

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»

М.Д. Хусаинов

«12» сентября 2023 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для иммуноферментного выявления

антител к ВИЧ-1,2 и антигена р24 ВИЧ-1

«КомбиБест ВИЧ-1,2 АГ/АТ»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для иммуноферментного выявления антител к ВИЧ-1,2 и антигена р24 ВИЧ-1 «КомбиБест ВИЧ-1,2 АГ/АТ» (далее по тексту - набор) предназначен для одновременного иммуноферментного качественного определения антигена р24 ВИЧ-1, антител к ВИЧ-1,2 (включая ВИЧ-1 группу О) в сыворотке (плазме) крови. Набор может быть использован для скрининга, включая скрининг доноров крови и её компонентов, тканей и органов, и в комплексной диагностике ВИЧ инфекции вне зависимости от популяционных и демографических аспектов.

1.2. Набор реагентов выпускается в трех комплектациях, эквивалентных по назначению, свойствам и функциональным характеристикам:

Комплект 1 рассчитан на проведение 192 определений, включая контроли (по 4 лунки в каждой постановке). Предусмотрено дробное использование набора.

Комплект 2 рассчитан на проведение 96 определений, включая контроли (по 4 лунки в каждой постановке). Предусмотрено дробное использование набора.

Комплект 3 рассчитан на проведение 480 определений, включая контроли (по 4 лунки в каждой постановке). Предусмотрено дробное использование набора.

1.3. Набор может быть использован для ручной постановки анализа и для постановки в автоматических ИФА-анализаторах открытого типа (например, анализатор иммуноферментный автоматический «Лазурит» (LAZURITE) с принадлежностями).

2. КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ТЕСТА

ВИЧ-инфекция – инфекционное хроническое заболевание, вызываемое вирусом иммунодефицита человека, медленно прогрессирующее и характеризующееся поражением иммунной системы с развитием синдрома приобретенного иммунодефицита (СПИД). Клиническими проявлениями несостоятельности иммунной системы являются оппортунистические инфекции, злокачественные новообразования,

Инструкция составлена сотрудниками АО «Вектор-Бест»: директором по производству В.К. Ткачевым и начальником отделения ИФА СПИД И.А. Костюковой

фические и аутоиммунные процессы, что при отсутствии специфического лечения ведёт к гибели инфицированного человека. Основные пути передачи ВИЧ: при половом контакте, с кровью и ее продуктами, от матери ребенку [1,2].

ВИЧ-инфекцию вызывает РНК-содержащий вирус, относящийся к семейству ретровирусов, роду лентивирусов. Существуют два типа вируса иммунодефицита человека, имеющие некоторые антигенные различия – ВИЧ-1 и ВИЧ-2; последний встречается преимущественно в странах Западной Африки [3]. По сравнению с ВИЧ-1, ВИЧ-2 менее контагиозен, для ВИЧ-2-инфекции характерна меньшая вирусная нагрузка и сниженная скорость развития заболевания.

К настоящему времени выделяют четыре группы ВИЧ-1: группа М («основная»), группа О («непохожая»), группа N («ни М, ни О») и группа Р. Подавляющее большинство случаев инфицирования ВИЧ-1 вызвано вирусами группы М, внутри которой выделены различные субтипы (от А до D, от F до H, J, K), а также несколько циркулирующих рекомбинантных форм. Для ВИЧ-2 было описано семь субтипов (от А до G) [4].

Инкубационный период при ВИЧ-инфекции составляет от 4 недель до 3 месяцев, но в единичных случаях может увеличиваться до 1 года, в течение этого периода специфические антитела против вирусных белков не обнаруживаются [1]. Ранним маркером ВИЧ-инфекции является капсидный белок р24, который может быть обнаружен в образцах сыворотки или плазмы крови со 2-3 недели после инфицирования во время активного размножения вируса [5,6].

Стандартным методом лабораторной диагностики ВИЧ-инфекции является определение антител и антигена ВИЧ с помощью диагностических тестов, одновременно выявляющих антитела к ВИЧ-1,2 и антиген р24 (ИФА и ИХЛА тесты четвертого поколения) [7, 8]. Использование комбинированных тестов четвертого поколения позволяет сократить «диагностическое окно» приблизительно на одну неделю по сравнению с тестами, выявляющими только антитела [9].

Скрининговое исследование на антитела к ВИЧ-1,2 и антиген р24 ВИЧ-1 является обязательным при медицинском обследовании доноров крови, органов и тканей [10] и ряда других групп лиц, определяемых в нормативной документации по профилактике ВИЧ-инфекции [7].

3. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

3.1. Принцип метода

Метод выявления основан на твердофазном иммуноферментном анализе с применением рекомбинантных антигенов gp41 ВИЧ-1 и gp32 ВИЧ-2 и моноклональных антител к антигену р24 ВИЧ-1. При наличии в исследуемых образцах антител к ВИЧ-1 или ВИЧ-2 они связываются с рекомбинантными белками, иммобилизованными на поверхности лунок планшета (первая инкубация), к образовавшемуся комплексу во время второй инкубации присоединяется конъюгат искусственных антигенов ВИЧ с пероксидазой хрена. При наличии в исследуемом образце антигена р24 ВИЧ-1, он в ходе первой инкубации связывается с моноклональными антителами к р24, иммобилизованными на поверхности лунок планшета, и одновременно с биотинилированными поликлональными антителами к р24, присутствующими

в растворе. В ходе второй инкубации к образовавшемуся комплексу присоединяется конъюгат стрептавидина с пероксидазой. Во время инкубации с раствором тетраметилбензидина происходит окрашивание раствора в лунках, содержащих образовавшиеся комплексы антиген-антитело. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации антител к ВИЧ-1,2 и антигена р24 ВИЧ-1 в анализируемых образцах. После остановки реакции добавлением стоп-реагента результаты ИФА регистрируются измерением оптической плотности (ОП) в лунках планшета.

3.2. Состав набора

Компоненты набора имеют цветовую индикацию, флаконы с готовыми к использованию компонентами маркированы штрих-кодами.

Таблица 1

Компонент набора (сокращение) <i>описание</i>	Комплект 1 Σ 192	Комплект 2 Σ 96	Комплект 3 Σ 480
Планшет разборный с иммобилизованными рекомбинантными антигенами ВИЧ-1, ВИЧ-2 и антителами к антигену р24 ВИЧ-1	2 шт.	1 шт.	5 шт.
Положительный контрольный образец №1 (K1⁺) <i>Жидкость темно-красного цвета. Содержит антитела к ВИЧ-1. Содержит натрия азид (0,1 %).</i>	1 фл., 1,5 мл	1 фл., 1,5 мл	1 фл., 1,5 мл
Положительный контрольный образец №2 (K2⁺) <i>Жидкость светло-красного цвета. Содержит рекомбинантный антиген р24 ВИЧ-1. Содержит натрия азид (0,1 %).</i>	1 фл., 1,5 мл	1 фл., 1,5 мл	1 фл., 1,5 мл
Отрицательный контрольный образец (K⁻) <i>Жидкость светло-желтого цвета. Не содержит антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2 и антиген р24 ВИЧ-1. Содержит натрия азид (0,1 %).</i>	1 фл., 2,5 мл	1 фл., 2,5 мл	1 фл., 2,5 мл
Конъюгат №1 <i>Аморфная масса зеленого цвета. Биотинилированные антитела к р24 ВИЧ-1, лиофилизированный.</i>	1 фл.	1 фл.	2 или 3 фл.
Конъюгат №2 <i>Аморфная масса белого или желтого цвета. Стрептавидин-пероксидаза и искусственные антигены ВИЧ-1 и ВИЧ-2, меченные пероксидазой хрена, лиофилизированный.</i>	2 или 3 фл.	1 или 2 фл.	5 или 6 фл.
Раствор для предварительного разведения (РПР) <i>Бесцветная жидкость. Содержит фенол (0,15 %).</i>	1 фл., 10,0 мл	1 фл., 10,0 мл	1 фл., 10,0 мл
Раствор для разведения конъюгата №1 (РК1) <i>Жидкость синего цвета. Содержит натрия азид (0,01 %).</i>	2 фл. по 13,0 мл	1 фл., 13,0 мл	3 фл. по 20,0 мл
Раствор для разведения конъюгата №2 (РК2) <i>Жидкость оранжевого цвета. Содержит натрия мертиолят (0,002 %), фенол (0,125 %).</i>	2 фл. по 15,0 мл	1 фл., 15,0 мл	4 фл. по 19,0 мл

Тетраметилбензидин, концентрат (ТМБ, концентрат) <i>Бесцветная или светло-желтого цвета жидкость.</i> <i>Содержит 3,3',5,5' - тетраметилбензидин (0,7 %).</i>	1 фл., 1,5 мл	1 фл., 1,5 мл	1 фл. 3,5 мл
Субстратный буферный раствор (СБР) <i>Бесцветная жидкость.</i>	2 фл. по 13,0 мл	1 фл., 13,0 мл	3 фл. по 20,0 мл
Концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) <i>Бесцветная жидкость.</i> <i>Содержит ProClin 300 (0,25 %).</i>	2 фл. по 28,0 мл	1 фл. 28,0 мл	2 фл. по 100,0 мл
Стоп-реагент <i>Бесцветная жидкость.</i> <i>Содержит кислоту серную (4,9 %).</i>	1 фл., 21,0 мл	1 фл., 12,0 мл	3 фл. по 21,0 мл
Пленки для заклеивания планшета	4 шт.	2 шт.	10 шт.
Ванночки для реагентов	4 шт.	4 шт.	4 шт.
Наконечники для дозаторов	32 шт.	32 шт.	32 шт.

4. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

4.1. Предел обнаружения:

– минимальная концентрация антигена р24 ВИЧ-1, определяемая набором по стандартной панели сывороток, содержащих р24 ВИЧ-1 в различных концентрациях*, не превышает 10 пг/мл (0,50 МЕ/мл) при процедурах 1, 2 и не превышает 5 пг/мл (0,25 МЕ/мл) при процедуре 3.

*аттестован относительно WHO International Standard HIV-1 P24 Antigen NIBSC code: 90/636

4.2. Диагностическая чувствительность:

– при исследовании 500 серопозитивных образцов сыворотки (плазмы) крови составила 100% (интервал 99,26%-100% с доверительной вероятностью 95%).

4.3. Сероконверсионные панели:

– чувствительность набора «КомбиБест ВИЧ-1,2 АГ/АТ» в период сероконверсии оценивалась путем тестирования 2-х коммерческих сероконверсионных панелей: HIV Seroconversion Panel, Catalogue No: SCP-HIV-002 BIOMEX (см. Таблица 2) и HIV Seroconversion Panel, Catalogue No: SCP-HIV-005 BIOMEX (45 образцов) (см. Таблица 3).

Таблица 2

Набор		КомбиБест ВИЧ-1,2 АГ/АТ		Информация из паспорта к панели		
				Abbot Architect HIV Ag/Ab combo	Roche Elecsys HIV Ag	Diasorin Murex HIV 1.2.O
		Процедура 1	Процедура 3			
Маркер		АГ+АТ		АГ+АТ	АГ	АТ
№ образца	День забора	Коэффициент позитивности (КП)				
1	0	0,179	0,186	0,66	0,25	0,24
2	5	0,162	0,161	0,13	0,28	0,39
3	11	0,171	0,169	0,13	0,25	0,65

4	16	0,171	0,169	0,14	0,25	0,20
5	32	0,179	0,186	0,17	0,25	0,19
6	42	0,162	0,169	0,15	0,28	0,18
7	48	0,162	0,169	0,12	0,39	0,25
8	54	0,162	0,161	0,15	0,32	0,23
9	61	5,385	7,390	0,77	1,06	0,22
10	63	12,667	14,415	3,40	4,14	0,32
11	69	21,410	27,025	4,20	5,52	8,92
12	71	17,265	22,051	2,84	1,71	1,67
13	76	33,795	33,322	18,00	0,39	4,98
14	78	33,812	33,492	17,19	0,34	8,59
15	83	33,222	33,525	16,73	0,27	8,65
16	85	33,812	33,517	16,60	0,24	8,67
17	92	33,790	33,525	8,60	0,31	8,79
18	97	33,810	33,534	11,01	0,36	8,95
19	99	33,800	33,525	13,83	0,26	9,01
20	106	32,880	33,534	16,89	0,38	8,83

Примечание: HIV Seroconversion Panel, BIOMEX, Германия, Cat. No: SCP-HIV-002 Из 20 образцов плазмы крови, полученных от инфицированного ВИЧ пациента в течение 106 дней, 12 образцов определены как положительные в наборе «КомбиБест ВИЧ-1,2 АГ/АТ».

Таблица 3

Набор		КомбиБест ВИЧ-1,2 АГ/АТ		Информация из паспорта к панели		
		Процедура 1	Процедура 3	Abbot Architect HIV Ag/Ab combo	Roche Elecsys HIV Ag	Diasorin Murex HIV 1.2.O
Маркер		АГ+АТ		АГ+АТ	АГ	АТ
№ образца	День забора	Коэффициент позитивности (КП)				
1	0	0,154	0,153	0,16	0,266	0,19
2	3	0,137	0,136	0,15	0,287	0,19
3	9	0,137	0,136	0,17	0,379	0,18
4	13	3,376	5,254	0,46	0,566	0,24
5	16	33,812	33,525	27,33	35,240	0,76
6	20	19,624	24,788	4,08	5,900	0,26
7	29	33,333	33,525	42,49	17,460	8,95
8	51	33,812	33,525	15,65	0,463	9,02
9	56	33,692	33,483	25,95	0,428	8,91
10	58	33,299	33,042	31,46	0,439	8,79
11	63	32,547	32,907	41,95	0,385	8,83
12	65	33,573	33,297	46,51	0,455	8,91
13	70	33,812	33,525	60,78	0,379	9,00
14	72	33,812	33,517	58,23	0,397	9,16
15	77	33,812	32,966	62,47	0,392	8,96
16	79	33,821	33,449	65,14	0,436	8,94
17	84	33,803	33,331	69,93	0,277	8,95
18	86	33,821	33,051	42,90	0,311	8,73
19	91	33,231	32,254	67,79	0,351	8,77
20	93	33,821	33,525	71,80	0,333	8,81
21	98	33,812	33,517	77,60	0,361	8,86
22	100	33,812	33,525	80,70	0,267	8,86
23	112	33,795	33,508	92,99	0,338	8,69

24	114	33,803	33,508	92,19	0,365	8,67
25	133	33,795	33,305	93,61	0,331	8,74

Примечание: HIV Seroconversion Panel, BIOMEX, Германия, Cat. No: SCP-HIV-005 Из 25 образцов плазмы крови, полученных от инфицированного ВИЧ пациента в течение 133 дней, 22 образца определены как положительные в наборе «КомбиБест ВИЧ-1,2 АГ/АТ».

4.4. Международный стандарт ВОЗ Антитела к ВИЧ (1-ая международная референс-панель, NIBSC code: 02/210) (6 образцов).

Таблица 4

Образец	«КомбиБест ВИЧ-1,2 АГ/АТ»* АО «Вектор-Бест», Россия	
	Процедура 1	Процедура 3
	Коэффициент позитивности (КП)	
Анти-ВИЧ-1, субтип А, группа М	33,795	33,017
Анти-ВИЧ-1, субтип В, группа М	32,521	33,483
Анти-ВИЧ-1, субтип С, группа М	33,786	33,492
Анти-ВИЧ-1, субтип Е, группа М	33,786	33,500
Анти-ВИЧ-1, группа О	33,795	33,508
Анти-ВИЧ-2	32,641	32,280

Примечание: В состав панели входят 6 образцов, содержащих антитела к ВИЧ-1, субтипов А, В, С, Е группы М, антитела к ВИЧ-1 группы О и антитела к ВИЧ-2. Все образцы Международного стандарта ВОЗ Антитела к ВИЧ (1-ая международная референс-панель, NIBSC code: 02/210) определены как положительные в наборе «КомбиБест ВИЧ-1,2 АГ/АТ».

4.5. Диагностическая специфичность:

– при исследовании 750 серонегативных образцов сыворотки (плазмы) крови составила 100% (интервал 99,51%-100% с доверительной вероятностью 95%).

4.6. Аналитическая специфичность:

– при исследовании 460 образцов сыворотки (плазмы) крови пациентов, свободных от ВИЧ-инфекции, но содержащих HBsAg, антитела к другим патогенам: к вирусам гепатитов А, С, Е, вирусам простого герпеса 1 и 2 типа, цитомегаловирусу, к Trichomonas vaginalis, Chlamydia trachomatis, Chlamydophila pneumoniae, Mycoplasma pneumoniae, Mycoplasma hominis, антигену CagA Helicobacter pylori, к вирусу эндемического паротита, вирусу клещевого энцефалита, вирусу SARS-COV-2, а также сыворотки (плазмы) крови беременных женщин и пациентов с антителами к ревматоидному фактору не получено ложноположительных результатов, что свидетельствует об отсутствии кросс-реактивности и высокой специфичности.

4.7. Потенциально интерферирующие вещества:

– эндогенные: гемоглобин в концентрации до 5,0 мг/мл, билирубин в концентрации до 0,2 мг/мл, триглицериды в концентрации до 40 мг/мл, общий белок в концентрации до 120 мг/мл;

– экзогенные: СМОФлипид в концентрации до 40 мг/мл; ацетилсалициловая кислота в концентрации до 1,5 мг/мл; аскорбиновая кислота в концентрации до 0,3 мг/мл; гепарин в концентрации до 6,0

α-интерферон в концентрации до 4000 МЕ/мл; рибавирин в концентрации до 1,8 мг/мл не оказывают влияния на результаты качественного определения антител к ВИЧ-1,2 и антигена ВИЧ-1.

4.8. Воспроизводимость:

— для оценки воспроизводимости были исследованы три положительных образца с разной степенью позитивности.

Воспроизводимость внутри постановки оценивалась по 15 повторам каждого образца.

Воспроизводимость между постановками оценивалась в течение 5 дней, по 3 постановки в день (3 серии различных вариантов комплектации, с интервалом не менее часа, в 3 различных помещениях) с использованием 5 повторов каждого образца. Среднее значение коэффициентов позитивности (КП_{ср}), стандартное отклонение, коэффициенты вариации при оценке воспроизводимости приведены в таблице 5.

Таблица 5

Образцы	Воспроизводимость					
	в пределах постановки n= 15			между постановками n= 75 (5×3×5)		
	КП _{ср}	Стандартное отклонение	Коэффициент вариации, %	КП _{ср}	Стандартное отклонение	Коэффициент вариации, %
анти-ВИЧ-1	17,34	0,472	2,7	18,23	0,947	5,2
анти-ВИЧ-2	8,41	0,327	3,9	9,25	0,546	5,9
антиген p24 ВИЧ-1	4,12	0,203	4,9	4,40	0,327	7,4

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

5.1. Потенциальный риск применения набора – класс 3 (Приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).

5.2. Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом. Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

5.3. Стоп-реагент (содержит кислоту серную), концентрат ТМБ (содержит тетраметилбензидин) обладают раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента, концентрата ТМБ на кожу и слизистые необходимо промыть загрязненный участок большим количеством проточной воды. Некоторые компоненты содержат натрия азид, натрия мертиолят, фенол, ProClin 300 в концентрациях, указанных в п. 3.2. «Состав набора».

Все компоненты, содержащие в своем составе материалы человеческого происхождения, инактивированы прогреванием.

5.4. При работе с исследуемыми и контрольными образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом

5.5. При использовании набора образуются отходы классов А, Б, В, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические

ания к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».

5.6. Дезинфекцию наборов реагентов, посуды и материалов, контактировавших с исследуемыми и контрольными образцами, следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5.7. Противопоказаний к применению медицинского изделия нет.

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

6.1. Для ручной постановки:

- Спектрофотометр, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках планшета при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–655 нм; допускается измерение при одной длине волны – 450 нм;

- термостат, поддерживающий температуру $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$;

- термостатируемый шейкер орбитального типа, позволяющий проводить встряхивание при 700 об/мин и температуре $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$;

- промывочное устройство для планшетов;

- холодильник бытовой;

- дозаторы одноканальные и многоканальные со сменными наконечниками;

- перчатки медицинские диагностические одноразовые;

- цилиндр мерный вместимостью 5000 мл;

- вода дистиллированная;

- дезинфицирующие средства.

- бумага фильтровальная лабораторная.

6.2. Для постановки с использованием автоматического ИФА-анализатора открытого типа:

- автоматический ИФА-анализатор открытого типа (например, анализатор иммуноферментный автоматический «Лазурит» (LAZURITE) с принадлежностями РУ № ФСЗ 2009/03660 от 07.04.2009);

- холодильник бытовой;

- дозаторы одноканальные со сменными наконечниками;

- перчатки медицинские диагностические одноразовые;

- цилиндр мерный вместимостью 5000 мл;

- вода дистиллированная;

- дезинфицирующие средства.

7. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

7.1. Требования к условиям и процедурам ведения преаналитического этапа клинических лабора-

исследований с целью исключения или ограничения влияния эндогенных, экзогенных, ятрогенных и иных факторов, мешающих правильному отражению состояния внутренней среды обследуемых пациентов в результатах клинических лабораторных исследований изложены в ГОСТ Р 53079.4–2008 «Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа».

Взятие, транспортирование и хранение исследуемого материала осуществляется согласно МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории», утвержденным Роспотребнадзором и Рекомендациям «Организация преаналитического этапа при централизации лабораторных исследований», одобренным профильной комиссией Минздрава России по клинической лабораторной диагностике 30.05.2013.

7.2. Для анализа использовать образцы сыворотки, плазмы (полученной с использованием в качестве антикоагулянтов гепарина, цитрата натрия, К2-ЭДТА или К3-ЭДТА) крови человека.

7.3. Образцы сыворотки (плазмы) крови следует хранить при температуре (2–8) °С до 7 суток или при температуре минус 18 °С и ниже, если требуется более длительное хранение. Допускается однократное замораживание. После размораживания образцы следует тщательно перемешать.

7.4. Образцы сыворотки (плазмы) крови, содержащие взвешенные частицы, необходимо очистить центрифугированием.

7.5. Объем образца должен быть достаточным для проведения иммуноферментного анализа с учетом «мертвого» объема иммуноферментного анализатора.

8. ПОДГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

8.1. **Внимание!** *Тщательное соблюдение описанных ниже требований позволит избежать искажения результатов ИФА.*

– Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать при температуре (18–26) °С не менее 30 минут.

– При дробном использовании набора после отбора необходимого количества компонентов флаконы с растворами необходимо плотно закрыть, а оставшиеся стрипы сразу упаковать в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух и плотно закрыть замок. Хранить при температуре (2–8) °С, использовать в течение всего срока годности набора.

– Допускается хранение ФСБ-Т×25 и стоп-реагента при температуре (2–30) °С.

– Необходимо избегать воздействия прямого солнечного света на раствор ТМБ при подготовке и проведении ИФА.

– При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (ФСБ-Т×25; ТМБ, концентрат; СБР; стоп-реагент), которые взаимозаменяемы в наборах АО «Вектор-Бест».

– Нельзя использовать реагенты из наборов других фирм-производителей.

– При приготовлении растворов и проведении ИФА следует использовать одноразовые наконеч-

для дозаторов.

– При использовании устройства для промывки планшетов необходимо следить за чистотой ёмкости для промывочного раствора и соединительных шлангов: в них не должно быть микробной контаминации. Для предотвращения засорения игл промывочного устройства в конце рабочего дня обязательно следует выполнить процедуру ополаскивания системы подачи жидкости дистиллированной водой. Один раз в неделю необходимо производить замачивание всей системы промывочного устройства в 70% спирте или в другом растворе, рекомендованном инструкцией к прибору.

– Для дезинфекции посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, рекомендуется использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС (четвертичных аммониевых соединений), спиртов, третичных аминов.

– В случае повторного использования посуды (ванночки) для конъюгата необходимо промыть проточной водой и тщательно ополоснуть дистиллированной водой; посуду (ванночки) для раствора ТМБ ополоснуть водой, промыть 70 % этиловым спиртом и тщательно отмыть дистиллированной водой. Нельзя обрабатывать посуду (ванночки) дезинфицирующими растворами и моющими средствами.

– Дозаторы и рабочие поверхности обрабатывать только 70% раствором этилового спирта. Не использовать перекись водорода, хлорамин.

8.2. Подготовка планшета.

Вскрыть пакет с планшетом выше замка. Оставить на рамке необходимое для проведения анализа количество стрипов.

8.3. Приготовление промывочного раствора.

Перемешать содержимое флакона с ФСБ-Т×25. При выпадении в концентрате осадка солей необходимо прогреть его при температуре (30–40) °С до полного растворения осадка.

В соответствии с числом используемых стрипов внести в мерный цилиндр необходимое количество ФСБ-Т×25 (см. Таблица 6) и довести дистиллированной водой до соответствующего объема или содержимое 1 флакона 28,0 мл – до 700 мл, 100,0 мл – до 2,5 л. Тщательно перемешать.

Хранение: промывочный раствор хранить при температуре (2–8) °С не более 30 суток или при температуре (18–26) °С не более 7 суток.

8.4. Приготовление растворов конъюгата №1 и конъюгата №2 в рабочем разведении.

8.4.1. Приготовить концентрированный раствор конъюгата №1 путем растворения содержимого флакона с конъюгатом №1 в 1,0 мл РПР.

Приготовить концентрированный раствор конъюгата №2 путем растворения содержимого флакона с конъюгатом №2 в 1,0 мл РПР.

Хранение: концентрированные растворы конъюгатов №1 и №2 хранить не более 1 месяца при температуре (2–8) °С. В случае более длительного хранения – при минус (18–40) °С, допускается 5-кратное замораживание.

8.4.2. В ванночку для реагентов отобрать необходимое количество концентрированного раствора конъюгата № 1 (см. Таблица 6), добавить соответствующее количество РК №1, тщательно перемешать пипетированием. В другую ванночку отобрать необходимое количество концентрированного раствора конъюгата № 2 (см. Таблица 6), добавить соответствующее количество РК №2, тщательно перемешать пипетированием.

Хранение: растворы конъюгатов №1 и №2 в рабочем разведении стабильны до 10 ч при температуре (18-26) °С.

Таблица 6. Расход реагентов на 1 планшет

	Количество используемых стрипов											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Промывочный раствор.												
ФСБ-Тх25, мл	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24
Дистиллированная вода, мл	до 50	до 100	до 150	до 200	до 250	до 300	до 350	до 400	до 450	до 500	до 550	до 600
Раствор конъюгата № 1 в рабочем разведении.												
Концентрированный раствор конъюгата № 1, мкл	k_1*	$2 \times k_1$	$3 \times k_1$	$4 \times k_1$	$5 \times k_1$	$6 \times k_1$	$7 \times k_1$	$8 \times k_1$	$9 \times k_1$	$10 \times k_1$	$11 \times k_1$	$12 \times k_1$
РК № 1, 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
Раствор конъюгата № 2 в рабочем разведении.												
Концентрированный раствор конъюгата № 2, мкл	k_2*	$2 \times k_2$	$3 \times k_2$	$4 \times k_2$	$5 \times k_2$	$6 \times k_2$	$7 \times k_2$	$8 \times k_2$	$9 \times k_2$	$10 \times k_2$	$11 \times k_2$	$12 \times k_2$
РК № 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
Раствор ТМБ в рабочем разведении.												
ТМБ, концентрат, мкл	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500	550	600
СБР, 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

$k_1 = \dots \dots \dots$ мкл $k_2 = \dots \dots \dots$ мкл

Значения коэффициентов k_1 и k_2 указаны в инструкции и в паспорте на данную серию наборов.

8.5. Приготовление раствора ТМБ в рабочем разведении.

В соответствии с числом используемых стрипов в ванночку для реагентов внести необходимое количество (см. таблицу расхода реагентов) концентрата ТМБ, добавить соответствующее количество СБР, перемешать пипетированием. Или внести 650 мкл/1,0 мл концентрата ТМБ во флакон с СБР, содержащий 13,0 мл/20,0 мл, соответственно.

Хранение: раствор ТМБ в рабочем разведении стабилен до 10 ч в защищенном от прямого солнечного света месте при температуре (18-26) °С.

8.6. Контрольные образцы: $K1^+$, $K2^+$ и K^- ; стоп-реагент готовы к использованию.

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

9.1. Ручная постановка.

9.1.1. В одну лунку внести 70 мкл $K1^+$, в одну лунку – 70 мкл $K2^+$, в две лунки – по 70 мкл K^- , в

ные лунки – по 70 мкл цельных тестируемых образцов сывороток (плазмы) крови.

Контроли должны быть использованы в каждой постановке, на каждом планшете при использовании в постановке нескольких планшет.

Время внесения образцов не должно превышать 20 мин.

9.1.2. Во все лунки внести по 70 мкл конъюгата №1 в рабочем разведении.

9.1.3. Планшет заклеить пленкой и инкубировать, используя по выбору какую-либо из следующих процедур:

- 60 мин в термостате при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ (процедура 1);
- 40 мин в термошейкере при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ и 700 об/мин (процедура 2);
- 60 мин в термошейкере при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ и 700 об/мин (процедура 3).

9.1.4. По окончании инкубации промыть лунки планшета 5 раз промывочным раствором (см. п. 7.2.), чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок планшета. В каждую лунку вносить 400 мкл жидкости в процессе каждого цикла промывки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого их заполнения. По окончании промывки необходимо использовать перекрестную аспирацию жидкости из лунок (режим «crosswise» или «cross aspiration») или тщательно удалить влагу из лунок, постукивая перевернутым планшетом по фильтровальной бумаге.

9.1.5. Во все лунки внести по 110 мкл конъюгата №2 в рабочем разведении.

9.1.6. Планшет заклеить пленкой и инкубировать:

- 30 мин в термостате при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ (процедура 1);
- 25 мин в термошейкере при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ и 700 об/мин (процедура 2);
- 30 мин в термошейкере при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ и 700 об/мин (процедура 3).

9.1.7. По окончании инкубации промыть лунки 5 раз промывочным раствором (см. п. 9.1.4).

9.1.8. Во все лунки внести по 100 мкл раствора ТМБ в рабочем разведении.

9.1.9. Планшет инкубировать при температуре $(18-37)^\circ\text{C}$ в защищённом от прямого солнечного света месте 30 минут.

9.1.10. Остановить реакцию добавлением в лунки по 100 мкл стоп-реагента.

9.1.11. Измерить оптическую плотность (ОП) растворов в лунках на спектрофотометре в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс фильтр – в диапазоне 620–655 нм. Допускается регистрация результатов только с фильтром 450 нм. Время между остановкой реакции и измерением ОП не должно превышать 10 минут.

9.2. Постановка в автоматическом ИФА-анализаторе открытого типа.

9.2.1. Подготовить ИФА-анализатор к работе в соответствии с инструкцией по эксплуатации.

9.2.2. Ввести в программу ИФА-анализатора протокол выполнения анализа (п.п. 9.1.1–9.1.11.), если он не был введен и сохранен ранее. Использовать *процедуру 2 или процедуру 3*.

Примечание: возможна опция спектрофотометрического контроля внесения в лунки планшета:

- исследуемых образцов – при длине волны 450 нм оптическая плотность в каждой из лунок, содержащих исследуемые образцы, должна быть больше 0,100;
- рабочего раствора конъюгата №1 – при длине волны 620 нм оптическая плотность в каждой лунке внесенным раствором должна быть больше 0,300;
- рабочего раствора конъюгата №2 – при длине волны 450 нм оптическая плотность в каждой из лунок с внесенным раствором должна быть больше 0,500.

9.2.3. Приготовить промывочный раствор (п. 8.3.), растворы конъюгатов (п. 8.4.) и ТМБ (п. 8.5.) в рабочих разведениях. При подготовке компонентов необходимо учитывать «мертвый» объем флаконов или емкостей, используемых для загрузки реагентов в ИФА-анализатор.

9.2.4. В соответствии с инструкцией по эксплуатации ИФА-анализатора поместить в него промывочный раствор, планшет, контрольные и исследуемые образцы; емкости с компонентами набора.

Инкубация планшет в автоматических ИФА-анализаторах проводится без заклеивания пленкой.

9.2.5. Запустить протокол анализа в соответствии с инструкцией по эксплуатации автоматического ИФА-анализатора.

10. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

10.1. Результаты исследований учитывать только при соблюдении следующих условий:

- среднее значение ОП в лунках с K^- не более 0,15;
- значения ОП в лунках с $K1^+$ и $K2^+$ не менее 1,5.

Исследуемый образец расценивать как положительный, если соответствующее ему значение ОП превышает или равно величине $ОП_{крт.}$, которую вычисляют по формуле:

$$ОП_{крт.} = ОП_{ср. K^-} + 0,1,$$

где: $ОП_{ср. K^-}$ – среднее значение ОП для K^- .

Исследуемый образец расценивать как отрицательный, если соответствующее ему значение ОП менее величины $ОП_{крт.}$.

Если ОП K^- и $ОП_{иссл.обр.}$ имеют отрицательные значения, при расчёте $ОП_{крт.}$ и анализе результатов, считать их равными нулю.

Для оценки степени позитивности положительных образцов может быть рассчитан коэффициент позитивности (КП) по формуле:

$$КП = ОП_{обр.} / ОП_{крт.}$$

11. ОГРАНИЧЕНИЯ ТЕСТА

11.1. Для достижения заявленных характеристик теста необходимо строгое соблюдение инструкции.

11.2. Применение теста строго ограничено обнаружением антител к ВИЧ-1,2 и антигена р24 ВИЧ-1 в сыворотке или плазме крови человека. Характеристики теста в отношении проб другой природы не установлены.

11.3. Антитела к ВИЧ-1,2 и/или антиген р24 ВИЧ-1 могут быть обнаружены в сыворотке, плазме

человека у подавляющего большинства пациентов с ВИЧ-инфекцией, однако результаты теста могут быть отрицательными на ранней стадии инфекции, когда содержание антигена р24 и антител к ВИЧ-1,2 ниже определяемого набором уровня.

11.4. Положительный результат теста должен быть подтвержден согласно диагностическому алгоритму в подтверждающих тестах (иммунный, линейный блот, определение РНК/ДНК ВИЧ молекулярно-биологическими методами). Для диагностики ВИЧ-инфекции у детей в возрасте до 18 месяцев, рожденных ВИЧ-инфицированными матерями, в связи с наличием материнских антител используют методы выявления ДНК/РНК ВИЧ.

Диагноз ВИЧ-инфекции устанавливается врачом-инфекционистом Центра по профилактике и борьбе со СПИД или иной уполномоченной специализированной медицинской организации путём комплексной оценки эпидемиологических данных, результатов клинического обследования и лабораторных исследований.

11.5. Возможны различия в определении наличия антител к ВИЧ-1,2 и антигена р24 ВИЧ-1 в наборах реагентов разных производителей, что связано с различиями в используемых антигенах и антителах в составе наборов, разнообразием иммунологических реакций, возникающих у пациентов.

11.6. Отрицательный результат тестирования не исключает возможность наличия ВИЧ-инфекции.

12. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

12.1. Транспортировать изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, при температуре (2-8) °С. Допускается транспортирование при температуре до 26 °С не более 10 суток.

12.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре (2-8) °С в течение всего срока годности в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

12.3. Срок годности набора – 18 месяцев со дня выпуска. Не допускается применение набора по истечении срока его годности.

12.4. Для получения надёжных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

12.5. Набор предназначен для однократного применения.

12.6. Изделие не требует технического обслуживания и не подлежит ремонту.

12.7. Изделие нестерильно и не требует стерилизации.

13. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

13.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

13.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих

либо непреодолимой силы.

13.3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

14. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Клинические рекомендации «ВИЧ-инфекция у взрослых» (утв. Минздравом России) 2020.
2. Клинические рекомендации «ВИЧ-инфекция у детей» (утв. Минздравом России) 2020.
3. Бартлетт Дж, Галлант Дж, Фам П. Клинические аспекты ВИЧ-инфекции. 2012. — М.: Р.Валент, 2012. — стр. 528.
4. Tebit DM, Arts EJ. Tracking a century of global expansion and evolution of HIV to drive understanding and to combat disease. *Lancet Infect Dis*. 2011; 11(1):45-56. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(10\)70186-9](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(10)70186-9)
5. Gray ER, Bain R, Varsaneux O, et al. p24 revisited: a landscape review of antigen detection for early HIV diagnosis. *AIDS* 2018; 32 (15): 2089–2102. [doi: 10.1097/QAD.0000000000001982](https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000001982).
6. Fiebig EW, Wright DJ, Rawal BD, et al. Dynamics of HIV viremia and antibody seroconversion in plasma donors: implications for diagnosis and staging of primary HIV infection. *AIDS* 2003;17(13):1871-1879. [doi: 10.1097/00002030-200309050-00005](https://doi.org/10.1097/00002030-200309050-00005).
7. Постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 28.01.2021 №4 «Об утверждении санитарных правил и норм СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней»».
8. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 20.10.2020 № 1129н «Об утверждении Правил проведения обязательного медицинского освидетельствования на выявление вируса иммунодефицита человека (ВИЧ-инфекции)».
9. Alexander TS. Human immunodeficiency virus diagnostic testing: 30 years of evolution. *Clin Vaccine Immunol*. 2016 23(4):249–253. <https://doi.org/10.1128/CVI.00053-16>
10. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 28.10.2020 № 1166н «Об утверждении порядка прохождения донорами медицинского обследования и перечня медицинских противопоказаний (временных и постоянных) для сдачи крови и (или) ее компонентов и сроков отвода, которому подлежит лицо при наличии временных медицинских показаний, от донорства крови и (или) ее компонентов».

По вопросам, касающимся качества набора «КомбиБест ВИЧ-1,2 АГ/АТ», обращаться в АО «Вектор-Бест» по адресу:

630117, г. Новосибирск-117, а/я 492,

тел.: (383) 252-51-62, 227-60-30.

тел./факс: (383) 252-51-81, 252-51-77.

E-mail: plkobtk@vector-best.ru

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 227-60-34.

КРАТКАЯ СХЕМА АНАЛИИЗА **Набор реагентов «КомбиБест ВИЧ-1, 2 АГ/АТ»**

Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!

- Внести:** по 70 мкл K1⁺, K2⁺, K⁻, исследуемых образцов
- Внести:** по 70 мкл конъюгата №1 в рабочем разведении
- Инкубировать:** процедура 1 - термостат, 60 мин, (37±1) °С или
 процедура 2 - термошейкер, 40 мин, (37±1) °С, 700 об/мин или
 процедура 3 - термошейкер, 60 мин, (37±1) °С, 700 об/мин
- Промыть:** промывочным раствором, 400 мкл, 5 раз
- Внести:** по 110 мкл конъюгата №2 в рабочем разведении
- Инкубировать:** процедура 1- термостат, 30 мин, (37±1) °С или
 процедура 2- термошейкер, 25 мин, (37±1) °С, 700 об/мин или
 процедура 3- термошейкер, 30 мин, (37±1) °С, 700 об/мин
- Промыть:** промывочным раствором, 400 мкл, 5 раз
- Внести:** по 100 мкл раствора ТМБ в рабочем разведении
- Инкубировать:** 30 мин, (18–37) °С, в темноте
- Внести:** по 100 мкл стоп-реагента
- Измерить:** ОП при 450 нм / референсная длина волны 620–655 нм

ГРАФИЧЕСКИЕ СИМВОЛЫ

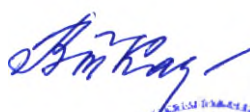
Символ	Описание	Символ	Описание
	Номер по каталогу		Осторожно!
	Содержимого достаточно для проведения n тестов		Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Код партии		Предел температуры
	Изготовитель		Дата изготовления
	Использовать до		Обратитесь к инструкции по применению
YYYY-MM-DD YYYY-MM	Дата в формате: Год-Месяц-День Год-Месяц		Не допускать воздействия солнечного света

Нач. отделения ИФА СПИД
 АО «Вектор-Бест»



И.А. Костюкова

Директор по производству
 АО «Вектор-Бест»



В.К. Ткачев

«СОГЛАСОВАНО»

Проректор по научной работе
 ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России

М.П.



Т.И. Поспелова



Пропиновано, пронумеровано и
скреплено печатью 16 листов

Отв. за учет договоров ГИР ФГБОУ ВО НГМУ
Минздрава России

Захарова Л.И.

“ 14 ” сентября 202 3 г.

