



УТВЕРЖДАЮ

Заместитель генерального директора
ООО «НПО «Диагностические системы»

О.Н. Шлюдин



2017 г.

REF



96

REF



192

REF



480

REF



96

REF



192

REF



480

ИНСТРУКЦИЯ по применению

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

Содержание

I. НАЗНАЧЕНИЕ	3
II. ПРИНЦИП ТЕСТА.....	3
III. СОСТАВ НАБОРА РЕАГЕНТОВ.....	4
IV. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ.....	6
V. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	8
VI. УТИЛИЗАЦИЯ И УНИЧТОЖЕНИЕ.....	8
VII. НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ, НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ С НАБОРОМ РЕАГЕНТОВ	8
VIII. ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ.....	9
IX. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ.....	9
X. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА.....	10
XI. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ	11
XII. ОГРАНИЧЕНИЯ ТЕСТА.....	11
XIII. СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ.....	11
XIV. ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ И РЕМОНТ	12
XV. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА.....	12
XVI. ОБЪЯСНЕНИЕ ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СИМВОЛОВ	13
Приложение.....	14

Набор реагентов «МилаЛаб-ИФА-ВИЧ-АГАТ-ЭКСПРЕСС 2.0» выпускается в двух вариантах

исполнения:

вариант исполнения 1 (3 комплекта) – укомплектован СБ и ТМБ концентратом ($\times 11$). Комплекты 1.1, 1.2 и 1.3.

вариант исполнения 2 (3 комплекта) – укомплектован ТМБ-Субстратным раствором, готовым к применению. Комплекты 2.1, 2.2 и 2.3.

Комплекты 1.1, 2.1 рассчитаны на проведение 96 (один разборный планшет) определений, включая контрольные, предназначены как для ручной постановки, так и для постановки на ИФА-анализаторах открытого типа с возможностью дробного использования.

Комплекты 1.2, 2.2 рассчитаны на проведение 192 (два разборных планшета) определений, включая контрольные, предназначены как для ручной постановки с возможностью дробного использования, так и для одновременной постановки на ИФА-анализаторах открытого типа.

Комплекты 1.3, 2.3 рассчитаны на проведение 480 (пять разборных планшетов) определений, включая контрольные, предназначены как для ручной постановки с возможностью дробного использования, так и для одновременной постановки на ИФА-анализаторах открытого типа.

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

I. НАЗНАЧЕНИЕ

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

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

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

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

II. ПРИНЦИП ТЕСТА

Метод основан на твердофазном иммуноферментном «сэндвич» анализе. Твердая фаза покрыта антителами к антигену р24 ВИЧ-1 и искусственными антигенами – аналогами белков ВИЧ-1, ВИЧ-2 и ВИЧ-1 группы О.

На первой стадии анализа исследуемые и контрольные образцы инкубируют с Конъюгатом-1 (смесь биотинилированных конъюгатов антител к антигену р24 ВИЧ-1 и искусственных антигенов ВИЧ-1, ВИЧ-2 и ВИЧ-1 группы О). Присутствующие в исследуемом образце антитела к ВИЧ взаимодействуют одновременно с антигенами ВИЧ-1/2 и ВИЧ-1 группы О в составе Иммуносорбента и Конъюгата-1, а присутствующий в образце антиген р24 ВИЧ-1 образует иммунный комплекс с антителами в составе Иммуносорбента и Конъюгата-1.

На второй стадии после отмывки образовавшиеся комплексы выявляют с помощью конъюгата стрептавидина с пероксидазой хрена и пероксидазными конъюгатами искусственных антигенов ВИЧ-1/2. После отмывки не связавшихся компонентов визуализация происходит в химической реакции пероксидазы с субстратной смесью с образованием цветной реакции. Интенсивность жёлтого окрашивания (после внесения стоп-реагента) пропорциональна количеству содержащихся в исследуемом образце антител к ВИЧ-1/2 или антигена р24 ВИЧ-1.

III. СОСТАВ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

3.1. Состав набора:

Таблица 1

Характеристики реагентов		Форма выпуска					
		вариант исполнения 1 - укомплектован СБ и ТМБ концентратом (×11)			вариант исполнения 2 - укомплектован ТМБ-Субстратным раствором, готовым к применению		
		комплект 1.1 Σ 96	комплект 1.2 Σ 192	комплект 1.3 Σ 480	комплект 2.1 Σ 96	комплект 2.2 Σ 192	комплект 2.3 Σ 480
Иммуносорбент	Планшет полистироловый 96-луночный разборный до стрипов (или до лунок), в лунках которого сорбированы искусственные антигены – аналоги белков ВИЧ-1, ВИЧ-2, ВИЧ-1 группы О и антитела к антигену р24 ВИЧ-1. Готов к применению.	1 планшет	2 планшета	5 планшетов	1 планшет	2 планшета	5 планшетов
Конъюгат-1	Смесь искусственных антигенов ВИЧ-1, ВИЧ-1 группы О, ВИЧ-2 и антител к антигену р24 ВИЧ-1, конъюгированных с биотином. Готов к применению. Прозрачная или слегка опалесцирующая малиново-розового цвета жидкость. Содержит 0,1% ProClin 300.	1 флакон 5,0 мл	1 флакон 8,0 мл или 2 флакона по 5,0 мл	1 флакон 20,0 мл или 3 флакона по 8,0 мл или 5 флаконов по 5,0 мл	1 флакон 5,0 мл	1 флакон 8,0 мл или 2 флакона по 5,0 мл	1 флакон 20,0 мл или 3 флакона по 8,0 мл или 5 флаконов по 5,0 мл
Конъюгат-2	Смесь стрептавидина и искусственных антигенов ВИЧ-1/ВИЧ-2, конъюгированных с пероксидазой хрена. Готов к применению. Прозрачная или слегка опалесцирующая фиолетового цвета жидкость.	1 флакон 12,0 мл	1 флакон 23,0 мл или 2 флакона по 12,0 мл	3 флакона по 23,0 мл или 5 флаконов по 12,0 мл	1 флакон 12,0 мл	1 флакон 23,0 мл или 2 флакона по 12,0 мл	3 флакона по 23,0 мл или 5 флаконов по 12,0 мл
K⁺AT	Контрольный положительный образец, содержащий антитела к ВИЧ, инактивированный. Готов к применению. Прозрачная или слегка опалесцирующая оранжевого цвета жидкость.	1 флакон 2,0 мл	1 флакон 2,0 мл	1 флакон 4,0 мл или 2 флакона по 2,0 мл	1 флакон 2,0 мл	1 флакон 2,0 мл	1 флакон 4,0 мл или 2 флакона по 2,0 мл
K⁺Ag	Контрольный положительный образец, содержащий искусственный антиген р24 ВИЧ-1, инактивированный. Готов к применению. Прозрачная или слегка опалесцирующая красного цвета жидкость.	1 флакон 2,0 мл	1 флакон 2,0 мл	1 флакон 4,0 мл или 2 флакона по 2,0 мл	1 флакон 2,0 мл	1 флакон 2,0 мл	1 флакон 4,0 мл или 2 флакона по 2,0 мл
K-	Контрольный отрицательный образец, инактивированный. Готов к применению. Прозрачная или слегка опалесцирующая зелёного цвета жидкость.	1 флакон 2,5 мл	1 флакон 2,5 мл	1 флакон 5,0 мл или 2 флакона по 2,5 мл	1 флакон 2,5 мл	1 флакон 2,5 мл	1 флакон 5,0 мл или 2 флакона по 2,5 мл
ПР	Промыочный раствор. Концентрат (×25) фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т). Прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная или светло-жёлтого цвета жидкость. Допустимо образование осадка, полностью растворяющегося при температуре от 35 до 39°C и встряхивании.	1 флакон 50,0 мл	1 флакон 120,0 мл	2 флакона по 120,0 мл	1 флакон 50,0 мл	1 флакон 120,0 мл	2 флакона по 120,0 мл

Характеристики реагентов		вариант исполнения 1 - укомплектован СБ и ТМБ концентратом (×11)			вариант исполнения 2 - укомплектован СБ и ТМБ субстратным раствором, готовым к применению		
		комплект 1.1 Σ 96	комплект 1.2 Σ 192	комплект 1.3 Σ 480	комплект 2.1 Σ 96	комплект 2.2 Σ 192	комплект 2.3 Σ 480
Стоп-реагент	Раствор серной кислоты (0,2М). Готов к применению. Прозрачная бесцветная жидкость.	1 флакон 25,0 мл	1 флакон 50,0 мл или 2 флакона по 25,0 мл	2 флакона по 50,0 мл или 4 флакона по 25,0 мл	1 флакон 25,0 мл	1 флакон 50,0 мл или 2 флакона по 25,0 мл	2 флакона по 50,0 мл или 4 флакона по 25,0 мл
СБ	Субстратный буферный раствор – цитратный буфер, содержащий раствор перекиси водорода. Прозрачная бесцветная жидкость.	1 флакон 25,0 мл	1 флакон 25,0 мл	2 флакона по 50,0 мл или 3 флакона по 25,0 мл	-	-	-
ТМБ	Концентрат (×11). Раствор, содержащий 3,3',5,5'-тетраметилбензидин. Прозрачная бесцветная или светло-жёлтого цвета жидкость.	1 флакон 2,5 мл	1 флакон 2,5 мл	2 флакона по 3,5 мл или 3 флакона по 2,5 мл	-	-	-
ТМБ-Субстратный раствор	Готов к применению. Прозрачная бесцветная жидкость (возможно наличие окраски).	-	-	-	1 флакон 12,0 мл	1 флакон 23,0 мл или 2 флакона по 12,0 мл	3 флакона по 23,0 мл или 5 флаконов по 12,0 мл
Наконечники одноразовые		16 шт.	32 шт.	80 шт.	16 шт.	32 шт.	80 шт.
Ванночки пластиковые для жидких реагентов		2 шт.	4 шт.	10 шт.	2 шт.	4 шт.	10 шт.
Плётки защитные для ИФА-планшетов		2 шт.	4 шт.	10 шт.	2 шт.	4 шт.	10 шт.

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

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

3.2. Принадлежности (по запросу):

Наименование	вариант исполнения 1 - укомплектован СБ и ТМБ концентратом (×11)			вариант исполнения 2 - укомплектован ТМБ-Субстратным раствором, готовым к применению		
	комплект 1.1 Σ 96	комплект 1.2 Σ 192	комплект 1.3 Σ 480	комплект 2.1 Σ 96	комплект 2.2 Σ 192	комплект 2.3 Σ 480
Пакеты полиэтиленовые с замком Zip-Lock	1 шт.	2 шт.	3 шт.	1 шт.	2 шт.	3 шт.

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

IV. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

4.1. Аналитическая чувствительность

Для оценки чувствительности набора реагентов «МилаЛаб-ИФА-ВИЧ-АГАТ-ЭКСПРЕСС 2.0» по выявлению антигена р24 ВИЧ-1 были использованы различные концентрации «HIV-1 p24 ANTIGEN 1st International Reference Reagent» (NIBSC Code: 90/636), Набора реагентов «Стандарт ВИЧ-1 АГ р24(+)» Стандартный биологический материал, содержащий антиген р24 вируса иммунодефицита человека 1 типа (ВИЧ-1) (ООО «НПО «Диагностические системы», Россия) и Стандартной панели сывороток, содержащих антиген р24 ВИЧ-1 в различных концентрациях «Стандарт АГ(+) ВИЧ-1 р24» (ЗАО «МБС», Россия). Минимально выявляемая концентрация антигена р24 ВИЧ-1 составила ≤ 5 пг/мл в термошейкере и ≤ 10 пг/мл в термостате. При использовании готового ТМБ-Субстратного раствора минимально выявляемая концентрация антигена р24 ВИЧ-1 составляет ≤ 10 пг/мл на обоих режимах постановки.

Предел обнаружения (LoD), вычисленный с помощью модели пробит-регрессии, равен 3,55 пг/мл (95%CL: 3,43-3,78).

4.2. Диагностическая чувствительность

Диагностическая чувствительность набора реагентов «МилаЛаб-ИФА-ВИЧ-АГАТ-ЭКСПРЕСС 2.0» оценивалась при тестировании:

- **Подтвержденных положительных по антителам к ВИЧ образцов**

Оценка чувствительности проводилась:

на 966 подтвержденных положительных образцах сыворотки (плазмы) крови человека к ВИЧ-1, чувствительность составила 100% (95%CI:99,6-100,0%) (966/966);

на 13 подтвержденных положительных образцах сыворотки (плазмы) крови человека к ВИЧ-2, чувствительность составила 100% (95%CI:77,19-100,0%) (13/13);

на 8 подтвержденных образцах сыворотки (плазмы) крови пациентов, содержащих антитела к ВИЧ-1 группы О, чувствительность составила 100% (95%CI:67,6-100,0%) (8/8);

на 20 позитивных образцах ВИЧ-1 группы М разных субтипов (А,В,С,Д,Е,Ф,Г), и составила 100% (95%CI:83,89 -100,0%) (20/20).

- **Свежеотобранных нативных образцов**

47 образцов сыворотки (плазмы) крови пациентов, с подтвержденным наличием антител к ВИЧ-1 были протестированы в день получения (свежеотобранные), чувствительность составила 100% (95%CI:92,44-100,0%) (47/47).

- **Образцов пациентов в составе коммерческих сероконверсионных панелей**

Способность тест-системы к диагностике ранней ВИЧ инфекции оценивалась на 14 коммерческих сероконверсионных панелях (BBI и ZeptoMetrix, США). Результаты тестирования представлены в таблице 2. Из 162 образцов сероконверсионных панелей «МилаЛаб-ИФА-ВИЧ-АГАТ-ЭКСПРЕСС 2.0» определил как позитивные 79 образцов. Референс-тесты 4^{го} поколения определили как позитивные 75 из 162 образцов. Тест «МилаЛаб-ИФА-ВИЧ-АГАТ-ЭКСПРЕСС 2.0» определил ВИЧ-инфекцию в среднем на 37,4 день после первой кроводачи (для данного набора панелей), что на 4 дня позднее, чем ПЦР и на 8 дней раньше, чем тесты по определению только антител к ВИЧ. Тесты сравнения 4^{го} поколения выявили маркеры ВИЧ в среднем на 39 день после первой кроводачи. Следует отметить, что в трех сероконверсионных панелях (ZMC - HIV9077, ZMC - HIV9079, BBI - PRB933) маркеры ВИЧ определялись одновременно тест-системой «МилаЛаб-ИФА-ВИЧ-АГАТ-ЭКСПРЕСС 2.0» и ПЦР.

Таблица 2

Панель	«МилаЛаб-ИФА-ВИЧ-АГАТ-ЭКСПРЕСС 2.0»	Тесты сравнения ВИЧ-АГАТ 4 ^{го} поколения
	Количество позитивных результатов / количество протестированных образцов	
BBI - PRB914	5/5	5/5
BBI - PRB926	4/6	4/6
BBI - PRB933	2/3	2/3
BBI - PRB944	5/6	4/6
BBI - PRB955	4/5	4/5
BBI - PRB965	5/6	5/6
BBI - PRB966	3/10	3/10
BBI - PRB968	4/10	4/10
BBI - PRB969	5/10	3/10
ZMC - HIV9021	4/17	4/17
ZMC - HIV9030	3/16	3/16
ZMC - HIV9031	5/19	4/19

Панель	«МилаЛаб-ИФА-ВИЧ-АГ-АТ-ЭКСПРЕСС 2.0»	Тесты сравнения ВИЧ-АГ-АТ 4 ^{го} поколения
	Количество позитивных результатов / количество протестированных образцов	
ZMC - HIV9077	13/24	13/24
ZMC - HIV9079	17/25	17/25
Всего	79/162	75/162

4.3. Дополнительно чувствительность набора реагентов «МилаЛаб-ИФА-ВИЧ-АГ-АТ-ЭКСПРЕСС 2.0» оценивалась при исследовании образцов:

- Набора реагентов «Стандарт ВИЧ-1 АТ(+))» Стандартная панель сывороток, содержащих антитела к вирусу иммунодефицита человека 1 типа (ВИЧ-1) в различных концентрациях и Набора реагентов «Стандарт ВИЧ-2 АТ(+))» Стандартная панель сывороток, содержащих антитела к вирусу иммунодефицита человека 2 типа (ВИЧ-2) (ООО «НПО «Диагностические системы», Россия). Чувствительность составила 100%.
- Стандартной панели сывороток, содержащих антитела к вирусу иммунодефицита человека первого типа (ВИЧ-1) в различных концентрациях «Стандарт АТ(+) ВИЧ-1» и Стандартной панели сывороток, содержащих антитела к вирусу иммунодефицита человека второго типа (ВИЧ-2) в различных концентрациях «Стандарт АТ(+) ВИЧ-2» (ЗАО «МБС», Россия). Чувствительность составила 100%.
- Коммерческих панелей: «1st International Reference Panel for anti-HIV» (NIBSC, Великобритания, код: 02/210), «Anti-HIV 1 Mixed Titer Performance Panel» PRB205(M) (BBI, США), «Anti-HIV-1 Low Titer Performance Panel Modified» PRB 109(M) (BBI, США), «HIV p24 Antigen Mixed Titer Performance Panel Modified» PRB 204(M) (BBI, США), «HIV 1 Incidence/Prevalence Performance panel», PRB601 (BBI, США), «Mixed Subtype Panel» MSP-HIV-001 (BioMex, Германия). Чувствительность набора с образцами из панелей составила 100%.
- Коммерческой панели «HIV Subtype Infectivity Panel PRD320» (BBI, США), содержащей супернатанты клеточных культур вирусов следующих субтипов: А, В, С, D, F, G, Н ВИЧ-1 группы М, ВИЧ-1 группы О. Чувствительность набора с образцами из панелей составила 100%.

4.4. Диагностическая специфичность

Диагностическая специфичность набора реагентов «МилаЛаб-ИФА-ВИЧ-АГ-АТ-ЭКСПРЕСС 2.0» оценивалась при исследовании:

- 5175 образцов сыворотки (плазмы) крови доноров случайной выборки и составила 99,85% (95%CI: 99,7-99,92%);
- 538 образцов сыворотки (плазмы) крови, взятых от больных различными соматическими заболеваниями, и составила 99,81% (95%CI: 98,95-99,97%);
- 863 перекрестно-реагирующих образцов сыворотки (плазмы) крови (беременные, образцы, содержащие ревматоидный фактор, образцы сыворотки крови, содержащие антитела к возбудителям гепатитов А, В, С, гриппа, герпеса, цитомегаловирусной инфекции, сифилиса, хламидиоза) и составила 99,9% (95%CI: 99,35-99,98%);
- Набора реагентов «Стандарт ВИЧ-1,2 АТ(-), ВИЧ-1 АГ p24(-))» Стандартная панель сывороток, не содержащих антитела к вирусам иммунодефицита человека 1 и 2 типов (ВИЧ-1 и ВИЧ-2) и антиген p24 ВИЧ-1 (ООО НПО «Диагностические системы», Россия), специфичность составила 100%;
- Стандартной панели сывороток, не содержащих антитела к вирусу иммунодефицита человека первого и второго типов (ВИЧ-1,2) и антиген p24 ВИЧ-1 «Стандарт АТ(-) ВИЧ» (ЗАО «МБС», Россия), специфичность составила 100%.

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

4.4. Воспроизводимость

- Коэффициент вариации результатов с использованием набора реагентов «МилаЛаб-ИФА-ВИЧ-АГ-АТ-ЭКСПРЕСС 2.0» не превышает 10%.
- Для анализа рисков получения ложноотрицательных результатов при повторном тестировании слабopоложительных образцов проведено многократное исследование 3 образцов с ОП близкой к ОП крит. При тестировании в наборах «МилаЛаб-ИФА-ВИЧ-АГ-АТ-ЭКСПРЕСС 2.0» образцов с ОП±20% от ОП крит. будет получен постоянный результат с вероятностью 92,6%.

Эквивалентность образцов сыворотки и плазмы крови человека

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

V. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- 5.1. Нестерильное медицинское изделие для диагностики *in vitro*. Потенциальный риск применения набора – класс 3 (Приказ Минздрава России от 06.06.2012 г. N 4н).
- 5.2. Набор предназначен для профессионального использования в клинической лабораторной диагностике специально обученным персоналом. При работе с набором реагентов следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования к безопасности».
- 5.3. Реагенты набора не содержат вредных веществ в опасных концентрациях, за исключением реагентов, обозначенных символом «Внимание». При использовании по назначению вероятность негативного воздействия на организм незначительна. Растворы в объемах и концентрациях, представленных в наборе, не представляют опасности при вдыхании.
Меры первой помощи (при необходимости): при попадании на кожу/в глаза – промыть большим количеством воды. Загрязненную одежду снять. При необходимости обратиться за медицинской помощью.
- 5.4. K⁺_{АТ}, приготовлен с использованием инаktivированной сыворотки (плазмы) крови человека, не содержащей HBsAg, антиген p24 ВИЧ-1, антитела к HCV; содержит антитела к ВИЧ.
- 5.5. K⁺_{АГ} приготовлен с использованием инаktivированной сыворотки (плазмы) крови человека, не содержащей HBsAg, антитела к ВИЧ-1,2 и HCV; содержит искусственный антиген p24 ВИЧ-1.
- 5.6. K⁻ приготовлен с использованием инаktivированной сыворотки (плазмы) крови человека, не содержащей HBsAg, антиген p24 ВИЧ-1, антитела к ВИЧ-1,2 и HCV.
- 5.7. При работе с реагентами набора (K⁺_{АГ}, K⁺_{АТ}, K⁻) и исследуемыми образцами нужно обращаться как с потенциально опасными материалами, т.к. ни один известный метод не может гарантировать отсутствие инфекционных агентов.
- 5.8. Паспорт безопасности набора реагентов может быть представлен по запросу клиента.
- 5.9. Для получения надежных результатов необходимо:
 - обеспечить условия хранения набора;
 - строго соблюдать требования инструкции по применению набора реагентов;
 - не использовать набор за пределами установленного срока годности.
- 5.10. Не использовать набор, если при вскрытии обнаружено повреждение пакета с Иммуносорбентом, протекание флаконов с жидкими реагентами.

VI. УТИЛИЗАЦИЯ И УНИЧТОЖЕНИЕ

- 6.1. Изделия в процессе хранения и транспортирования не выделяют вредных веществ, загрязняющих окружающую среду. Отходы, образующиеся в результате применения набора реагентов (включая принадлежности) по назначению, установленному производителем, а также не использованные изделия (истекший срок годности, поврежденная, потребительская упаковка/маркировка, поврежденная упаковка/маркировка реагентов и т.д.) относятся к медицинским отходам класса «А», «Б» и «Г» в соответствии со ст. 49 Федерального закона от 21.11.2011 г. N 323-ФЗ «Об охране здоровья граждан в Российской Федерации».
- 6.2. Медицинские отходы подлежат сбору, обезвреживанию, размещению, хранению, транспортировке, учету и утилизации в соответствии с действующими правилами и нормативами (СанПиН 2.1.7.2790-10, СП 1.3.2322-08, МУ 287-113).

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

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

III. ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Сбор образцов крови человека проводить в соответствии с текущей практикой методом венопункции. Для анализа использовать только нативные (неразведенные) образцы сыворотки крови человека или плазмы крови человека с различными антикоагулянтами (ЭДТА, гепарин, цитрат натрия).

Во избежание гемолиза необходимо как можно быстрее отделить плазму от эритроцитов или сыворотку от сгустка. Образцы, содержащие агрегаты или осадок, осветлять центрифугированием при 1000-2000 об/мин (15 мин, при температуре от 2 до 8 °С).

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

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

IX. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

9.1. Общие требования и рекомендации:

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

9.2. Реагенты, готовые к применению:

- Иммуносорбент.** Планшет, состоящий из 12 стрипов и рамки, упакован в фольгированный пакет. Вскрыть фольгированный пакет, отступив 1 см от края пакета, и взять необходимое количество стрипов.
- Конъюгат-1, Конъюгат-2, K⁺_{АТ}, K⁺_{АГ}, K⁻, Стоп-реагент (0,2М), ТМБ-Субстратный раствор** (вариант исполнения 2).

9.3. Реагенты, требующие предварительного приготовления:

- Рабочий ПР.** Необходимый объем концентрата ПР (×25) развести в 25 раз соответствующим объемом воды дистиллированной (деионизированной) (см. табл. 3) и тщательно перемешать.
- Субстратная смесь (СС)** (вариант исполнения 1). Необходимый объем концентрата ТМБ (×11) развести в 11 раз соответствующим объемом СБ (см. табл. 3) и тщательно перемешать. Возможно приготовление СС непосредственно во флаконе с СБ. Для этого нужно отобрать дозатором пипеточным необходимый объем ТМБ (2,5 мл или 5,0 мл), перенести в соответствующий флакон с СБ (25,0 мл или 50,0 мл) и тщательно перемешать.

Таблица 3

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

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА**10.1. Общие требования и рекомендации:**

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

10.2. Проведение ИФА при ручной постановке:

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

Схема проведения ИФА приведена в Приложении.

10.3. Проведение ИФА в автоматическом режиме

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

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

При постановке набора на ИФА-анализаторе для комплектов 1.1, 2.1 предполагается дробное использование планшета не более чем в трех постановках, для комплектов 1.2, 1.3, 2.2 и 2.3 не предполагается дробное использование планшета.

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

Время, необходимое при тестировании двух планшетов тест-системы «МилаЛаб-ИФА-ВИЧ-АГАТ-ЭКСПРЕСС 2.0» на ИФА-анализаторе открытого типа EVOLIS, составляет 2 ч 07 мин – в процедуре 1.

Возможно проведение спектрофотометрического контроля внесения реагентов на ИФА-анализаторе. Критерии уточнять у производителя.

XI. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Наличие определяемых антигена р24 ВИЧ-1 или антител к ВИЧ-1,2 оценивается сравнением оптической плотности (ОП), измеряемой для каждого образца, с расчетной величиной ОП критической.

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

ОП крит. рассчитывать по формуле:

$$\text{ОП крит.} = \text{ОП К-ср.} + A,$$

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

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

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

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

XII. ОГРАНИЧЕНИЯ ТЕСТА

- На ранней стадии инфицирования концентрации антигена р24 ВИЧ-1 и антител к ВИЧ могут быть ниже предела чувствительности тест-систем. Поэтому негативный результат, обусловленный не детектируемым уровнем маркеров ВИЧ, не исключает возможность инфицирования.
- Вариабельность ВИЧ-1 (группы М и О) и ВИЧ-2 не исключает возможности ложнонегативного результата. Ни один из существующих методов не гарантирует отсутствия вируса иммунодефицита человека в исследуемом образце.
- Высокочувствительные ИФА-тесты могут давать ложноположительные результаты. Все позитивные в «МилаЛаб-ИФА-ВИЧ-АГАТ-ЭКСПРЕСС 2.0» образцы должны быть подтверждены подтверждающими тестами (тест с нейтрализацией антигена р24 ВИЧ-1 и иммуноблот для подтверждения наличия антител).

XIII. СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

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

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

XIV. ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ И РЕМОНТ

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

XV. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

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

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

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

I. ОБЪЯСНЕНИЕ ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СИМВОЛОВ

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

Директор по производству
 ООО «НПО «Диагностические системы», к.б.н.

В.К. Пименов

СОГЛАСОВАНО
 Генеральный директор
 ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

 П.К. Варнавичус

СХЕМА АНАЛИЗА

Внести	По 30 мкл раствора Конъюгата-1
Внести	По 70 мкл K^{+}_{AT} , K^{+}_{AG} , K^{-}
Внести	По 70 мкл исследуемых образцов
Инкубировать	Процедура 1 30 мин, $(37,0 \pm 1,0) ^\circ C$, 500 об/мин, термошейкер Процедура 2 60 мин, $(37,0 \pm 1,0) ^\circ C$, термостат
Промыть планшет	Рабочий ПР, не менее 360 мкл, 1 раз
Внести	По 100 мкл Конъюгата-2
Инкубировать	Процедура 1 10 мин, $(37,0 \pm 1,0) ^\circ C$, 500 об/мин, термошейкер Процедура 2 10 мин, $(37,0 \pm 1,0) ^\circ C$, термостат
Промыть планшет	Рабочий ПР, не менее 360 мкл, 6 раз
Внести	По 100 мкл СС или ТМБ-Субстратного раствора
Инкубировать	Планшет выдержать 10 мин в защищённом от света месте при температуре $(18-25) ^\circ C$ или при температуре $(37,0 \pm 1,0) ^\circ C$
Внести	По 150 мкл Стоп-реагента
Учет результатов	450 нм/620-680 нм или 450 нм

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 14 ЛИСТОВ

«17» декаб 2018 год

Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичус П.К.



Прошнуровано, пронумеровано и скреплено печатью

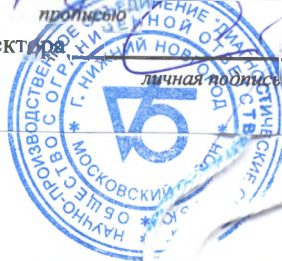
14 (четырнадцать) листов(а)

цифрами

прописью

Заместитель генерального директора

Шлюндин О.Н.



личная подпись