЧ положительный.

Использование разбавленных образцов может давать ложные результаты.

Аналитические характеристики набора

1. Чувствительность.

Чувствительность на «Стандартной панели сывороток, содержащих антитела к ВИЧ-1 типа» (ОСО 42-28-212-93-02П) – 100%.

Чувствительность на «Стандартной панели сывороток, содержащих антитела к ВИЧ-2 типа» (ОСО 42-28-216-02) – 100%

2. Специфичность.

Специфичность на «Стандартной панели сывороток, не содержащих антитела к ВИЧ» (ОСО 42-28-214-02П) – 100%.

На тест-полосках при анализе сывороток вышеуказанных стандартных панелей должны выявляться линии по своему расположению и интенсивности окрашивания соответствующие характеристике линий указанной в паспортах на серии стандартных панелей использованные для контроля качества серий данного Набора реагентов.

Условия хранения и эксплуатации набора.

Хранение наборов в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться в соответствии с СПЗ.3.2.1248-03 в сухом, защищенном от прямого солнечного света месте при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности. Замораживание не допускается.

Транспортирование наборов должно производиться в соответствии с СП 3.3.2.1248-03 всеми видами крытого транспорта при температуре от 2 до 8 °С. Допускается транспортирование при температуре от 9 до 25 °С в течение 3 суток. Замораживание не допускается.

Срок годности

Срок годности Набора 12 месяцев со дня приемки набора ОБТК предприятия-изготовителя. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

Условия отпуска. Для *in vitro* диагностики в лечебно-профилактических и санитарно-профилактических учреждениях.

Рекламации на качество Набора направлять в адрес предприятия – изготовителя:

ООО «НИАРМЕДИК ПЛЮС» Россия, 125047, г. Москва, ул. 4-я Тверская-Ямская; д.2/11, стр.2, тел./факс (495) 741-49-89 и в адрес Национального органа контроля МИБП, ФГУН ГИСК им. Л.А. Тарасевича Роспотребнадзора РФ, Россия, 119002, г. Москва, пер..Сивцев Вражек, д. 41, (495) 241-39-22.

Генеральный директор
ООО «НИАРМЕДИК ПЛЮС»



В.Г. Нестеренко



Handwritten signature

Handwritten signature