



"УТВЕРЖДАЮ"
Генеральный директор
ЗАО "ЭКОлаб"

Т.Ю.Гашенко
06.10.2022 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов

**«Тест-система иммуноферментная для одновременного выявления антител к вирусу иммунодефицита человека типов 1 и 2 (ВИЧ-1, ВИЧ-1 группы О, ВИЧ-2) и антигена р24 ВИЧ-1»
"АГАТ-ВИЧ-1,2+О"**

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для одновременного выявления антител к вирусу иммунодефицита человека типов 1 и 2 (ВИЧ-1, ВИЧ-1 группы О, ВИЧ-2) и антигена р24 ВИЧ-1» "АГАТ-ВИЧ-1,2+О" предназначен для одновременного качественного выявления антител к вирусу иммунодефицита человека типов 1 и 2 (ВИЧ-1, ВИЧ-1 группы О, ВИЧ-2) и антигена р24 ВИЧ-1 в сыворотке (плазме) крови человека методом непрямого иммуноферментного анализа (ИФА) на твердофазном носителе при "ручной" постановке и с использованием ИФА-анализаторов.

Функциональное назначение: средство первичной диагностики (скрининга). Применение изделия не имеет популяционных и демографических ограничений.

Для однократного применения набора по назначению.

Для клинической лабораторной диагностики in vitro.

Потенциальные потребители изделия

Лабораторные подразделения лечебно-профилактических учреждений.

Профессиональный уровень потенциальных пользователей

Врач клинической лабораторной диагностики, медицинский лабораторный техник.

Показания и противопоказания к применению изделия

Показания: изделие предназначено для скринингового обследования на ВИЧ. Позволяет определить иммунный статус пациента в отношении ВИЧ-1, ВИЧ-1 группы О и ВИЧ-2.

Противопоказания: изделие не предназначено для типирования ВИЧ.

Описание целевого анализа, сведения о его научной обоснованности

ВИЧ-инфекция – болезнь, вызванная вирусом иммунодефицита человека, – антропонозное инфекционное хроническое заболевание, характеризующееся специфическим поражением иммунной системы, приводящим к медленному ее разрушению до формирования синдрома приобретенного иммунодефицита (СПИД), сопровождающегося развитием оппортунистических инфекций и вторичных злокачественных новообразований.

Возбудитель ВИЧ-инфекции – вирус иммунодефицита человека – относится к подсемейству лентивирусов семейства ретровирусов. Существует два типа вируса: ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Выделяют четыре группы ВИЧ-1: группу «М» – основная или Major, группу «О» – редкая или Outlier, группу «N» – не относящаяся к группам «М» и «О» или «Non M/Non O» и относительно недавно (2009 г.) идентифицированную группу «Р». М — основная группа вирусов, ответственных за пандемию ВИЧ-инфекции. ВИЧ-1 группы М является причиной более 90% случаев инфекции в мире. ВИЧ-1 группы О генетически сильно отличается от ВИЧ-1 групп М, N и Р, в связи с чем предъявляются особые требования к используемым диагностическим наборам по выявлению ВИЧ-1 группы О.

Диагноз ВИЧ-инфекции устанавливается на основании эпидемиологических, клинических и лабораторных данных.

Лабораторная диагностика ВИЧ-инфекции основана на выявлении антител к ВИЧ и вирусных антигенов, а также, в особых случаях, выявлении провирусной ДНК ВИЧ и вирусной РНК ВИЧ (у детей первого года жизни и у лиц, находящихся в инкубационном периоде).

Стандартным методом лабораторной диагностики ВИЧ-инфекции служит одновременное определение антител к ВИЧ-1,2 и антигена р24/25 ВИЧ с помощью диагностических тестов ИФА и

ИХЛА (иммунохемилюминесцентный анализ), разрешенных к применению в Российской Федерации в установленном порядке. Для подтверждения результатов в отношении ВИЧ применяются подтверждающие тесты (иммунный, линейный блот). У детей первого года жизни и лиц, находящихся в инкубационном периоде, для подтверждения диагноза и своевременного назначения АРТ может быть использовано определение РНК или ДНК ВИЧ молекулярно-биологическими методами.

Лабораторная диагностика ВИЧ-инфекции может осуществляться только при использовании сертифицированных стандартизованных диагностических тест-систем (наборов), разрешенных к использованию на территории Российской Федерации в установленном порядке (СанПин 3.3686-21 "Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней").

СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

Набор выпускается в 8 базовых вариантах комплектации (комплекты №№ 1, 2, 3 - с концентратами конъюгатов-1,2 и ТМБ; комплекты №№ 4, 4а, 5, 5а, 6 - с готовыми к применению конъюгатами-1,2 и индикаторным раствором).

Характеристики реагентов		Комплекты с концентратами конъюгатов-1,2 и ТМБ			Комплекты с готовыми к применению конъюгатами-1,2 и индикаторным раствором				
		Комп. № 1	Комп. № 2	Комп. №3	Комп. № 4	Комп. № 4а	Комп. № 5	Комп. № 5а	Комп. № 6
Иммуно-сорбент	смесь рекомбинантных антигенов ВИЧ-1,О и ВИЧ-2 и моноклональных антител к антигену р24 ВИЧ-1, сорбированная в лунках полистироловых разборных или монолитных планшетов	1 шт.	2 шт.	5 шт.	1 шт.	1 шт.	2 шт.	2 шт.	5 шт.
Контрольный положительный образец-АТ (K ⁺ _{АТ})	сыворотка крови человека, содержащая антитела к ВИЧ-1,О и ВИЧ-2, инактивированная; прозрачная жидкость красного цвета	1 фл. (2,0 мл)	1 фл. (2,0 мл)	3 фл. (по 2,0 мл)	1 фл. (2,0 мл)	1 фл. (2,0 мл)	1 фл. (2,0 мл)	2 фл. (по 2,5 мл)	3 фл. (по 2,0 мл)
Контрольный положительный образец-АГ (K ⁺ _{АГ})	сыворотка крови человека, содержащая рекомбинантный антиген р24 ВИЧ-1, инактивированная; прозрачная жидкость зеленого цвета	1 фл. (2,0 мл)	1 фл. (2,0 мл)	3 фл. (по 2,0 мл)	1 фл. (2,0 мл)	1 фл. (2,0 мл)	1 фл. (2,0 мл)	1 фл. (2,0 мл)	3 фл. (по 2,0 мл)
Контрольный отрицательный образец (K ⁻)	сыворотка крови человека, не содержащая антигены и антитела к ВИЧ, инактивированная; прозрачная жидкость светло-желтого цвета	1 фл. (4,0 мл)	1 фл. (4,0 мл)	3 фл. (по 4,0 мл)	1 фл. (4,0 мл)	1 фл. (4,0 мл)	1 фл. (4,0 мл)	3 фл. (по 4,0 мл)	3 фл. (по 4,0 мл)
Конъюгат-1 (концентрат)	смесь меченых биотином моноклональных человеческих антител против антигена р24 ВИЧ-1 и меченых биотином синтетических пептидов ВИЧ-1,О и ВИЧ-2; прозрачная жидкость синего цвета	1 фл. (0,5 мл)	1 фл. (1,0 мл)	1 фл. (2,5 мл)	-	-	-	-	-
Конъюгат-	смесь меченых биотином	-	-	-	1 фл.	2 фл.	2 фл.	2 фл.	5 фл.

Характеристики реагентов		Комплекты с кон- центрами конъюгатов-1,2 и ТМБ			Комплекты с готовыми к применению конъюгатами-1,2 и индикаторным раствором				
		Комп. № 1	Комп. № 2	Комп. №3	Комп. № 4	Комп. № 4а	Комп. № 5	Комп. № 5а	Комп. № 6
1	моноклональных человеческих антител против антигена р24 ВИЧ-1 и меченых биотином синтетических пептидов ВИЧ-1,О и ВИЧ-2; прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость синего цвета, готов к применению				(6,5 мл)	(по 6,5 мл)	(по 6,5 мл)	(по 12 мл)	(по 6,5 мл)
Раствор для разведения конъюгата-1 (РРК-1)	прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная жидкость, допускается образование осадка, разбивающегося при встряхивании	1 фл. (6,5 мл)	2 фл. (по 6,5 мл)	5 фл. (по 6,5 мл)	-	-	-	-	-
Конъюгат-2 (концентрат)	смесь стрептавидина, конъюгированного с пероксидазой хрена, и рекомбинантных белков ВИЧ-1,О и ВИЧ-2, меченых пероксидазой хрена; прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная жидкость	1 фл. (0,5 мл)	1 фл. (1,0 мл)	1 фл. (2,5 мл)	-	-	-	-	-
Конъюгат-2	смесь стрептавидина, конъюгированного с пероксидазой хрена, и рекомбинантных белков ВИЧ-1,О и ВИЧ-2, меченых пероксидазой хрена; прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость красного или оранжевого цвета, готов к применению	-	-	-	1 фл. (13 мл)	1 фл. (16 мл)	2 фл. (по 13 мл)	4 фл. (по 12 мл)	5 фл. (по 14 мл)
Раствор для разведения конъюгата-2 (РРК-2)	прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость красного или оранжевого цвета	1 фл. (13 мл)	2 фл. (по 13 мл)	5 фл. (по 13 мл)	-	-	-	-	-
25-кратный концентрат промывочного раствора (ПР(x25))	Прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная пенящаяся жидкость, возможно выпадение осадка солей белого цвета, растворяющегося при температуре 37 °С в течение 30 мин	1 фл. (40 мл)	2 фл. (по 40 мл)	3 фл. (по 100 мл)	1 фл. (40 мл)	2 фл. (по 40 мл)	2 фл. (по 40 мл)	2 фл. (по 100 мл)	3 фл. (по 10 мл)

Характеристики реагентов		Комплекты с концентратами конъюгатов-1,2 и ТМБ			Комплекты с готовыми к применению конъюгатами-1,2 и индикаторным раствором				
		Комп. № 1	Комп. № 2	Комп. № 3	Комп. № 4	Комп. № 4а	Комп. № 5	Комп. № 5а	Комп. № 6
Субстратный буферный раствор (СБР)	прозрачная бесцветная жидкость	1 фл. (13 мл)	2 фл. (по 13 мл)	5 фл. (по 13 мл)	-	-	-	-	-
Хромоген (ТМБ)	концентрированный раствор тетраметилбензидина; прозрачная бесцветная или розового цвета жидкость	1 фл. (1,25 мл)	1 фл. (2,5 мл)	1 фл. (7 мл)	-	-	-	-	-
Раствор индикаторный (РИ)	прозрачная бесцветная или розового цвета жидкость	-	-	-	1 фл. (13 мл)	1 фл. (16 мл)	2 фл. (по 13 мл)	4 фл. (по 12 мл)	5 фл. (по 14 мл)
Стоп-реагент	прозрачная бесцветная жидкость	1 фл. (12,5 мл)	1 фл. (25 мл)	3 фл. (по 25 мл)	1 фл. (12,5 мл)	2 фл. (по 25 мл)	1 фл. (25 мл)	2 фл. (по 25 мл)	3 фл. (по 25 мл)
Одноразовые наконечники для дозаторов пипеточных (2-200 мкл)		16 шт.	16 шт.	32 шт.	16 шт.	32 шт.	16 шт.	32 шт.	32 шт.
Вспомогательные пластиковые емкости		4 шт.	4 шт.	8 шт.	4 шт.	4 шт.	4 шт.	4 шт.	8 шт.
Клейкая пленка для планшетов		4 шт.	4 шт.	8 шт.	4 шт.	4 шт.	4 шт.	4 шт.	8 шт.

Примечания. 1. Набор включает все реагенты, необходимые для постановки ИФА, кроме очищенной (дистиллированной или деионизированной) воды.

2. ПР(х25), СБР, стоп-реагент – унифицированы для всех серий данных наборов ЗАО "ЭКОлаб", в которых используются указанные реагенты.

3. Допускается использование ТМБ и РИ из разных серий набора.

4. K^+_{AT} , K^+_{AG} и К не содержат HBsAg, антитела к ВГС и *Treponema pallidum*.

5. В составе изделия отсутствуют материалы, вступающие в непосредственный или опосредованный контакт с организмом пациента и персонала, использующего изделие, при выполнении требований эксплуатационной документации (инструкции по применению).

6. В составе изделия отсутствуют лекарственные средства и фармацевтические субстанции.

Компоненты набора упакованы в коробку, в коробку вложена инструкция по применению.

ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Предусмотрены восемь базовых варианта комплектации набора:

Базовые варианты комплектов №№ 1, 4 и 4а позволяют проводить исследование 96 образцов, включая контрольные.

Базовые варианты комплектов №№ 2, 5 и 5а позволяют проводить исследование 192 образцов, включая контрольные.

Базовые варианты комплектов № 3 и № 6 позволяют проводить исследование 480 образцов, включая контрольные.

Все комплекты позволяют проводить исследования при «ручной» постановке и на автоматических анализаторах для ИФА открытого типа. Базовые варианты комплектов №№ 4а и 5а включают увеличенные объемы реагентов для дробного использования (по одному стрипу) при «ручной» постановке, а также для дробного использования (по 4 стрипа) при постановке на ИФА-анализаторах открытого типа.

Все комплекты позволяют проводить отдельные исследования с использованием необходимого количества стрипов (в каждом исследовании 4 лунки используются на контрольные образцы):

Число стрипов	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Число иссл. обр.	1-4	5-12	13-20	21-28	29-36	37-44	45-52	53-60	61-68	69-76	77-84	85-92

Набор позволяет проведение анализа по двум протоколам – в термостате (протокол №1, общее время инкубаций – 1 ч 50 мин) и в термошейкере (протокол № 2, общее время инкубаций – 1 ч 20 мин).

Методы стерилизации изделия

Изделие не требует стерилизации.

Программное обеспечение работы изделия

Отсутствует.

Техническое обслуживание и ремонт изделия

Изделие не требует технического обслуживания и не подлежит ремонту.

ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

В основе теста лежит метод иммуноферментного «сэндвич» анализа на твердой фазе – полистироловом планшете, в лунках которого сорбирована смесь рекомбинантных антигенов ВИЧ-1, ВИЧ-1 группы О и ВИЧ-2 и моноклональных антител к антигену р24 ВИЧ-1.

При наличии в исследуемом образце антител к ВИЧ-1 и/или ВИЧ-1 группы О и/или ВИЧ-2 и/или антигена р24 ВИЧ-1 они связываются соответственно с антигенами и/или антителами иммуносорбента, образуя иммунные комплексы «антиген-антитело» и/или «антитело-антиген». Образовавшиеся комплексы затем связываются соответственно с содержащимися в конъюгате-1 мечеными биотином синтетическими пептидами ВИЧ-1 и/или ВИЧ-1 группы О и/или ВИЧ-2 и/или моноклональными человеческими антителами против антигена р24 ВИЧ-1, образуя комплексы «антиген-антитело-антиген-биотин» и/или «антитело-антиген-антитело-биотин». Далее образовавшиеся комплексы связываются с содержащимся в конъюгате-2 стрептавидином, меченым пероксидазой хрена: «антиген-антитело-антиген-биотин-стрептавидин-пероксидаза хрена» и/или «антитело-антиген-антитело-биотин-стрептавидин-пероксидаза хрена». Содержащиеся в конъюгате-2 рекомбинантные антигены ВИЧ-1 и/или ВИЧ-1 группы О и/или ВИЧ-2, меченые пероксидазой хрена, связываются с комплексами «антиген-антитело», не прореагировавшими с антигенами конъюгата-1, и образуют комплексы «антиген-антитело-антиген-пероксидаза хрена». Все образовавшиеся комплексы выявляются затем в реакции с субстратно-индикаторным раствором, содержащим хромоген – тетраметилбензидин, в результате которой меняется цвет (оптическая плотность) реакционной смеси в лунке планшета; изменение регистрируется спектрофотометрически. Интенсивность окрашивания пропорциональна количеству образовавшихся комплексов. Для учета результатов (измерения оптической плотности) в лунки планшета добавляют стоп-реагент.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность набора реагентов "АГАТ-ВИЧ-1,2+О" при исследовании стандартных панелей положительных сывороток предприятия, содержащих антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-1 группы О, ВИЧ-2 и антиген р24 ВИЧ-1 (СОП⁺_{ВИЧ-1-041}, СОП⁺_{ВИЧ-1-О-044}, СОП⁺_{ВИЧ-2-042}, СОП⁺_{р24ВИЧ-1-043} или с помощью коммерческих стандартных образцов, содержащих антитела к ВИЧ-1,2 и антиген р24 ВИЧ-1, допущенных к использованию в РФ) оценена как процентное содержание образцов, определенных набором как положительные, и составляет 100%.

Минимальная аналитическая чувствительность при выявлении антигена р24 ВИЧ-1 – 10 пг/мл в термостате и 4,5 пг/мл на шейкере при исследовании сывороток стандартной панели, содержащих антиген р24 ВИЧ-1 в различных концентрациях (СОП⁺_{р24ВИЧ-1-043}) или коммерческих стандартных образцов, содержащих антиген р24 ВИЧ-1 в различных концентрациях и не содержащих антитела к ВИЧ-1,2, допущенных к использованию в РФ.

Специфичность набора реагентов "АГАТ-ВИЧ-1,2+О" при исследовании стандартной панели отрицательных сывороток предприятия, не содержащих антитела к ВИЧ-1,2 и антиген р24 ВИЧ-1 (СОП_{ВИЧ-040} или с помощью коммерческих стандартных образцов, не содержащих антитела к ВИЧ-1,2 и антиген р24 ВИЧ-1, допущенных к использованию в РФ) оценена как процентное содержание

разцов, определенных набором как отрицательные, и составляет 100%.

Аналитическая специфичность:

Перекрестных реакций не наблюдалось при исследовании образцов биологического материала, содержащих HBsAg антитела к вирусу гепатита С, *Treponema pallidum*, вирусу гепатита А, *Chlamydia trachomatis*, к вирусу гриппа А, к герпесвирусам (ВПГ-1, ВПГ-2, ВЭБ, ВВО, ЦМВ), при исследовании образцов, содержащих ревматоидный фактор(>8 МЕ/мл), а также образцов сыворотки крови беременных.

Интерференция и/или перекрестная реактивность не наблюдались при исследовании образцов, содержащих билирубин, триглицериды или гемоглобин в указанных концентрациях:

Гемоглобин	200 г/л
Триглицериды	11 ммоль/л
Билирубин	120 мкмоль/л

Диагностическая чувствительность - 99,82%-100% (с доверительной вероятностью 95%)

Диагностическая специфичность - 99,97%-100%; (с доверительной вероятностью 95%)

при анализе биоматериала доноров крови - 99,96% - 100% (с доверительной вероятностью 95%)

Диагностическая чувствительность

для отдельных видов биоматериала:

сыворотка крови - 99,80% - 100% (с доверительной вероятностью 95%)

плазма крови - 98,68% - 100% (с доверительной вероятностью 95%)

Диагностическая специфичность:

для отдельных видов биоматериала

сыворотка крови - 99,97% - 100% (с доверительной вероятностью 95%)

плазма крови - 98,68% - 100% (с доверительной вероятностью 95%)

Воспроизводимость не более 8 %.

ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Нативная сыворотка, плазма (с гепарином, цитратом натрия, ЭДТА) крови человека объемом не менее 70 мкл.

Сбор образцов крови должен производиться в соответствии с надлежащей практикой методом венепункции (ГОСТ Р 53079.4-2008 «Обеспечение качества клинических лабораторных исследований»).

Образцы до исследования хранить при температуре от 2 до 8 °С. При необходимости хранения образцов более 7 дней рекомендуется разделить их на аликвоты и хранить при температуре от минус 20 до минус 70 °С. Размороженные образцы перед исследованием нужно тщательно перемешать. При работе с размороженными образцами следует учитывать, что каждый цикл оттаивания-замораживания приводит к разрушению выявляемых антител и антигенов, снижая качество исследуемого материала. С целью получения достоверных результатов исследования рекомендуется использовать только однократное замораживание-оттаивание образцов.

Не допускается использование для исследования образцов с повышенным содержанием липидов и (или) с признаками гемолиза, и (или) с видимым микробным проростом.

Образцы, содержащие осадок, перед анализом отцентрифугировать в течение 10-15 мин при 2500-3000 об/мин.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 3 (Приказ МЗ РФ №4н от 6 июня 2012 г.), ГОСТ 31508.

Меры предосторожности при работе с набором – соблюдение правил "Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений" (Утв. Минздравом СССР 17 января 1991 г.), ГОСТ Р 52905-2007 (ИСО 15190:2003).

Набор биологически безопасен, однако с исследуемыми образцами необходимо обращаться как с потенциально инфицированным материалом, строго выполняя требования безопасности при серологических исследованиях материалов, потенциально инфицированных возбудителями I и II

...патогенности (СанПин 3.3686-21 "Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней).

Стоп-реагент при попадании на незащищенную кожу и слизистые может вызывать химические ожоги. В случае попадания на кожу – немедленно промойте пораженный участок водой.

Набор реагентов, 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" относится к классу Б – эпидемиологически опасные отходы

Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию 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" и МУ 287-113 "Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения".

СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

"РУЧНАЯ" ПОСТАНОВКА

Оборудование и материалы

Дозаторы пипеточные (пипетки полуавтоматические одно- и многоканальные переменного объема) для внесения реагентов в лунки планшета с погрешностью дозирования не более 5 % с накопниками полипропиленовыми одноразовыми.

Ручные, или автоматические промыватели, или восьми- и двенадцатиканальные пипеточные дозаторы для промывания лунок планшета.

Спектрофотометр вертикального сканирования для измерения оптической плотности в лунках планшета при 450 нм и/или в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620-650 нм.

Центрифуга лабораторная на 2,5-3,0 тыс. об/мин.

Термостат на $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, термостатируемый шейкер орбитального типа позволяющий встряхивание при 400-800 об/мин и температуре ($37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$).

Холодильник бытовой, фильтровальная бумага.

Вода очищенная (дистиллированная или деионизированная).

70%-ный раствор спирта этилового и 6%-ный раствор перекиси водорода (дез. растворы) или растворы иных дезинфектантов, разрешенных к применению (СанПин 3.3686-21, кроме хлорсодержащих).

Подготовка компонентов для анализа

Внимание! Соблюдение указанных ниже требований позволит избежать искажения результатов ИФА.

Перед работой извлечь набор из холодильника, вскрыть упаковку и выдержать все реагенты перед проведением анализа не менее 30 мин при температуре от 18 до 26 °C.

Нельзя использовать реагенты из наборов разных серий или смешивать их при постановке ИФА, кроме унифицированных реагентов (ПРх25, СБР, ТМБ, РИ, стоп-реагент).

Нельзя использовать реагенты из наборов других производителей.

После использования необходимо каждый флакон с реагентом закрывать своей крышкой.

При подготовке растворов и проведении ИФА использовать только одноразовые наконечники для дозаторов пипеточных.

При использовании автоматического промывателя планшетов необходимо следить за чистотой емкости для промывочного раствора и соединительных шлангов во избежание образования микробного пророста и контаминации промывочного раствора. Для предотвращения засорения игл промывателя необходимо ежедневно проводить процедуру промывки устройства водой очищенной. Ежеженедельно необходимо проводить замачивание промывателя в 70% этиловом спирте или другом

створе, рекомендованном в инструкции к прибору.

При проведении промывки планшета промывочным раствором необходимо визуально контролировать наполнение лунок и аспирацию жидкости из них.

Дезинфекцию посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми образцами, необходимо проводить при помощи средств, не влияющих на результаты ИФА (не содержащих активный кислород и хлор).

При многократном использовании емкостей для конъюгата необходимо промыть их проточной водой и ополоснуть водой очищенной. При многократном использовании емкостей для раствора индикаторного необходимо промыть их проточной водой, затем 70% этиловым спиртом и ополоснуть водой очищенной. Нельзя обрабатывать емкости для многократного использования дезинфицирующими растворами и моющими средствами.

Запрещается использовать одну и ту же емкость для конъюгата и раствора индикаторного.

Дозаторы пипеточные и рабочие поверхности необходимо обрабатывать только 70% этиловым спиртом. Нельзя использовать перекись водорода и хлорамин.

При проведении ИФА необходимо избегать воздействия прямого солнечного света на реагенты набора.

Необходимо избегать контакта ТМБ и раствора индикаторного с металлами и ионами металлов.

Не допускается принимать пищу, пить, курить или пользоваться косметикой в помещении, где проводится ИФА.

Приготовление рабочего промывочного раствора (ПР)

При выпадении осадка солей в ПР(х25) прогреть его при температуре 37 °С до полного растворения осадка.

Готовить за 15 мин. до проведения анализа.

При постановке ИФА на 1 планшете (12 стрипов) 40 мл ПР(х25) довести водой очищенной до 1000 мл.

При дробной постановке использовать соотношения объемов ПР(х25) и воды, указанные в табл. 1 для разного числа стрипов.

Таблица 1

Число стрипов	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
ПР(х25), мл	5	7	10	13	17	20	23	27	30	33	37
Вода очищенная, мл	до 125	до 175	до 250	до 325	до 425	до 500	до 575	до 675	до 750	до 825	до 925

Готовый рабочий промывочный раствор хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 190 сут, при температуре от 18 до 26 °С – не более 30 сут.

Приготовление рабочего раствора конъюгата-1 (для комплектов №№ 1, 2, 3).

Готовить не менее чем за 10 мин до использования.

При постановке ИФА на 1 планшете (12 стрипов) отобрать из флакона конъюгата-1 (концентрата)... мкл, внести во флакон с РРК-1 и тщательно перемешать.

При дробной постановке конъюгат-1 (концентрат) развести в РРК-1, используя объемы конъюгата-1 (концентрата) и РРК-1, указанные в табл. 2 для заданного числа стрипов, тщательно перемешать.

Таблица 2

Число стрипов	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
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
Конъюгат-1 (концентрат), мкл											

Примечание: объемы конъюгата-1 (концентрата) указываются для каждой серии набора.

Стабильность рабочего раствора конъюгата-1 при температуре от 2 до 8 °С не более 2 месяцев.

Приготовление рабочего раствора конъюгата-2 (для комплектов №№ 1, 2, 3).

Готовить не менее чем за 30 мин до использования.

При постановке ИФА на 1 планшете (12 стрипов) отобрать из флакона конъюгата-2 (концентрата) ... мкл, внести во флакон с РРК-2 и тщательно перемешать.

При дробной постановке конъюгат-2 (концентрат) развести в РРК-2, используя объемы конъюгата-2 (концентрата) и РРК-2, указанные в табл. 3 для заданного числа стрипов, тщательно перемешать.

Таблица 3

Число стрипов	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
РРК-2, мл	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Конъюгат-2 (концентрат), мкл											

Примечание: объемы конъюгата-2 (концентрата) указываются для каждой серии набора. Стабильность рабочего раствора конъюгата-2 при температуре от 2 до 8 °С не более 2 месяцев.

Приготовление субстратно-индикаторного раствора (для комплектов №№ 1, 2, 3).

Важно соблюдать порядок внесения!

Готовить непосредственно перед использованием в месте, защищенном от воздействия прямого солнечного света. Во вспомогательную пластиковую емкость вносить вначале СБР, а затем ТМБ, тщательно перемешать полученный раствор.

При постановке ИФА на 1 планшете (12 стрипов) к 13 мл СБР добавить 1,040 мл ТМБ и тщательно перемешать.

При дробной постановке ТМБ внести в СБР, используя объемы ТМБ и СБР, указанные в табл. 4 для заданного числа стрипов, и тщательно перемешать.

Таблица 4

Число стрипов	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
СБР, мл	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
ТМБ, мкл	80	160	240	320	400	480	560	640	720	800	880

Стабильность субстратно-индикаторного раствора при температуре от 18 до 26 °С не более 13 ч в защищенном от света месте.

Приготовление остальных реагентов

Иммуносорбент, K^- , K^+_{AT} , K^+_{AG} , стоп-реагент готовы к использованию во всех комплектах, конъюгат-1 и конъюгат-2 (в комплектах №№ 4, 4а, 5, 5а, 6), РИ (в комплектах №№ 4, 4а, 5, 5а, 6), готовы к использованию.

Неиспользованные реагенты хранить в плотно укупоренных упаковках при температуре от 2 до 8 °С, до истечения срока годности.

Проведение ИФА

Внимание! Соблюдение указанных ниже температуры и времени инкубации планшетов на каждой стадии постановки крайне важно для получения достоверных результатов.

1. Извлечь из пакета планшет, вскрыв выше замка «zip-lock», и установить на рамку необходимое для проведения ИФА количество стрипов. Неиспользованные стрипы немедленно поместить обратно в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух, плотно закрыть «zip-lock» и поместить в холодильник.

Хранение вскрытого иммуносорбента возможно при температуре 2-8 °С до истечения срока годности набора.

2. В одну лунку внести 70 мкл K^+_{AT} , в одну лунку - 70 мкл K^+_{AG} , в две лунки - по 70 мкл K^- . В остальные лунки внести по 70 мкл исследуемых образцов.

Сразу после внесения контрольных и исследуемых образцов внести во все лунки планшета по 50 мкл рабочего раствора конъюгата-1 (при использовании комплектов №№ 1, 2, 3) или готового к применению конъюгата-1 (при использовании комплектов №№ 4, 4а, 5, 5а, 6). Содержимое лунок перемешать осторожным постукиванием по краям планшета.

Примечание: внесение исследуемого образца и конъюгата-1 можно контролировать визуально: после добавления конъюгата-1 содержимое лунки меняет свой цвет с желтого на зеленоватый за исключением K^+_{AT} и K^+_{AG} (см. раздел «Спектрофотометрическая верификация дозирования образца и реагентов»).

3. Планшет закрыть крышкой или клейкой пленкой. Инкубировать в соответствии с выбранным протоколом:

1 протокол проведения ИФА - 60 мин при температуре 37 °С в термостате,

2 протокол проведения ИФА – 30 мин при температуре 37 °С в термошейкере (700 об/мин).

4. С помощью промывателя удалить образцы из лунок, 6 раз промыть планшет промывочным раствором, внося в лунки 350-370 мкл раствора. При наличии промывателя, позволяющего производить промывку в режиме "Overflow", использовать именно этот режим. По окончании промывки удалить остатки влаги из лунок, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге.

Допускается проведение 3 промывок планшета на данном этапе.

Примечание: сохранность иммуносорбента между стадиями составляет 15 мин.

5. Во все лунки внести по 100 мкл рабочего раствора конъюгата-2 (при использовании комплектов №№ 1, 2, 3) или готового к применению конъюгата-2 (при использовании комплектов №№ 4, 4а, 5, 5а, 6).

Примечание: внесение окрашенного рабочего разведения конъюгата-2 можно контролировать визуально (см. раздел «Спектрофотометрическая верификация дозирования образца и реагентов»).

6. Планшет закрыть крышкой или клейкой пленкой. Инкубировать в соответствии с выбранным протоколом:

1 протокол проведения ИФА - 30 мин при температуре 37 °С в термостате,

2 протокол проведения ИФА – 30 мин при температуре 37 °С в термошейкере (700 об/мин).

7. С помощью промывателя удалить жидкость из лунок, 6 раз промыть планшет как указано в п. 4.

Допускается проведение 3 промывок планшета на данном этапе.

8. Во все лунки внести по 100 мкл субстратно-индикаторного раствора (при использовании комплектов №№ 1, 2, 3) или РИ (при использовании комплектов №№ 4, 4а, 5, 5а, 6), планшет накрыть крышкой или заклеить клейкой пленкой, немедленно поместить в защищенное от света место и выдержать 20 мин при температуре 37 °С.

Допускается инкубация с субстратно-индикаторным раствором или РИ при температуре (18-25 °С).

Примечание: Внесение субстратно-индикаторного раствора, окрашенного в розовый цвет, можно контролировать визуально. Видно разницу между пустой лункой и лункой, в которую внесен розовый субстратно-индикаторный раствор (см. раздел «Спектрофотометрическая верификация дозирования образца и реагентов»).

9. Во все лунки (в той же последовательности, в которой вносился субстратно-индикаторный раствор) внести по 100 мкл стоп-реагента, осторожно (постукиванием по планшету) перемешать содержимое лунок и не более чем через 40 мин приступить к учету результатов.

Регистрация и учет результатов

Результаты ИФА регистрировать спектрофотометрически, измеряя оптическую плотность (ОП) при двух длинах волн 450 нм и 620–650 нм. При отсутствии референс-фильтра на 620–650 нм оптическую плотность (ОП) измеряют при длине волны 450 нм, а выведение спектрофотометра на нулевой уровень ("бланк") осуществляют по воздуху.

Результаты ИФА учитываются при следующих условиях:

среднее значение ОП в лунках с K^- ($ОП_{K-CP}$) не более 0,2;
значения ОП в лунках с K^+_{AT} ($ОП_{K+AT}$) и K^+_{AG} ($ОП_{K+AG}$) не менее 1,0.

Рассчитать $ОП_{крит}$ по формуле

$ОП_{крит} = ОП_{K-CP} + A$, где $A = \dots$ (указывается для каждой серии набора).

Исследуемую сыворотку расценивать как **положительную**, т.е. содержащую антитела к ВИЧ-1,О, и/или к ВИЧ-2, и/или антиген р24 ВИЧ-1, если ОП исследуемой сыворотки равна или превышает $ОП_{крит}$.

Исследуемую сыворотку расценивать как **отрицательную**, если значение ОП сыворотки ниже $ОП_{крит}$.

Значение ОП исследуемых сывороток со знаком " – " при анализе считать равным нулю.

Спектрофотометрическая верификация дозирования образца и реагентов

Определение правильности внесения образцов и рабочего раствора конъюгата-1

После внесения конъюгата-1 и исследуемых образцов возможно верифицировать одновременное присутствие конъюгата-1 и образцов в лунках планшета с помощью спектрофотометрии при длине волны в 405 нм: оптическая плотность в лунке, содержащей конъюгат-1 и образец, должна быть больше 0,200 (более низкая ОП указывает на ошибки при внесении конъюгата-1 или образца).

Определение правильности внесения рабочего раствора конъюгата-2

После внесения конъюгата-2 возможно верифицировать его присутствие в лунках планшета с помощью спектрофотометрии при длине волны в 405 нм: оптическая плотность в лунке, содержащей конъюгат-2, должна быть больше 0,150 (более низкая ОП указывает на ошибки при внесении конъюгата-2).

Определение правильности внесения субстратно-индикаторного раствора

После внесения субстратно-индикаторного раствора, окрашенного в розовый цвет, возможно верифицировать его присутствие в лунках планшета с помощью спектрофотометрии при длине волны в 490 нм: оптическая плотность в лунке, содержащей субстратно-индикаторный раствор, должна быть больше 0,100 (более низкая ОП указывает на ошибки при внесении субстратно-индикаторного раствора).

ПОСТАНОВКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИФА-АНАЛИЗАТОРОВ

Подготовить прибор в соответствии с инструкцией по его эксплуатации, ввести программу анализа, соответствующую используемому набору, и провести анализ.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Набор реагентов нельзя использовать для постановки диагноза ВИЧ-инфекция. Для постановки диагноза необходимо использовать комплекс клинических и лабораторных исследований.

Набор реагентов выявляет антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-1 группы О, ВИЧ-2 и антиген р24 ВИЧ-1 только в сыворотке или плазме крови человека.

На начальной стадии развития ВИЧ-инфекции (от первого до 21-го дня с момента инфицирования ВИЧ, редко – до 6 мес.) может быть получен ложноотрицательный результат ИФА, так как количество антител к ВИЧ-1, ВИЧ-1 группы О, ВИЧ-2 и антигена р24 ВИЧ-1 в анализируемых образцах может быть ниже определяемого уровня. Поэтому при подозрении на заражение ВИЧ-инфекцией рекомендуется в дальнейшем провести тест повторно через три недели.

Наличие или отсутствие антител к ВИЧ-1, ВИЧ-1 группы О, ВИЧ-2 и антигена р24 ВИЧ-1 не коррелирует с наличием или отсутствием РНК ВИЧ.

Не использовать наборы с нарушением упаковки, с истекшим сроком годности.

Наборы реагентов, хранившиеся и транспортировавшиеся с нарушением регламентируемого режима, применению не подлежат.

СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности набора – 2 года.

ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ

Хранение

Замораживание не допускается.

Хранение наборов должно осуществляться в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности.

Допускается хранение ПР(х25) и стоп-реагента при температуре 2-30 °С.

Транспортирование

При температуре от 2 до 8 °С транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. Допускается транспортирование при температуре от 9 до 26 °С в течение 15 сут.; при температуре от 26 до 30 °С – в течение 5 сут. Замораживание не допускается.

УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для учреждений здравоохранения.

ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для одновременного выявления антител к вирусу иммунодефицита человека типов 1 и 2 (ВИЧ-1, ВИЧ-1 группы О, ВИЧ-2) и антигена р24 ВИЧ-1» "АГАТ-ВИЧ-1,2+О" соответствует ТУ 21.20.23-294-70423725-2021, Национальным стандартам РФ и нормативным документам в части требований безопасности и эффективности.

Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

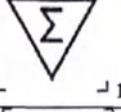
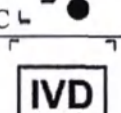
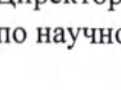
Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

По вопросам, касающимся качества набора "АГАТ-ВИЧ-1,2+О", следует обращаться по адресу 142530 Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1-1а, ЗАО "ЭКОлаб"; тел. 8 (49643) 3-23-11, 3-30-93, 3-30-85, 8 (800) 333-33-47.

При предъявлении рекламации по поводу несоответствия физических и специфических характеристик набора реагентов заявленным для проведения объективного расследования производителем причин несоответствия потребитель должен предоставить:

1. набор реагентов той серии, на которую предъявляется рекламация;
2. спорные образцы исследуемого материала пациентов (сыворотка, плазма и пр.);
3. протоколы анализа с указанием наименования, серии и сроков годности использованного набора реагентов.
4. протоколы исследования с использованием других методов/наборов реагентов с указанием серии, сроков годности, производителя примененных наборов реагентов.

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ НА УПАКОВКЕ И ЭТИКЕТКАХ

Символ	Значение символа
	Дата изготовления
	Код партии
	Номер по каталогу
	Содержимого достаточно для проведения n-тестов
	Использовать до
	Предел температуры
	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Обратитесь к инструкции по применению
	Осторожно!
	Биологический риск
	Хрупкое. Осторожно

Директор ЗАО "ЭКОлаб"
по научной работе

"СОГЛАСОВАНО"
Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
«06» 10 2022 г.

С.Г. Марданлы

П.К. Варнавичус

Сводная таблица приготовления рабочих разведений реагентов при дробных постановках

Число стрипов	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Рабочий промывочный раствор (ПР)												
ПР(х25), мл	5	7	10	13	17	20	23	27	30	33	37	40
Вода очищенная, мл	до 125	до 175	до 250	до 325	до 425	до 500	до 575	до 675	до 750	до 825	до 925	до 1000
Рабочий раствор конъюгата-1												
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	6,5
Конъюгат-1 (концентрат), мкл												
Рабочий раствор конъюгата-2												
РРК-2, мл	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	13
Конъюгат-2 (концентрат), мкл												
Субстратно-индикаторный раствор												
СБР, мл	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	13
ТМБ, мкл	80	160	240	320	400	480	560	640	720	800	880	1040

Примечание: объемы конъюгата-1 (концентрата) и конъюгата-2 (концентрата) указываются для каждой серии набора

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА РЕАГЕНТОВ "АГАТ-ВИЧ-1,2+О"

Для оценки чувствительности набора реагентов "АГАТ-ВИЧ-1,2+О" по выявлению антигена р24 ВИЧ-1 была использована Панель стандартных образцов предприятия СОП⁺_{р24 ВИЧ-1-043}, содержащая рекомбинантный антиген р24 в различных концентрациях. Как показано в таблице, предел чувствительности тест-системы при определении рекомбинантного антигена р24 ВИЧ-1 в термостате составляет 10 пг/мл, на шейкере – 4,5 пг/мл.

Концентрация антигена р24 ВИЧ-1 в сыворотке	СОП ⁺ _{р24 ВИЧ-1-043}	
	термостат	шейкер
50 пг/мл	*ОП=1,247	ОП=1,898
20 пг/мл	ОП=0,527	ОП=0,956
10 пг/мл	ОП=0,220	ОП=0,487
5,0 пг/мл	ОП=0,047	ОП=0,285
4,5 пг/мл	ОП=0,034	ОП=0,241
2,5 пг/мл	ОП=0,015	ОП=0,118
2 пг/мл	ОП=0,012	ОП=0,093
1 пг/мл	ОП=0,009	ОП=0,042
0,5 пг/мл	ОП=0,006	ОП=0,024
	**ОП крит = 0,157	ОП крит = 0,159

Примечание:

* ОП – оптическая плотность

** ОП крит - пороговое значение оптической плотности

**КРАТКАЯ СХЕМА ПОСТАНОВКИ ИФА
("АГАТ-ВИЧ-1,2+О")**

	Протокол анализа №1 Термостат	Протокол анализа №2 Термошейкер
Внести	В одну лунку - 70 мкл K^+_{AT} , в одну лунку - 70 мкл K^+_{AG} , в две лунки - по 70 мкл K^- . В остальные лунки - по 70 мкл исследуемых образцов. Во все лунки планшета - по 50 мкл рабочего раствора конъюгата-1 или готового к применению конъюгата-1	
Инкубация	60 мин, 37 °С	30 мин, 37 °С, 700 об/мин
Промыть	6 раз промывочным раствором (допускается использование 3 промывок)	
Внести	по 100 мкл рабочего раствора конъюгата-2 или готового к применению конъюгата-2 в каждую лунку	
Инкубация	30 мин, 37 °С	30 мин, 37 °С, 700 об/мин
Промыть	6 раз промывочным раствором (допускается использование 3 промывок)	
Внести	по 100 мкл субстратно-индикаторного раствора или РИ в каждую лунку	
Инкубация	20 мин, 37 °С (допускается инкубация при 18-25 °С)	
Внести	по 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку	
Измерить	ОП при 450 нм (референс 620-650 нм), «бланк» - по воздуху	



ПРОШЕТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 15 ЛИСТОВ

№ 06 10 2022 год

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

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

лист 06

Ген. директор ЗАО "ЭКОлаб"
Гашенко Т.Ю.
№ 06 10 2022 г.

