



УТВЕРЖДАЮ

Заместитель генерального директора
ООО «НПО «Диагностические системы»

О.Н. Шлюндин
2017 г.



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
(ДС-ИФА-ВИЧ-АГАТ-СКРИН 2.0)

Содержание

I. НАЗНАЧЕНИЕ.....	3
II. ПРИНЦИП ТЕСТА	3
III. СОСТАВ НАБОРА РЕАГЕНТОВ	4
IV. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	5
V. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	7
VI. УТИЛИЗАЦИЯ И УНИЧТОЖЕНИЕ	7
VII. НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ, НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ С НАБОРОМ РЕАГЕНТОВ.....	7
VIII. ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ	8
IX. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ	8
X. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА	9
XI. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	10
XII. ОГРАНИЧЕНИЯ ТЕСТА	10
XIII. СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ	11
XIV. ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ И РЕМОНТ	11
XV. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА	11
XVI. ОБЪЯСНЕНИЕ ИСПОЛЪЗУЕМЫХ СИМВОЛОВ.....	12
Приложение	13

Набор реагентов выпускается в трех комплектах¹:

комплект 1 рассчитан на проведение 96 (один разборный планшет) определений, включая контрольные, предназначен как для ручной постановки, так и для постановки на ИФА-анализаторах открытого типа с возможностью дробного использования.

комплект 2 рассчитан на проведение 192 (два разборных планшета) определений, включая контрольные, предназначен как для ручной постановки с возможностью дробного использования, так и для одновременной постановки на ИФА-анализаторах открытого типа.

комплект 3 рассчитан на проведение 480 (пять разборных планшетов) определений, включая контрольные, предназначен как для ручной постановки с возможностью дробного использования, так и для одновременной постановки на ИФА-анализаторах открытого типа.

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

I. НАЗНАЧЕНИЕ

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

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

Два типа вирусов, относящихся к лентивирусам, были изолированы из лимфоцитов пациентов со СПИДом или его начальными симптомами. Первый тип, названный ВИЧ-1, был изолирован во Франции и затем в США. Второй тип, названный ВИЧ-2, был изолирован от двух пациентов, живших в Африке, и оказался ответственным за новую форму СПИДа, локализованную в Западной Африке. Вирусы ВИЧ-1 делятся на две группы: М группа, включающая в себя 9 субтипов (от А до I), и О группа. Вирус-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		
		комплект 1 Σ 96	комплект 2 Σ 192	комплект 3 Σ 480
Иммуносорбент	Планшет полистироловый 96-луночный разборный до стрипов (или до лунок), в лунках которого сорбированы искусственные антигены – аналоги белков ВИЧ-1, ВИЧ-2, ВИЧ-1 группы О и антитела к антигену р24 ВИЧ-1. Готов к применению.	1 планшет	2 планшета	5 планшетов
Конъюгат-1	Концентрат (×11). Смесь искусственных антигенов ВИЧ-1, ВИЧ-1 группы О, ВИЧ-2 и антител к антигену р24 ВИЧ-1, конъюгированных с биотином. Прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная или светло-жёлтого цвета жидкость.	1 флакон 1,2 мл	1 флакон 1,2 мл	1 флакон 3,6 мл или 3 флакона по 1,2 мл
Конъюгат-2	Концентрат (×11). Смесь стрептавидина и искусственных антигенов ВИЧ-1/ВИЧ-2, конъюгированных с пероксидазой хрена. Прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная или светло-жёлтого цвета жидкость.	1 флакон 2,5 мл	1 флакон 2,5 мл	3 флакона по 2,5 мл
РРК-1	Раствор для разведения Конъюгата-1. Прозрачная или слегка опалесцирующая малиново-розового цвета жидкость, допустимо образование осадка. Содержит 0,1% ProClin 300.	1 флакон 12,0 мл	1 флакон 12,0 мл	3 флакона по 12,0 мл
РРК-2	Раствор для разведения Конъюгата-2. Прозрачная или слегка опалесцирующая синего цвета жидкость, допустимо образование осадка.	1 флакон 25,0 мл	1 флакон 25,0 мл	3 флакона по 25,0 мл
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
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
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
ПР	Промывочный раствор. Концентрат (×25) фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т). Прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная или светло-жёлтого цвета жидкость. Допустимо образование осадка, полностью растворяющегося при температуре от 35 до 39 °C и встряхивании.	1 флакон 50,0 мл	1 флакон 120,0 мл	2 флакона по 120,0 мл
Стоп-реагент	Раствор серной кислоты (0,2М). Готов к применению. Прозрачная бесцветная жидкость.	1 флакон 25,0 мл	2 флакона по 25,0 мл	2 флакона по 50,0 мл или 4 флакона по 25,0 мл
СБ	Субстратный буферный раствор – цитратный буфер, содержащий раствор перекиси водорода. Прозрачная бесцветная жидкость.	1 флакон 25,0 мл	1 флакон 25,0 мл	2 флакона по 50,0 мл или 3 флакона по 25,0 мл
ТМБ	Концентрат (×11). Раствор, содержащий 3,3',5,5'-тетраметилбензидин. Прозрачная бесцветная или светло-жёлтого цвета жидкость.	1 флакон 2,5 мл	1 флакон 2,5 мл	2 флакона по 3,5 мл или 3 флакона по 2,5 мл
Наконечники одноразовые		16 шт.	32 шт.	80 шт.
Ванночки пластиковые для жидких реагентов		2 шт.	4 шт.	10 шт.
Плёнки защитные для ИФА-планшетов		2 шт.	4 шт.	10 шт.

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, плёнки защитные для ИФА-планшетов и принадлежности помещают в потребительскую упаковку (коробку фасовочную). Каждая упаковка снабжена инструкцией по применению.

3.2. Принадлежности (по запросу):

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

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

IV. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

4.1. Аналитическая чувствительность

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

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

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

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

4.2. Диагностическая чувствительность

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

- 914 образцов сыворотки (плазмы) крови пациентов, инфицированных ВИЧ-1, и составила 100% (95%CI:99,58-100,0%) (914/914).
- 13 образцов сыворотки (плазмы) крови пациентов, инфицированных ВИЧ-2, и составила 100% (95%CI:72,2-100,0%) (13/13).
- 8 образцов сыворотки (плазмы) крови, содержащих антитела к ВИЧ-1 группы О и составила 100% (95%CI:67,6-100,0%) (8/8).
- 20 ВИЧ-1 позитивных образцов группы М разных субтипов (A,B,C,D,E,F,G), и составила 100% (95%CI:83,89 -100,0%) (20/20).
- Наборов реагентов «Стандарт ВИЧ-1 АТ(+)», «Стандарт ВИЧ-2 АТ (+)» (ООО «НПО «Диагностические системы», Россия). Чувствительность набора составила 100%.
- Панелей «Стандарт АТ(+) ВИЧ-1», «Стандарт АТ(+) ВИЧ-2» (ЗАО «МБС», Россия). Чувствительность набора с образцами из панелей составила 100%.
- Коммерческих панелей: «1st International Reference Panel for anti-HIV» (NIBSC, Великобритания, код: 02/210), «Anti-HIV 1 Mixed Titer Performance Panel» PRB205(M) (BBI, США), «Anti-HIV-1 Low Titer Performance Panel Modified» PRB 109(M) (BBI, США), «HIV p24 Antigen Mixed Titer Performance Panel Modified» PRB 204(M) (BBI, США), «HIV 1 Incidence/Prevalence Performance panel», PRB601 (BBI, США), «Mixed Subtype Panel» MSP-HIV-001 (BioMeh, 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%.

Инструкция по применению «ДС-ИФА-ВИЧ-АГАТ-СКРИН 2.0»

- 15 коммерческих сероконверсионных панелей (BBI и ZeptoMetrix, США). Результаты тестирования в таблице 2. Из 167 образцов сероконверсионных панелей «ДС-ИФА-ВИЧ-АГАТ-СКРИН 2.0» определил как позитивные 82 образца. Референс-тесты 4^{го} поколения определили как позитивные 77 из 167 образцов. Набор реагентов «ДС-ИФА-ВИЧ-АГАТ-СКРИН 2.0» выявил ВИЧ инфекцию в среднем через 35,4 дней после первой кроводачи (для данного набора панелей), что на 4,6 дней позднее, чем ПЦР, и на 7,5 дней раньше, чем тесты для определения только антител к ВИЧ. Тесты сравнения 4^{го} поколения выявляли маркеры ВИЧ в среднем через 37,5 дней после первой кроводачи.

Таблица 2

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

4.3. Диагностическая специфичность

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

- 6948 образцов сыворотки (плазмы) крови доноров случайной выборки и составила 99,97% (95%CI: 99,9-99,99%); из них:
 - 4420 образцов сывороток крови доноров и составила 99,95% (99,84-99,99%);
 - 612 образцов плазмы крови доноров и составила 100% (99,38-100%);
 - 919 перекрестно-реагирующих образцов сыворотки (плазмы) крови (беременные, образцы содержащие ревматоидный фактор, образцы сыворотки крови, содержащие антитела возбудителям гепатита А, В, С, гриппа, герпеса, цитомегаловирусной инфекции, сифилис хламидиоза) и составила 99,9% (99,4-99,98%);
 - 532 образцов сыворотки (плазмы) крови госпитальных пациентов и составила 98,87 (97,6-99,5%);
 - набора реагентов «Стандарт ВИЧ-1,2 АТ(-), ВИЧ-1 АГ р24 (-)» (ООО НПО «Диагностическая система», Россия), специфичность составила 100%;
 - набора реагентов «Стандарт АТ(-) ВИЧ» (ЗАО «МБС», Россия), специфичность составила 100%.
- Если процедура получения и подготовки образцов для исследования не соответствует требованиям, изложенным в п.VIII настоящей инструкции, показатели специфичности могут отличаться от указанных.*

4.4. Воспроизводимость

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

4.5. Эквивалентность образцов сыворотки и плазмы крови человека

Исследованием положительных (n=25) и отрицательных (n=25) на ВИЧ инфекцию парных образцов сыворотки и плазмы крови была показана их эквивалентность, что позволяет отнести показатель 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⁺_{AT} 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⁺_{AG} 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⁺_{AG}, K⁺_{AT}, 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.

VIII. ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

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

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

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

IX. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

9.1. Общие требования и рекомендации:

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

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.
- **K⁺_{AT}, K⁺_{AG}, K⁻, Стоп-реагент (0,2М).**

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.
- **Рабочий Конъюгат-1.** Необходимый объем концентрата Конъюгата-1 (×11) развести в 11 раз соответствующим объемом РРК-1 (см. табл. 3), осторожно перемешать, не допуская вспенивания. Возможно приготовление рабочего раствора непосредственно во флаконе с РРК-1. Для этого нужно отобрать дозатором пипеточным концентрат Конъюгата-1 (1,2 мл), перенести во флакон с РРК-1 (12,0 мл) и тщательно перемешать, не допуская вспенивания.
- **Рабочий Конъюгат-2.** Необходимый объем концентрата Конъюгата-2 (×11) развести в 11 раз соответствующим объемом РРК-2 (см. табл. 3), осторожно перемешать, не допуская вспенивания. Возможно приготовление рабочего раствора непосредственно во флаконе с РРК-2. Для этого нужно отобрать дозатором пипеточным концентрат Конъюгата-2 (2,5 мл), перенести во флакон с РРК-2 (25,0 мл) и тщательно перемешать, не допуская вспенивания.
Растворы рабочего Конъюгата-1 и рабочего Конъюгата-2 перед использованием выдержать не менее 10 мин при комнатной температуре.
- **Субстратная смесь (СС).** Необходимый 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 ИР	ПР (×25), мл	3,0	6,0	9,0	12,0	15,0	18,0	21,0	24,0	27,0	30,0	33,0	40,0
	Вода, мл	72,0	144,0	216,0	288,0	360,0	432,0	504,0	576,0	648,0	720,0	792,0	960,0
Рабочий Конъюгат-1	Конъюгат-1 (×11), мл	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,35	0,4	0,45	0,5	0,55	0,55
	РРК-1, мл	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	5,5	5,5
Рабочий Конъюгат-2	Конъюгат-2 (×11), мл	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0	1,1	1,2
	РРК-2, мл	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0
СС	ТМБ (×11), мл	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0	1,1	1,2
	СБ, мл	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0

Х. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

10.1. Общие требования и рекомендации:

- Использовать валидированные дозаторы и оборудование.
- Использовать новые наконечники для каждого образца.
- Перед использованием набор реагентов выдержать не менее 30 мин при комнатной температуре.
- Перед использованием ванночки пластиковые для жидких реагентов ополоснуть водой дистиллированной (деионизированной).
- Не использовать одну и ту же ванночку пластиковую для внесения Конъюгата-1, Конъюгата-2 и Субстратной смеси.
- Избегать 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 раствора рабочего Конъюгата-1 непосредственно перед добавлением контрольных и исследуемых образцов. <i>Возможно изменение цвета раствора рабочего Конъюгата-1.</i>	
2	Внести в лунки Иммуносорбента по 70 мкл контрольных образцов: 1-2 стрипа – К ⁺ _{АГ} – 1 лунка, К ⁺ _{АГ} – 1 лунка, К ⁻ – 2 лунки; 3 стрипа и более – К ⁺ _{АГ} – 1 лунка, К ⁺ _{АГ} – 1 лунка, К ⁻ – 3 лунки. В остальные лунки внести по 70 мкл неразведённых исследуемых образцов. При этом цвет раствора рабочего Конъюгата-1 должен измениться. Время внесения образцов не должно превышать 15 мин.	
3	Выдержать 45 мин в термощейкере при 500 об/мин и температуре (37,0 ± 1,0) °С.	Перемешать осторожным постукиванием по краям планшета. Планшет заклеить защитной плёнкой 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 раствора рабочего Конъюгата-2.	
6	Выдержать 20 мин в термощейкере при 500 об/мин и температуре (37,0 ± 1,0) °С.	Планшет заклеить защитной плёнкой и выдержать 30 мин в термостате при температуре (37,0 ± 1,0) °С.
7	С помощью промывочного устройства удалить содержимое лунок и промыть планшет 4 раза рабочим ПР, как описано в п. 4.	
8	Во все лунки внести по 100 мкл СС.	
9	Планшет выдержать 20 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.	

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 комплекта 1 предполагается дробное использование планшета не более, чем в трёх постановках, для комплектов 2 и 3 не предполагается дробное использование планшета.

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

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

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

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

XI. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Наличие определяемых антигена 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 трёх лунках с К- (ОП К-ср.) не более 0,200, значение ОП в лунках с К⁺_{АТ} и с К⁺_{АГ} – не менее 0,800.

ОП крит. рассчитывать по формуле:

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

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 может гарантировать отсутствия вируса иммунодефицита человека в исследуемом образце.
- Высокочувствительные ИФА-тесты могут давать ложноположительные результаты. Все позитивные в «ДС-ИФА-ВИЧ-АГАТ-СКРИН 2.0» образцы должны быть подтверждены подтверждающими тестами (тест с нейтрализацией антигена р24 ВИЧ-1 и иммуноблот для подтверждения наличия антител).

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.

Таблица 4

13.1	Условия хранения набора реагентов	
	Хранить в сухом, защищенном 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 защищенном от света месте)	
	Рабочий ПР	при температуре от 2 до 8 °С при температуре от 18 до 25 °С
	Рабочий Конъюгат-1	при температуре от 2 до 8 °С при температуре от 18 до 25 °С
	Рабочий Конъюгат-2	при температуре от 2 до 8 °С при температуре от 18 до 25 °С
	СС	при температуре от 18 до 25 °С
		не более 28 сут не более 14 сут не более 14 сут не более 12 ч не более 14 сут не более 12 ч не более 10 ч
13.4	Условия и сроки хранения неиспользованных реагентов набора после вскрытия	
	Хранить в сухом, защищенном 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.
	Конъюгат-1, Конъюгат-2, РРК-1, РРК-2, К ⁺ _{АТ} , К ⁺ _{АГ} , К ⁻ , ПР, Стоп-реагент, СБ, ТМБ	Флаконы плотно закрыть винтовыми крышками и хранить в упаковке производителя.
		в течение срока годности набора реагентов в течение срока годности набора реагентов

XIV. ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ И РЕМОНТ

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

XV. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

- Производитель гарантирует соответствие выпускаемого продукта требованиям нормативной и технической документации.
- Безопасность и качество набора реагентов гарантируются в течение всего установленного срока годности.
- Гарантии предприятия-изготовителя не распространяются при нарушении условий хранения и транспортирования, а также в случае несоблюдения инструкции по применению.
- Рекламации на специфические и физические свойства набора направлять в адрес предприятия-изготовителя:
ООО «НПО «Диагностические системы»
603093, Россия, г. Нижний Новгород, ул. 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.

XVI. 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»

В.К. Пименов

СОГЛАСОВАНО
Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

П.К. Варнавичус

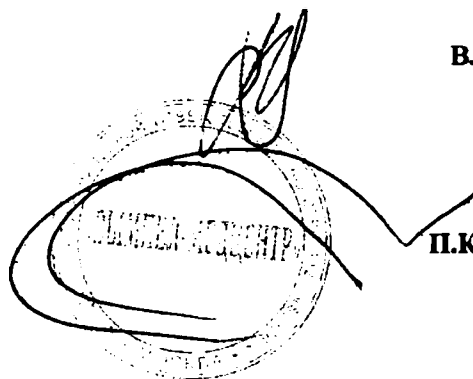


СХЕМА АНАЛИЗА

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

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 13 ЛИСТОВ

«17» 01 2018 год

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

Пронумеровано, пронумеровано и скреплено печатью
13 (тринадцать) листов(а)

цифрами

подписью

Заместитель генерального директора

Плюдин О.Н.

ИСТО

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

2 (два)

) листов(а)

цифрами прописью

Заместитель генерального
директора

Шлюндин О.Н.

личная подпись

