

«СОГЛАСОВАНО»

Генеральный директор
ООО «ВИМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичус П.К.
«08» 04 2024 г.



«УТВЕРЖДАЮ»

Исполнительный директор
ООО «ХЕМА»
Кострикина Е.С.
«08» 04 2024 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению Набора реагентов для иммуноферментного выявления антител
к вирусу иммунодефицита человека I (0), II типов {ВИЧ I (0), II} и
антигена p24 ВИЧ I в сыворотке (плазме) крови
«антиВИЧ I(0), II/p24-ИФА»

1. ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ.

1.1. Сведения о назначении:

а) Набор реагентов для иммуноферментного выявления антител к вирусу иммунодефицита человека I (0), II типов {ВИЧ I (0), II} и антигена p24 ВИЧ I в сыворотке (плазме) крови «антиВИЧ I(0), II/p24-ИФА» предназначен для качественного одновременного выявления антител к вирусу иммунодефицита человека I и II типов (ВИЧ I, II) ВИЧ I группы 0 и антигена p24 ВИЧ I в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

б) Функциональное назначение.

Одновременное выявление антител к вирусам иммунодефицита человека I и II типов (ВИЧ I, II) ВИЧ I группы 0 и антигена p24 ВИЧ-I в сыворотке (плазме) крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа в клинической практике используется для диагностики ВИЧ - инфекции.

в) Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) относят к семейству ретровирусов (*Retroviridae*), роду лентивирусов (*Lentivirus*). Название *lentivirus* происходит от латинского *lente*– медленный. Такое название отражает одну из особенностей вирусов этой группы, а именно – медленную и неодинаковую скорость развития инфекционного процесса в макроорганизме. Для лентивирусов также характерен длительный инкубационный период. После заражения ВИЧ хронологическая последовательность появления в сыворотке (плазме) специфических маркеров, идентифицирующих инфекцию, является следующей: вирусная РНК, антиген p24 и антитела против ВИЧ. Точный момент времени, когда могут быть выявлены вирусная РНК, антиген p24 или антитела, зависит от нескольких факторов: методики исследования, индивидуального ответа организма и т.д. Вирусная РНК может выявляться с помощью метода ПЦР в самой начальной стадии заболевания, антиген p24 –уже через 2 недели после заражения и оставаться в количественных концентрациях течение 3–5 мес. Методы нового поколения для выявления специфических антител к ВИЧ позволяют получить надежный результат у большинства инфицированных приблизительно через 3-4 недели после инвазии (серологически латентный период, когда наличие ВИЧ-инфекции невозможно выявить с помощью анализов на антитела). Методы, выявляющие антиген p24, сокращают этот период на 1–2 недели. Выявление ВИЧ инфекции на ранней стадии позволяет в ранние сроки начать специфическую терапию, консультирование и своевременно начать противоэпидемические мероприятия.

г) В качестве анализируемого образца используется сыворотка, плазма с цитратом натрия, ЭДТА или гепарином.

д) Применение Набора не зависит от популяционных и демографических аспектов.

1.2. Набор предназначен для диагностики *in vitro*.

1.3. Область применения – клиническая лабораторная диагностика.

2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

2.1. Набор реагентов «антиВИЧ I(0), II/p24-ИФА» выпускается в 3 комплектах:

Комплект 1: рассчитан на 96 определений.

Комплект 2: рассчитан на 192 (96x2) определения.

Комплект 3: рассчитан на 480 (96x5) определений.

2.2. Состав набора, описание компонентов:

Состав				Описание, готовность компонентов
Наименование компонента	Количество x объем			
	96 анализов	192 анализа	480 анализов	
Планшет	1 шт	2 шт	5 шт	96-луночный стрипированный, в лунках которого иммобилизованы: рекомбинантные антигены ВИЧ I (группа M) gp41, gp120, gp160, ВИЧ I (группа 0) gp41, рекомбинантный антиген gp36 ВИЧ II и моноклональные антитела к антигену p24 ВИЧ I, готов к использованию.
Отрицательная контрольная сыворотка	1 x 3,0 мл	1 x 3,0 мл	1 x 6,0 мл	инактивирована, на основе сыворотки крови человека, не содержащая антиген p24 ВИЧ I и антитела к ВИЧ I (0), II, – флакон с прозрачной бесцветной жидкостью, готова к использованию
Положительная контрольная сыворотка Ab+	1 x 1,0 мл	1 x 1,0 мл	1 x 2,0 мл	инактивирована, на основе сыворотки крови человека, содержащая специфические антитела к ВИЧ I (0), II, флаконы с прозрачной окрашенной жидкостью (цвет компонента указан в паспорте контроля качества), готова к использованию.
Положительная контрольная сыворотка Ag+	1 x 1,0 мл	1 x 1,0 мл	1 x 2,0 мл или 2 x 1,0 мл	инактивирована, на основе сыворотки крови человека, содержащая высокоочищенный рекомбинантный антиген p24 ВИЧ I, флакон(ы) с прозрачной окрашенной или лиофилизированной жидкостью (цвет компонента указан в паспорте контроля качества)
Конъюгат А	1 x 4,0 мл	1 x 6,5 мл	1 x 20 мл	флакон с прозрачной окрашенной жидкостью (цвет компонента указан в паспорте контроля качества), готов к использованию.
Концентрат конъюгата В	1 x 1,2 мл	1 x 2,5 мл	1 x 6,0 мл	флакон с прозрачной бесцветной жидкостью, 11-кратный концентрат.
Буфер для разведения концентрата конъюгата В	1 x 12 мл	1 x 30 мл	2 x 30 мл	флакон с прозрачной окрашенной жидкостью (цвет компонента указан в паспорте контроля качества), готов к использованию.
Субстратный раствор тетраметилбензидина (ТМБ)	1 x 14 мл	1 x 30 мл	2 x 30 мл	флакон с прозрачной бесцветной жидкостью, готов к использованию.
Концентрат отмывочного раствора	1 x 50 мл	1 x 100 мл	1 x 250 мл	флакон с прозрачной бесцветной жидкостью, 26-кратный концентрат.
Стоп-реагент	1 x 14 мл	1 x 30 мл	2 x 30 мл	флакон с прозрачной бесцветной жидкостью, готов к использованию.
Бумага для заклеивания планшета	2 шт	4 шт	10 шт	прозрачная лента с липкой поверхностью с одной стороны и бумажной подложкой.
Ванночка	-	4 шт	10 шт	Изделия полимерные для медицинских лабораторий по ТУ 32.50.50-001-01813981-2018: Ванночка для реагентов (для многоканальных пипеток-дозаторов) вместимостью 30 мл, РУ 2019/8202, готова к использованию
Наконечник	-	16 шт	40 шт	Наконечник универсальный для пипеточных дозаторов по ТУ 32.50.50-002-72241324-2018: Наконечник объемом до 250 мкл универсальный, РУ 2019/9159, готов к использованию

Состав				Описание, готовность компонентов
Наименование компонента	Количество x объем			
	96 анализов	192 анализа	480 анализов	
Инструкция по применению	1 шт	1 шт	1 шт	-
Паспорт контроля качества (аналитический паспорт)	1 шт	1 шт	1 шт	-

2.2. Принцип работы Набора.

Выявление антител к вирусам иммунодефицита человека I и II типов (ВИЧ I, II) ВИЧ I группы 0 и антигена p24 ВИЧ I основано на использовании «сэндвич» - варианта твердофазного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы: рекомбинантные антигены ВИЧ I (группа M) gp41, gp120, gp160, ВИЧ I (группа 0) gp41, рекомбинантный антиген gp36 ВИЧ II и моноклональные антитела к антигену p24 ВИЧ I. В лунки планшета добавляется смесь высокоочищенных рекомбинантных антигенов gp41, gp36, gp120, gp160 и моноклональные антитела к антигену p24 ВИЧ I, конъюгированные с биотином (конъюгат А), контрольные сыворотки и исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови.

Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата стрептавидина с пероксидазой хрена (конъюгат В). В результате образуется связанный с пластиком «сэндвич», содержащий пероксидазу. Во время инкубации с субстратным раствором тетраметилбензидина (ТМБ) происходит окрашивание растворов в лунках. Интенсивность окраски прямо пропорциональна содержанию специфических антител к вирусам иммунодефицита человека I и II типов (ВИЧ I, II) ВИЧ I группы 0 и антигена p24 ВИЧ I.

Содержание антител к вирусам иммунодефицита человека I и II типов (ВИЧ I, II) ВИЧ I группы 0 и антигена p24 ВИЧ I в исследуемых образцах сыворотки (плазмы) крови рассчитывается по формуле, приведенной в Инструкции по применению.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Аналитическая чувствительность по антигену p24 ВИЧ-1.

3.1.1. При проверке на панели сывороток, содержащих антиген p24 ВИЧ I в различных концентрациях «АГ(+) ВИЧ-1 p24» (ЗАО «Медико-Биологический Союз», Россия, кат. № IPS-10-1, ОСО 42-28375-05, зарегистрирован в РФ, РУ № ФСР 2007/00953) аналитическая чувствительность Набора реагентов «антиВИЧ I(0), II/p24-ИФА» не превышает 5,0 пг/мл.

Допускается альтернативная инкубация в термостате при +37°C без встряхивания {аналитическая чувствительность (p24 ВИЧ I) не превышает 10,0 пг/мл}.

3.1.2. При проверке с использованием Международного стандарта Всемирной организации здравоохранения (WHO) 1-го международного стандарта ВОЗ по антигену ВИЧ-1 p24 (*WHO International Standard 1st WHO International Standard for HIV-1 p24 Antigen NIBSC code: 22/230*), аналитическая чувствительность Набора реагентов «антиВИЧ I(0), II/p24-ИФА» не превышает 0,325 МЕ/мл, с использованием альтернативной инкубации не превышает 0,65 МЕ/мл.



3.2. Чувствительность. Набор реагентов «антиВИЧ I(0), II/p24-ИФА»:

- При проверке на стандартной панели предприятия {СПП № 112SS «Сыворотки крови человека, содержащие специфические антитела к вирусам иммунодефицита человека I и II типов (ВИЧ I, II) ВИЧ I группы 0 и антиген p24 ВИЧ I для проверки диагностической чувствительности», утвержденной генеральным директором ООО «ХЕМА» 11.01.2010 г., ООО «ХЕМА», Россия}, состоящей из 1800 нативных образцов сыворотки и плазмы крови человека, достоверно содержащих специфические антитела к вирусам иммунодефицита человека I и II типов (ВИЧ I, II) ВИЧ I группы 0 и/или антиген p24 ВИЧ I, диагностическая чувствительность Набора реагентов «антиВИЧ I(0), II/p24-ИФА» составляет 100%.

- При проверке на контрольной панели сывороток, содержащих и не содержащих антитела к ВИЧ I, II «Контроль АТ(+/-) ВИЧ-1,2» (ЗАО «Медико-Биологический Союз», Россия, кат. № IBS-8, зарегистрирован в РФ, РУ № ФСР 2007/00953) диагностическая чувствительность Набора реагентов «антиВИЧ I(0), II/p24-ИФА» составляет 100%.

- При проверке на стандартной панели сывороток, содержащих антитела к ВИЧ II в различных концентрациях «Стандарт АТ(+) ВИЧ-2» (ЗАО «Медико-Биологический Союз», Россия, кат. № IBS-8-2, ОСО 42-28-216-02, зарегистрирован в РФ, РУ № ФСР 2007/00953) диагностическая чувствительность Набора реагентов «антиВИЧ I(0), II/p24-ИФА», составляет 100%.

3.3. Специфичность. Набор реагентов «антиВИЧ I(0), II/p24-ИФА»:

- При проверке на стандартной панели предприятия {СПП № 112SP «Сыворотки крови человека, не содержащие специфические антитела к вирусам иммунодефицита человека I и II типов (ВИЧ I, II) ВИЧ I группы 0 и антиген p24 ВИЧ I для проверки диагностической специфичности», утвержденной генеральным директором ООО «ХЕМА» 11.01.2010г., ООО «ХЕМА», Россия}, состоящей из 1800 нативных образцов сыворотки и плазмы крови человека, достоверно не содержащих специфические антитела к вирусам иммунодефицита человека I и II типов (ВИЧ I, II) ВИЧ I группы 0 и антиген p24 ВИЧ I, диагностическая специфичность Набора реагентов «антиВИЧ I(0), II/p24-ИФА» составляет 100%.

- При проверке на стандартной панели сывороток, не содержащих антитела к ВИЧ I, II и антигену p24 ВИЧ I «Стандарт АТ(-) ВИЧ» (ЗАО «Медико-Биологический Союз», Россия, кат. № INS-20, ОСО 42-28-214-02П, зарегистрирован в РФ, РУ № ФСР 2007/00953) диагностическая специфичность Набора реагентов «антиВИЧ I(0), II/p24-ИФА» составляет 100%.

- При проверке на контрольной панели сывороток, содержащих и не содержащих антитела к ВИЧ I, II «Контроль АТ(+/-) ВИЧ-1,2» (ЗАО «Медико-Биологический Союз», Россия, кат. № IBS-8, зарегистрирован в РФ, РУ № ФСР 2007/00953) диагностическая специфичность Набора реагентов «антиВИЧ I(0), II/p24-ИФА» составляет 100%.

3.4. Воспроизводимость.

- Внутрисерийный коэффициент вариации результатов выявления антител к вирусам иммунодефицита человека I и II типов (ВИЧ I, II) ВИЧ I группы 0 и антигена p24 ВИЧ I в

и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора реагентов «антиВИЧ I(0), II/p24-ИФА» не превышает 6,0%;

- Межсерийный коэффициент вариации результатов выявления антител к вирусам иммунодефицита человека I и II типов (ВИЧ I, II) ВИЧ I группы 0 и антигена p24 ВИЧ I в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора реагентов «антиВИЧ I(0), II/p24-ИФА» не превышает 7,0%.

3.5. Интерференция.

Изучение образцов плазмы с различными антикоагулянтами показало, что такие антикоагулянты как ЭДТА, гепарин и цитрат натрия не приводят к матричному эффекту.

3.6. Клинические исследования.

Диагностическая чувствительность: клинические испытания, проведенные на 2072 положительных образцах сывороток и плазм крови от 623 пациентов с подтвержденным диагнозом «ВИЧ-инфекция», показали 100% чувствительность (1940/1940 интервал 99,0-100% с доверительной вероятностью 95%. Оценочная чувствительность 99,5%).

Диагностическая специфичность: клинические испытания, проведенные на 2072 отрицательных образцах сывороток и плазм крови от 593 условно здоровых пациентов и пациентов с острыми инфекционными процессами, показали 100% специфичность (1900/1900 интервал 99,0-100% с доверительной вероятностью 95%. Оценочная специфичность 99,5%).

4. МЕРЫ БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ НАБОРА

4.1. Потенциальный риск применения Набора – класс 3.

4.2. Образцы сыворотки крови человека, используемые при приготовлении положительной контрольной сыворотки Ag+, положительной контрольной сыворотки Ab+ и отрицательной контрольной сыворотки, инаktivированы и не содержат антитела к вирусу гепатита С, антиген вируса гепатита В (HBsAg).

4.3. Набор предназначен только для профессионального использования.

4.4. Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

4.5. ВНИМАНИЕ! Использовать строго согласно инструкции по применению.

4.6. Все образцы, полученные для лабораторного исследования, следует считать потенциально инфицированными, и при работе с ними должны учитываться требования СанПиН 3.3686-21 "Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней", СанПиН 2.1.3684-21 "Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению населения, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий".

4.7. Работу следует проводить в специально оборудованном помещении лаборатории, отвечающей требованиям Постановлению главного санитарного врача от 28 января 2021 г. N4 «Об утверждении санитарных правил и норм СанПиНом 3.3686-21 "санитарно-эпидемиологические

ования по профилактике инфекционных болезней». При работе с набором требуется соблюдать «Инструкцию по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР 17 января 1991 года; ГОСТ Р 52905 (ИСО 15190:2003) «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

4.8. Лабораторное оборудование, в том числе пипетки, штативы, лабораторная посуда, халаты, головные уборы, а также растворы реагентов должны быть строго стационарными. Запрещается их перемещение из одного помещения в другое. Лабораторное оборудование и принадлежности, которые используются при работе с Набором, должны быть соответствующим образом маркированы и храниться отдельно.

4.9. Использовать и менять при каждой операции одноразовые наконечники для автоматических или механических дозаторов с фильтром. Одноразовые пластиковые материалы (пробирки, наконечники) необходимо сбрасывать в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующий раствор с последующей утилизацией (см. МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения»).

4.10. Убирать и дезинфицировать разлитые образцы, используя дезинфицирующие средства в соответствии с СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

4.11. Инструменты, оборудование, а также рабочие поверхности столов необходимо протирать 70% раствором этилового спирта.

4.12. Не использовать по истечении срока годности. Не использовать, если упаковка повреждена. Перед применением убедиться в целостности компонентов Набора.

4.13. На результаты анализа с использованием Набора реагентов могут влиять такие факторы, как неточность выполнения анализа или отступление от инструкции.

4.14. Набор «антиВИЧ I(0), II/ p24-ИФА» не содержит лекарственных средств. Материалы животного и (или) человеческого происхождения входящие в состав Набора «антиВИЧ I(0), II/ p24-ИФА» являются безопасными - не являются канцерогенными, мутагенными или токсичными, возможное выделение или вымывание которых приводит к сенсibilизации, аллергической реакции или отрицательно влияет на репродуктивную функцию.

4.15. При использовании согласно инструкции по применению изделие является безопасным (не несет физических, экологических и иных рисков).

4.16. Показания к применению медицинского изделия: применять в соответствии с назначением.

4.17. Противопоказания к применению медицинского изделия: противопоказаний в рамках установленного назначения не имеет. Не применять не по назначению.

5. ОБОРУДОВАНИЕ, МАТЕРИАЛЫ И РЕАГЕНТЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность содержимого лунок планшета при длине волны 450–620 (680) нм;
- орбитальный термостатируемый шейкер (встряхиватель) для микропланшета, скорость 600–800 об/мин, поддерживающий температуру $+37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ или термостат, поддерживающий температуру $+37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$;
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие дозировать объемы в диапазоне 25–250 мкл;
- цилиндр мерный вместимостью 2000 мл;
- вода бидистиллированная (или деионизованная);
- перчатки резиновые или пластиковые;
- бумага фильтровальная.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Процедура получения анализируемого материала. Сбор образцов крови человека проводить в соответствии с текущей практикой методом венопункции.

6.1.1. Подготовка анализируемых образцов сывороток крови пациентов. Кровь отобрать венопункцией, дать полностью свернуться, отделить сыворотку центрифугированием при комнатной температуре. Для анализа использовать неразведённую сыворотку (плазму) крови человека.

6.1.2. Приготовление анализируемых образцов плазмы. Сбор крови производить в центрифужные пробирки, содержащие антикоагулянты и немедленно после сбора центрифугировать. В качестве антикоагулянтов использовать ЭДТА, гепарин и цитрат натрия.

Во избежание гемолиза необходимо как можно быстрее отделить плазму от эритроцитов или сыворотку от сгустка.

6.2. Исследуемые образцы допускается хранить при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ в течение 3 суток.

6.3. Допускается однократное замораживание при -20°C исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови.

6.4. Общее количество повторов при постановке исследуемых образцов определяется квалификацией персонала и рекомендациями GLP. Производитель гарантирует сохранение всех технических характеристик Набора реагентов «антиВИЧ I(0)/p24-ИФА» и достоверность результатов.

6.5. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение Инструкции по применению Набора реагентов «антиВИЧ I(0)/p24-ИФА».

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА.

7.1. Перед проведением анализа компоненты Набора и исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови следует выдержать при комнатной температуре ($+18-25^{\circ}\text{C}$) не менее 30 мин.

7.2. Приготовление планшета.

Вскрыть пакет с планшетом и установить на рамку необходимое количество стрипов.

Оставшиеся неиспользованными стрипы, чтобы предотвратить воздействие на них влаги, тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета.

7.3. Приготовление отмывочного раствора.

Содержимое флакона с концентратом отмывочного раствора (50 мл), перенести в мерный цилиндр вместимостью 2000 мл, добавить 1250 мл дистиллированной воды и тщательно перемешать. В случае дробного использования Набора следует отобрать необходимое количество концентрата отмывочного раствора и развести дистиллированной водой в 26 раз (1 мл концентрата отмывочного раствора +25 мл дистиллированной (деионизованной) воды).

7.4. Приготовление конъюгата В.

Приготовьте конъюгат В: для этого разбавьте концентрат конъюгата В в 11 раз буфером для разведения концентрата конъюгата В.

Пример: на 1 стрип (8 лунок) потребуется 990 мкл конъюгата В: 90 мкл концентрата конъюгата В + 900 мкл буфера для разведения концентрата конъюгата В.

7.5. Приготовление положительной контрольной сыворотки Ag+, содержащей высокоочищенный рекомбинантный антиген р24 ВИЧ I в случае поставки в лиофилизированном виде.

Добавьте во флакон с положительной контрольной сывороткой Ag+ 1 мл бидистиллированной воды и тщательно перемешайте до полного растворения.

Хранить при температуре +2-8°C в течение 5 суток.

Не допускается использование положительной контрольной сыворотки Ag+, если раствор во флаконе мутный, наблюдается осадок или неприятный запах.

7.6. Таблица расхода реагентов:

Количество стрипов	Смывочный раствор BUF WASH			
	BUF WASH 26X, мл	Вода дистиллированная	Ag+, мкл	Ag+, мкл
1	1,5	37,5	0,09	0,9
2	3,0	75	0,18	1,8
3	4,5	112,5	0,27	2,7
4	6,0	150	0,36	3,6
5	7,5	187,5	0,45	4,5
6	9,0	225	0,54	5,4
7	10,5	262,5	0,63	6,3
8	12	300	0,72	7,2
9	13,5	337,5	0,81	8,1
10	15	375	0,9	9,0
11	16,5	421,5	0,99	9,9
12	18	450	1,08	10,8

8. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

8.1. Поместите в рамку необходимое количество стрипов для отрицательной контрольной сыворотки, положительной контрольной сыворотки Ab+, положительной контрольной сыворотки Ag+ и исследуемых образцов.

8.2. Внесите в соответствующие лунки по 70 мкл положительной контрольной сыворотки Ab+, положительной контрольной сыворотки Ag+ и отрицательной контрольной сыворотки. В остальные лунки внесите по 70 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови. Внесение контрольных

 **Протокол и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут!**

8.3. Внесите во все лунки по 30 мкл конъюгата А.

8.4. Аккуратно перемешайте содержимое планшета круговыми движениями по горизонтальной поверхности, заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета.

Инкубируйте планшет в течение 30 минут при температуре +37°C и постоянном встряхивании со скоростью 600 об/мин (аналитическая чувствительность p24 ВИЧ I – 5,0 пг/мл (0,325 МЕ/мл)) или инкубируйте планшет в течение 30 минут при температуре +37°C (аналитическая чувствительность p24 ВИЧ I – 10,0 пг/мл (0,65 МЕ/мл)).

8.5. По окончании инкубации удалите содержимое лунок аспирацией (например, с помощью водоструйного насоса) или декантированием и отмойте лунки 5 раз. При каждой отмывке добавляйте во все лунки по 300 мкл отмывочного раствора, встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Требуется задержка при отмывке (замачивание лунок) 30 секунд.

При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок.

8.6. Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата В.

8.7. Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте планшет в течение 10 минут при температуре +37°C и постоянном встряхивании со скоростью 600 об/мин (аналитическая чувствительность p24 ВИЧ I – 5,0 пг/мл (0,325 МЕ/мл)) или инкубируйте планшет в течение 10 минут при температуре +37°C (аналитическая чувствительность p24 ВИЧ I – 10,0 пг/мл (0,65 МЕ/мл)). По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 7 раз. Требуется задержка при отмывке (замачивание лунок) 30 секунд.

8.8. Внесите во все лунки по 100 мкл субстратного раствора тетраметилбензидина (ТМБ). Внесение субстратного раствора тетраметилбензидина (ТМБ) в лунки необходимо произвести в течение 2–3 минут. Инкубируйте планшет в темноте при температуре +37°C в течение 10 минут.

8.9. Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и субстратный раствор тетраметилбензидина (ТМБ), по 100 мкл стоп-реагента, при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.

8.10. Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм и референс светофильтре 620–680 нм. Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести не позднее 40 минут после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра выставляйте по воздуху.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА.

9.1. Рассчитайте среднюю ОП отрицательной контрольной сыворотки.

$$\text{ОП (CN112Z)Cr} = (\text{ОП1 (CN112Z)} + \text{ОП2 (CN112Z)}) / 2;$$

9.2. Результаты анализа считать достоверными, если:

- ОП положительной контрольной сыворотки Ab+ не ниже 1,0 оптических единиц (ОЕ)

- ОП положительной контрольной сыворотки Ag+ не ниже 0,25 оптических единиц (ОЕ)

- ОП отрицательной контрольной сыворотки не выше 0,2 оптических единиц (ОЕ)

9.3. Рассчитайте уровень граничного значения Cut off, для этого к среднему значению ОП отрицательной контрольной сыворотки прибавьте коэффициент А, значение которого указано в паспорте контроля качества.

$$\text{Cut off} = \text{CONTROL-ср} + A$$

9.4. В случае, если Вам необходимо рассчитать индекс позитивности исследуемого образца (ИП_{иссл}) найдите отношение:

$$\text{ИП}_{\text{иссл}} = \text{ОП}_{\text{образца}} / \text{Cut off}$$

10. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

При ОП образца < Cut off – образец отрицательный.

При ОП образца > Cut off – образец положительный,

При ОП образца = Cut off – образец неопределенный.

Такие образцы следует исследовать повторно в двух лунках. При получении положительного результата хотя бы в одной лунке образцы считать положительными.

Подтверждение положительного результата необходимо проводить другими методами исследования.

11. СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКАЯ ВЕРИФИКАЦИЯ ВНЕСЕНИЯ ОБРАЗЦОВ И РЕАГЕНТОВ.

11.1. Определение правильности внесения исследуемых образцов и контрольных сывороток.

После внесения контрольных сывороток и исследуемых образцов в лунки планшета возможно верифицировать факт правильного дозирования и отсутствие ошибки внесения путем измерения оптической плотности (ОП) на длине волны 450 нм. Все лунки с внесенными образцами или контрольными сыворотками должны иметь значение ОП >0,07 (450 нм).

11.2. Определение правильности внесения конъюгата А.

После внесения конъюгата А возможно верифицировать факт правильного дозирования и отсутствие ошибки внесения путем измерения оптической плотности (ОП) на длине 450 нм. Все лунки с внесенным конъюгатом А должны иметь значение ОП >0,1 (450/620 нм).

11.3. Определение правильности внесения конъюгата В.

После внесения конъюгата В возможно верифицировать факт правильного дозирования и отсутствие ошибки внесения путем измерения оптической плотности (ОП) на длине волны 450 нм. Все лунки с внесенным конъюгатом В должны иметь значение ОП > 0,07 (450 нм).

11.4. Определение правильности внесения субстратного раствора тетраметилбензидина (ТМБ).

После внесения субстратного раствора тетраметилбензидина (ТМБ) возможно верифицировать факт правильного дозирования или отсутствие ошибки внесения путем измерения оптической плотности (ОП) на длине волны 492 нм. Все лунки с внесенным субстратным раствором тетраметилбензидина (ТМБ) должны иметь значение ОП >0,05 (492 нм).



12. ОГРАНИЧЕНИЕ МЕТОДА

Набор реагентов «антиВИЧ I(0), II/p24-ИФА» предназначен для диагностических целей, однако окончательный диагноз не должен основываться только на результатах данного теста.

Диагноз должен быть поставлен врачом после полного клинического и лабораторного обследования пациента.

13. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВКИ, ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА.

Информация, об особенностях транспортирования должна учитываться всеми лицами, участвующими в хранении, перевозке и утилизации (уничтожении) этого изделия.

13.1. Транспортирование.

13.1.1. Транспортирование Набора реагентов «антиВИЧ I(0), II/p24-ИФА» должно производиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с требованиями и правилами, установленными на данном виде транспорта, при температуре +2–8°C. Допускается транспортировка Набора при температуре до +25°C не более 15 суток.

13.1.2. Изделия, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

13.2. Хранение.

13.2.1. Набор реагентов «антиВИЧ I(0), II/p24-ИФА» должен храниться в упаковке предприятия изготовителя при температуре +2–8°C в течение всего срока годности, указанного на упаковке Набора (24 месяца). Допускается хранение Набора при температуре до +25°C не более 15 суток.

13.2.2. Не допускается замораживание целого Набора.

13.2.3. Хранение изделий при температуре от +2–8°C должно осуществляться в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры. Хранение изделий ниже 0°C должно осуществляться в морозильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

13.2.4. В случае дробного использования набора компоненты следует хранить следующим образом:

- оставшиеся неиспользованными стрипы необходимо тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре +2–8°C в течение всего срока годности Набора.

- оставшиеся неиспользованными отрицательная контрольная сыворотка, положительная контрольная сыворотка Ab+, положительная контрольная сыворотка Ag+, конъюгат А, концентрат конъюгата В, буфер для разведения конъюгата В, субстратный раствор тетраметилбензидина (ТМБ), концентрат отмывочного раствора, стоп-реагент после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2–8°C в течение всего срока годности Набора.

– лиофилизированную положительную контрольную сыворотку Ag+ после вскрытия флакона следует хранить при температуре +2-8°C в течение всего срока годности Набора.

– приготовленную положительную контрольную сыворотку Ag+ следует хранить при температуре +2-8°C в течение 5 дней. Для повторного использования рекомендуется замораживание (-20°C) в аликвотах. Допускается не более 2 циклов замораживания-оттаивания!

– приготовленный отмывочный раствор хранить при температуре +2-8°C не более 45 суток, допускается хранение при комнатной температуре +18-25°C не более 15 суток.

– приготовленный раствор конъюгата В хранить при температуре +2-8°C не более 3 суток, допускается хранение при комнатной температуре +18-25°C не более 24 часов.

Примечание. После использования реагента немедленно закрывайте крышку флакона. Закрывайте каждый флакон своей крышкой.

13.2.5. Изделия, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат.

13.3. Эксплуатация.

Все комплекты предназначены для ручной постановки и для постановки на автоматических анализаторах для иммуноферментного анализа открытого типа с возможностью, как дробного использования планшета (набора), так и для использования для постановки целого планшета (набора).

Потенциальным потребителем является медицинский персонал клинико-диагностических лабораторий. Медицинский персонал клинико-диагностических лабораторий должен иметь документированное подтверждение проведенного обучения, связанного с потенциальным риском, сочетающимся с работой, с любым медицинским (клиническим) лабораторным устройством.

13.3.1. При использовании набора необходимо придерживаться следующих правил:

- не использовать Набор после окончания срока годности.
- не использовать Набор реагентов, если упаковка повреждена.
- не смешивать компоненты наборов разных серий, кроме унифицированных неспецифических реагентов (концентрат промывочного раствора, стоп-реагент, субстратный раствор тетраметилбензидина (ТМБ)).
- тщательно перемешивать реагенты при подготовке и проведении анализа.
- использовать для приготовления реагентов химически чистую посуду, обработанную дистиллированной водой.
- использовать только оборудование, прошедшее метрологическую поверку.
- исключить прямое воздействие солнечных лучей на планшет во время проведения исследования.
- не допускать присутствие паров перекиси водорода и хлора в помещении при проведении иммуноферментного анализа.
- после использования реагента немедленно закрывайте крышку флакона. Закрывайте каждый флакон своей крышкой.



не используйте компоненты из других наборов или из аналогичных наборов других серий.

13.3.2. Все компоненты Набора реагентов «антиВИЧ I(0), П/р24-ИФА» при соблюдении требований данной Инструкции стабильны в течение всего срока годности. Не используйте Набор с истекшим сроком годности. Срок годности набора указан на внешней стороне упаковки.

13.3.3 Неправильное обращение с образцами и изменение процедуры постановки анализа могут повлиять на результаты. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение Инструкции по применению.

13.3.4. Изделия и/или компоненты набора реагентов «антиВИЧ I(0), П/р24-ИФА» ремонту и техническому обслуживанию не подлежат.

13.4. Утилизация.

13.4.1. Изделия, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежат утилизации.

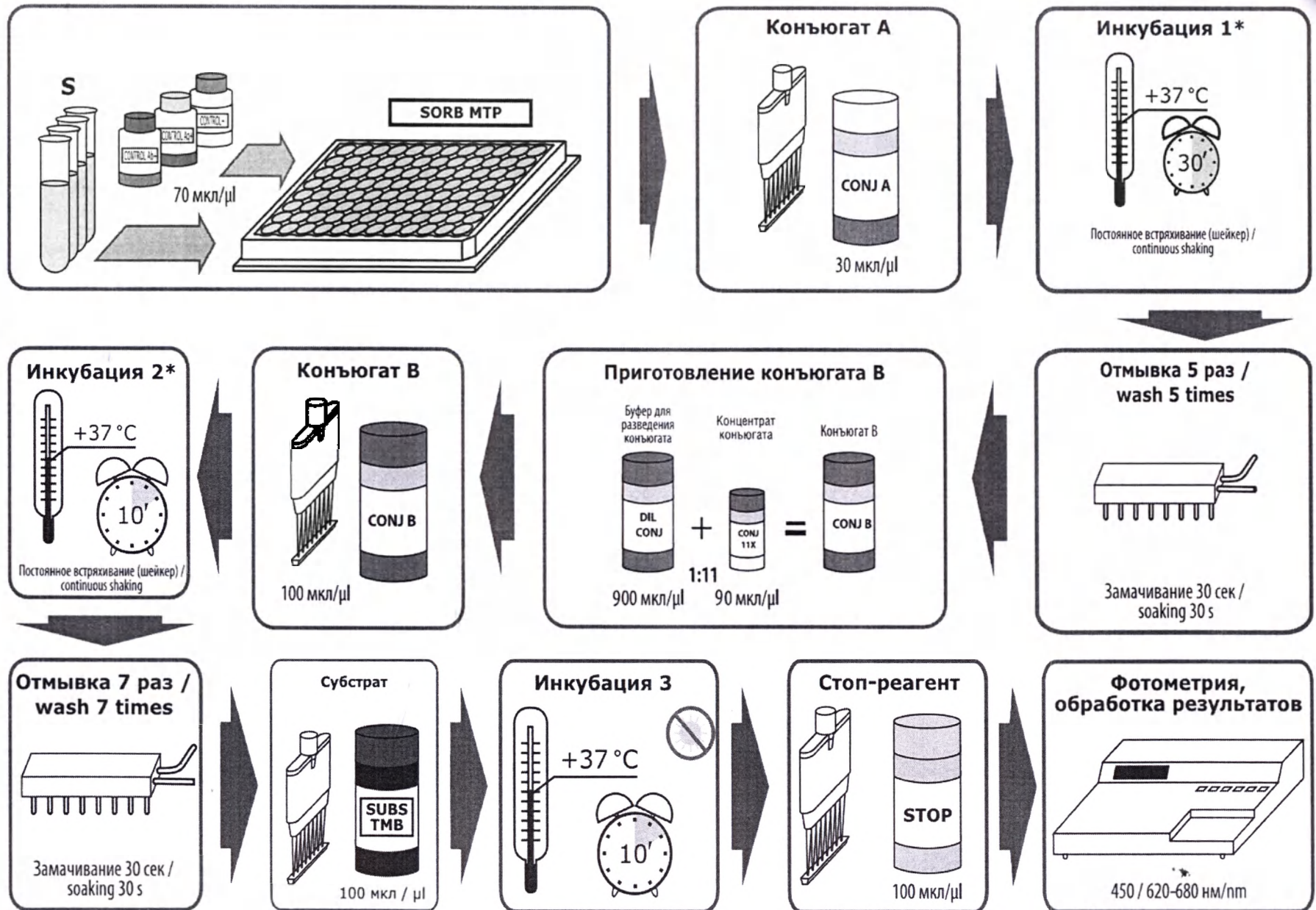
13.4.2. Медицинские отходы класса А, Б, В. Утилизацию или уничтожение наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 "Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий", СанПиН 2.1.7.2527-09 (2.1.7.728-99) «Правила сбора, хранения и удаления отходов лечебно-профилактических учреждений» и МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

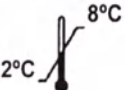
13.4.3. Утилизация проводится специализированными организациями, которые имеют лицензию на право утилизации медицинских отходов.

Предприятие-изготовитель гарантирует стабильность компонентов и Набора, а также соответствие Набора требованиям Технических условий при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения.

По вопросам, касающимся качества Набора реагентов «антиВИЧ I(0), П/р24-ИФА», следует обращаться в ООО «ХЕМА» по адресу: 105264, Москва, ул. 9-ая Парковая, д. 48, тел/факс 495) 510-57-07.

Схема проведения анализа / Test procedure



Символ	Значение символа
	Изготовитель
	Дата изготовления
	Использовать до
LOT	Код партии (номер серии)
REF	Номер по каталогу
	Не допускать воздействия солнечного света
	Беречь от влаги
	Предел температуры
	Обратитесь к инструкции по применению
	Осторожно!
	Запрет на повторное применение
	Нестерильно
IVD	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>
	Содержимого достаточно для проведения n тестов
SORB MTP	Планшет
CONTROL-	Отрицательная контрольная сыворотка
CONTROL Ab +	Положительная контрольная сыворотка Ab +
CONTROL Ag +	Положительная контрольная сыворотка Ag +
CONJ BIOTIN	Конъюгат А
CONJ 11X	Концентрат конъюгата В
DIL CONJ	Буфер для разведения концентрата конъюгата В
SUBS TMB	Субстратный раствор тетраметилбензидина (ТМБ)
BUF WASH n-X	Концентрат отмывочного раствора
STOP	Стоп-реагент

Старший технолог отдела производства
реагентов и контрольных препаратов

ООО «ХЕМА»

«08» 04 2024 г.



Жданович М.Ю.



ПРОШИТО В КОЛИЧЕСТВЕ

16 листов

Исполнительный директор

ООО «ХЕМА»

Е.С. Кострикина

ПРОШИТО

В КОЛИЧЕСТВЕ 16 листов

« 08 » 07 20 24 г.

Генеральный директор

ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

Варнавичус П.К.

