"УТВЕРЖДАЮ"
Генеральный директор
ЗАО "ЭКОлаб"
В.Ю.Борисов
"02" 08 2021 г.

ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов
«Тест-система иммуноферментная для выявления и подтверждения наличия антигена р24 вируса иммунодефицита человека 1 типа»
«ИФА-АГ-ВИЧ-1»

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления и подтверждения наличия антигена р24 вируса иммунодефицита человека 1 типа» «ИФА-АГ-ВИЧ-1» предназначен для выявления и подтверждения наличия антигена р24 ВИЧ-1 в сыворотке (плазме) крови человека методом иммуноферментного анализа (ИФА) на твердофазном носителе при "ручной" постановке и с использованием ИФА-анализаторов.

Функциональное назначение: скрининг, подтверждение и диагностика. Применение изделия не имеет популяционных и демографических ограничений.

Для однократного применения набора по назначению.

Для клинической лабораторной диагностики in vitro.

Показания и противопоказания к применению изделия

Изделие предназначено для обследования больных с симптомами ВИЧ-инфекции, лиц из группы риска и/или контактировавших с носителем или больным ВИЧ.

Противопоказаний не существует.

Потенциальные потребители изделия

Лабораторные подразделения лечебно-профилактических учреждений.

Профессиональный уровень потенциальных пользователей

Врач клинической лабораторной диагностики, медицинский лабораторный техник.

Описание целевого аналита, 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. В группе «М» выделяют несколько субтипов, имеющих буквенное англоязычное обозначение: от А до К. На территории России и ближнего зарубежья были обнаружены 8 субтипов ВИЧ-1 (A, B, C, D, E, F, G и H), в связи с чем важным является выявление ВИЧ-1 всех перечисленных субтипов. 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.

ЭЛЕКТРОННАЯ КОПИЯ ОФОРМЛЕНА ЦЕНТРОМ ИСПЫТАНИЙ И РЕГИСТРАЦИИ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ

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 p24/25 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 (СП 3.1.5.2826-10 «Профилактика ВИЧ-инфекции»).

СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

Иммуносорбент	моноклональные антитела к антигену p24 ВИЧ-1, сорбированные на 96-луночном разборном полистироловом планшете для иммунологических реакций с плоским дном	Комплект №1 2 планшета	Комплект №2 1 планшет
	допускается раздельная упаковка стрипов (по1-4 стрипа в пакете)		
Контрольный положительный образец ($К^{+}_{АГ}$)	инактивированный; содержит рекомбинантный антиген p24 ВИЧ-1 в концентрации 20 пг/мл; аморфная масса белого цвета с желтым оттенком, после растворения в 0,5 мл дистиллированной воды – опалесцирующая, слабо-желтого цвета жидкость	6 фл. (по 0,5 мл)	3 фл. (по 0,5 мл)
Контрольный отрицательный образец ($К^{-}$)	инактивированный; сыворотка крови человека, не содержащая антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2, ВГС, антиген p24 ВИЧ-1 и HBs-антиген; прозрачная жидкость светло-желтого цвета	2 фл. (по 3,0 мл)	1 фл. (3,0 мл)
Конъюгат-1	меченые биотином моноклональные человеческие антитела против антигена p24 ВИЧ-1; прозрачная синего цвета жидкость	1 фл. (1,0 мл)	1 фл. (0,5 мл)
Раствор для разведения конъюгата-1 (РРК-1)	прозрачная или слегка опалесцирующая, бесцветная жидкость, допускается образование осадка, разбивающегося при встряхивании	2 фл. (по 6,5 мл)	1 фл. (6,5 мл)
Конъюгат-2	стрептавидин, конъюгированный с пероксидазой хрена, прозрачная или слегка опалесцирующая, бесцветная жидкость	1 фл. (1,0 мл)	1 фл. (0,5 мл)
Раствор для разведения конъюгата-2 (РРК-2)	прозрачная розового цвета жидкость.	2 фл. (по 13 мл)	1 фл. (13 мл)
Субстратный буферный раствор (СБР)	прозрачная бесцветная жидкость	2 фл. (по 13 мл)	1 фл. (13 мл)
Хромоген (ТМБ)	прозрачная бесцветная или розового цвета жидкость	1 фл. (2,5 мл)	1 фл. (1,25 мл)
25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином [ФСБ-Т(х25)]	Прозрачная или слегка опалесцирующая, бесцветная жидкость, допускается выпадение кристаллического осадка, растворяющегося при температуре 37 °С в течение 30 мин	2 фл. (40 мл)	1 фл. (40 мл)

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

...филизат раствора ...разведения образцов (л-РРО)	лиофилизированный раствор нормального бараньего иммуноглобулина в концентрации, равной концентрации специфического иммуноглобулина в РПА; аморфная масса голубоватого цвета, после растворения в 3 мл – опалесцирующая слабо-голубого цвета жидкость	2 фл. (по 3,0 мл)	1 фл. (3,0 мл)
Лиофилизат раствора подтверждающего агента (л-РПА)	лиофилизированный препарат поликлональных бараньих антител к р24 антигену ВИЧ-1; аморфная масса розоватого цвета, после растворения в 3 мл – опалесцирующая слабо-розового цвета жидкость	2 фл. (по 3,0 мл)	1 фл. (3,0 мл)
Стоп-реагент	прозрачная бесцветная жидкость.	1 фл. (25 мл)	1 фл. (13,0 мл)
Одноразовые наконечники для автоматических пипеток		16 шт.	16 шт.

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

2. ФСБ-Т(х25), СБР, стоп-реагент – унифицированы для всех наборов ЗАО "ЭКО-лаб", в которых используются указанные реагенты. Допускается использование разных серий этих реагентов или их смешение.

3. Допускается использование ТМБ из разных серий набора.

4 К+, К- не содержат HBsAg, антитела к ВГС, ВИЧ-1,2.

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).

В составе изделия отсутствуют лекарственные средства и фармацевтические субстанции.

Набор укомплектован принадлежностями:

Вспомогательными пластиковыми (ПВХ) емкостями – 4 шт.

Клейкой пленкой для планшета – 4 шт.

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

По желанию потребителя базовая комплектация набора (число индивидуальных упаковок с реагентами и их объемы) может быть изменена.

ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Скрининговое исследование

Базовый вариант комплекта № 1 позволяет исследование 192 образцов, включая контрольные.

Базовый вариант комплекта № 2 позволяет исследование 96 образцов, включая контрольные.

На контрольные образцы в обоих комплектах используется 3 лунки. Предусмотрена возможность проведения раздельных исследований с использованием необходимого количества стрипов:

Число стрипов	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Число иссл. образцов	1-5	6-13	14-21	22-29	30-37	38-45	46-53	52-61	62-69	70-77	78-85	86-93

Подтверждающее исследование

Базовый вариант комплекта № 1 позволяет исследование 96 образцов, включая контрольные.

Базовый вариант комплекта № 2 позволяет исследование 48 образцов, включая контрольные.

На контрольные образцы в обоих комплектах используется 4 лунки, по 2 лунки на каждый исследуемый образец. Предусмотрена возможность проведения раздельных исследований с использованием необходимого количества стрипов:

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Число стрипов	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Число иссл. образцов	1-2	3-6	7-10	11-14	15-18	19-22	23-26	27-30	31-34	35-38	39-42	43-46

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

Выявление антигена р24

Во время первой инкубации происходит взаимодействие антигена р24 ВИЧ-1 с антителами к р24, иммобилизированными на лунках планшета. Образовавшийся комплекс "антиген-антитело" связывается с антителами к р24, конъюгированные с биотином (конъюгат-1). Во время второй инкубации стрептавидин, меченный пероксидазой хрена (конъюгат-2), образует связь с биотином. Образующийся комплекс [(анти-р24)-(р24 ВИЧ-1)-(анти-р24-биотин)-(стрептавидин-ПХ)] выявляется в цветной реакции с хромогеном.

Подтверждающее исследование

В основе метода подтверждения лежит реакция нейтрализации р24 ВИЧ-1 образца, предварительно выявленного, антителами р24 ВИЧ-1, содержащимися в РПА, что приводит к уменьшению оптической плотности по сравнению с контрольной лункой - РРО. Процент подавления (50% и более) служит критерием подтверждения наличия в образце р24 ВИЧ-1.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Аналитическая чувствительность (минимально определяемая концентрация р24 ВИЧ-1) – 2 пг/мл.

Чувствительность набора определяется по стандартной панели образцов предприятия, содержащих антиген р24 ВИЧ-1 ($СОП_{р24}^{+}$-043), как процентное содержание образцов, определенных набором как положительные, и составляет 100%..

Специфичность набора определяется по стандартной панели образцов предприятия, не содержащих антиген р24 ВИЧ-1 ($СОП\text{-}_{ВИЧ}^{-}$-040), как процентное содержание образцов, определенных набором как отрицательные, и составляет 100%.

Диагностическая чувствительность набора реагентов: 99,21 % (с доверительной вероятностью 95 %).

Диагностическая чувствительность для каждого вида биологического материала составила:
Сыворотка крови человека: 98,25 % - 100 %
Плазма крови человека: 98,58 % - 100%

Диагностическая специфичность набора реагентов: 99,61 % (с доверительной вероятностью 95 %).

Диагностическая специфичность для каждого вида биологического материала составила:
Сыворотка крови человека: 99,25 % - 100 %
Плазма крови человека: 99,17 % - 100%

Аналитическая специфичность:

При исследовании образцов с содержанием до 200 г/л гемоглобина, 120 мкмоль/л билирубина и 11 ммоль/л триглицеридов интерференция не наблюдалась.

ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Нативная сыворотка, плазма (с гепарином, ЭДТА, цитратом натрия) крови человека объемом не менее 100 мкл. (для подтверждающего исследования требуется дополнительно еще не менее 200 мкл).

Сбор биологического материала должен производиться в соответствии с ГОСТ Р 53079.4-2008 «Обеспечение качества клинических лабораторных исследований».

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

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, снижая качество исследуемого материала. С целью получения достоверных результатов исследования рекомендуется использовать только однократное замораживание-оттаивание образцов. Размороженные образцы перед исследованием тщательно перемешать.

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

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

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор биологически безопасен, однако с исследуемыми образцами необходимо обращаться как с потенциально инфицированным материалом.

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).

Л-РРО, л-РПА содержат мертиолят в безопасной концентрации. 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 соответствие 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 А - отходы, не имеющие контакта с биологическими жидкостями пациентов, инфекционными больными и классу Б (эпидемиологически опасные отходы) – инфицированные и потенциально инфицированные отходы, материалы и инструменты, предметы, загрязненные кровью и/или другими биологическими жидкостями.

Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствие 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 наконечниками полипропиленовыми одноразовыми.

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

Спектрофотометр 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.

Холодильник бытовой, фильтровальная бумага.

Термостатируемый шейкер на 500 об/мин, поддерживающий температуру (37°С ± 1°С)

Анализатор иммуноферментный.

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 СП 1.32322-08, кроме хлорсодержащих.

Приготовление рабочих растворов реагентов для 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 25 °С.

Приготовление рабочего промывочного раствора (ФСБ-Т)

Готовить за 15 мин. до проведения анализа.

При выпадении осадка солей в ФСБ-Т(х25) прогреть его при температуре 37 °С до полного растворения осадка, после чего охлаждают до комнатной температуры.

Для приготовления использовать соотношения объемов ФСБ-Т(х25) и воды, указанные в таблице 1 для разного числа стрипов.

Таблица 1

Число стрипов	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
ФСБ-Т(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

Готовый рабочий промывочный раствор хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 190 сут, при температуре от 18 до 25 °С – не более 30 суток.

Приготовление рабочего раствора конъюгата-1

Готовить не менее чем за 10 мин. до использования.

В соответствии с таблицей 2 из флакона с РРК-1 отобрать необходимый объем раствора и добавить к нему необходимый объём конъюгата-1. Раствор тщательно перемешать, не допуская образования пены.

Таблица 2

Число стрипов	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
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, мкл	1×a	2×a	3×a	4×a	5×a	6×a	7×a	8×a	9×a	10×a	11×a	13×a

Примечание: a - объем конъюгата-1 указывается для каждой серии набора.

Рабочий раствор конъюгата-1 стабилен 13 ч при температуре от 18 °С до 25 °С, и не более 6 месяцев при температуре от 2 °С до 8 °С.

Приготовление рабочего разведения антигена

Готовить не менее чем за 30 мин. до использования.

В соответствии с таблицей 3 из флакона с РРК-2 отобрать необходимый объем раствора и добавить к нему необходимый объём конъюгата-2. Раствор тщательно перемешать, не допуская образования пены.

Таблица 3

Число стрипов	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
РРК-2, мл	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	13
Конъюгат-2, мкл	1×b	2×b	3×b	4×b	5×b	6×b	7×b	8×b	9×b	10×b	11×b	13×b

Примечание: b - объем конъюгата-2 указывается для каждой серии набора.

Рабочий раствор конъюгата-2 стабилен 13 ч при температуре от 18 °С до 25 °С, и не более 6 месяцев при температуре от 2 °С до 8 °С.

Приготовление субстратно-индикаторного раствора

Готовить непосредственно перед использованием в защищенном от света месте.

В соответствии с таблицей 4 из флакона с СБР отобрать необходимый объем раствора и добавить к нему необходимый объем ТМБ. Раствор тщательно перемешать.

Таблица 4

Число стрипов	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
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

Субстратно-индикаторный раствор стабилен 13 ч при температуре от 18 °С до 25 °С.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Подготовка $К^{+}_{АГ}$

Содержимое флакона с лиофилизированным положительным контрольным образцом развести водой дистиллированной в объеме, указанном на этикетке контрольного положительного образца. Приготовленный раствор выдержать перед использованием не менее 10 мин при температуре от 18 до 25°С. Срок годности приготовленного раствора – не более 14 сут. при температуре от 2 до 8°С. При дробном использовании набора на протяжении более длительного срока (до конца срока годности набора) приготовленный раствор разлить по аликвотам (250 мкл) и хранить в замороженном состоянии.

Приготовление РРО

Содержимое флакона с лиофилизированным раствором для разведения образцов развести водой дистиллированной в объеме, указанном на этикетке РРО. Приготовленный раствор выдержать перед использованием не менее 10 мин при температуре от 18 до 25°С. Срок годности приготовленного раствора – не более 3 сут. при температуре от 2 до 8°С. При дробном использовании набора на протяжении более длительного срока (до конца срока годности набора) приготовленный раствор разлить по аликвотам (250 мкл) и хранить в замороженном состоянии.

Приготовление РПА

Содержимое флакона с лиофилизированным раствором подтверждающего агента развести водой дистиллированной в объеме, указанном на этикетке РПА. Приготовленный раствор выдержать перед использованием не менее 10 минут при температуре от 18 до 25°С. Срок годности приготовленного раствора – не более 3 сут. при температуре от 2 до 8°С. При дробном использовании набора на протяжении более длительного срока (до конца срока годности набора) приготовленный раствор разлить по аликвотам (250 мкл) и хранить в замороженном состоянии.

Подготовка остальных реагентов

Иммуносорбент, $К^{-}$, стоп-реагент готовы к использованию.

Неиспользованные реагенты (кроме иммуносорбента) могут храниться в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°С до конца срока годности набора.

Проведение ИФА

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

1.1. 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.

1.2. В одну лунку внести **100 мкл $К^{+}_{АГ}$**, в две лунки – по **100 мкл $К^{-}$**. В остальные лунки внести по **100 мкл** исследуемых образцов.

Сразу после внесения контрольных и исследуемых образцов внести во все лунки по **50 мкл** рабочего раствора конъюгата -1.

1.3. Планшет накрыть крышкой или заклеить клейкой пленкой и инкубировать в течение **60 мин** на шейкере при температуре **37°С** и скорости вращения платформы **500 об/мин**.

Сохранность иммуносорбента между операциями 15 мин.

1.4. По окончании инкубации аспирировать содержимое лунок и 4 раза промыть лунки планшета рабочим промывочным раствором ФСБ-Т, добавляя в каждую лунку не менее 350-370 мкл раствора. Время между заполнением и аспирацией (замачиванием) должно быть не менее 30 сек.

Рекомендуется использовать:

- режим отмывки с переполнением – «overflow» - с внесением в лунки по 500-700 мкл рабочего промывочного раствора;
- поперечную аспирацию раствора из лунок – режим «crosswise».

Необходимо следить за полной аспирацией после каждого цикла отмывки (остаточный объем в лунках не должен превышать 10 мкл).

1.5. Во все лунки внести по **100 мкл** рабочего раствора конъюгата-2.

1.6. Планшет накрыть крышкой или заклеить клейкой пленкой и инкубировать в течение **30 мин** на шейкере при температуре **37°С** и скорости вращения платформы **500 об/мин**.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

1.8 По окончании инкубации аспирировать содержимое лунок и 4 раза промыть лунки планшета рабочим промывочным раствором ФСБ-Т, как указано в п. 1.5.

1.9. Внести в каждую лунку по **100 мкл** субстратно-индикаторного раствора, немедленно поместить планшет в защищенное от света место и выдержать в течение **25 мин** при температуре от 18 до 25°С.

1.10. Во все лунки (в той же последовательности, с которой вносился субстратно-индикаторный раствор) внести по **100 мкл** стоп-реагента, осторожно (постукиванием по планшету) перемешать содержимое лунок и не более чем через 5 мин приступить к учету результатов.

Регистрация и учет результатов

Результаты ИФА регистрировать спектрофотометрически, измеряя оптическую плотность (ОП) при длине волны 450 нм с использованием фильтра сравнения с длиной волны 620-650 нм (допустимо использование измерения при одной длине волны 450 нм). Нулевой уровень ("бланк") установить по воздуху.

Результаты учитывать только при соблюдении следующих условий:

среднее значение ОП в лунках с $К^-$ ($ОП_{К\text{-}ср}$) не более 0,2;

значение ОП в лунке с $К^+_{АГ}$ ($ОП_{К+}$) не менее 1,0.

Рассчитать $ОП_{крит}$ по формуле

$$ОП_{крит} = ОП_{К\text{-}ср} + 0{,}06,$$

где $ОП_{К\text{-}ср}$ – среднее значение $ОП_{К-}$,

0,06 – стандартный коэффициент.

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

Образцы с показателями равными или превышающими $ОП_{крит}$ считать **положительными**; ***для окончательного заключения их необходимо повторно исследовать в двух лунках для подтверждения первоначального результата***. Если при повторном исследовании значение ОП в обеих лунках меньше $ОП_{крит}$, , то образец расценивать как **отрицательный**. Если при повторной постановке хотя бы в одной лунке величина ОП равна или больше $ОП_{крит}$, то образец должен быть протестирован в подтверждающем тесте, основанном на реакции нейтрализации.

2. Проведение ИФА при подверждающем исследовании

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

2.1. 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.

2.2. Стрипы промыть один раз рабочим промывочным раствором ФСБ-Т, как указано в п. 1.2.

2.3. В лунки стрипов для неконкурентного ИФА внести по **50 мкл** РРО, а в лунки стрипов для конкурентного ИФА – по **50 мкл** РПА.

2.4. В две лунки (с РРО и с РПА) внести по **100 мкл** $К^+_{АГ}$ в две лунки (с РРО и с РПА) – по **100 мкл** $К^-$. В остальные лунки внести по **100 мкл** исследуемых образцов, каждый образец вносится параллельно в лунки для неконкурентного (с РРО) и конкурентного (с РПА) ИФА.

Сразу после внесения контрольных и исследуемых образцов внести во все лунки по **50 мкл** рабочего раствора конъюгата -1.

2.5. Провести анализ как указано в п.п. 1.4.-1.10.

Регистрация и учет результатов подтверждающего исследования

Регистрацию и учет результатов проводить, как указано выше.

Рассчитать процент подавления (ПП) по формуле

$$ПП = \frac{ОП_{неконк.ИФА} - ОП_{конк.ИФА}}{ОП_{неконк.ИФА}} \times 100\%$$

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Реакцию нейтрализации в исследуемых образцах (подтверждение выявления антигена p24 ВИЧ-1) следует учитывать только при условии, что ПП $К^{+}_{АГ}$ равен или превышает 50%.

Образец считается **положительным**, если ОП в лунке неконкурентного ИФА больше $ОП_{крит}$ и ПП для него равен или больше 50%.

Образец считается **отрицательным**:

- если $ОП_{обр}$ в неконкурентном ИФА меньше $ОП_{крит}$ независимо от результатов конкурентного ИФА
- если $ОП_{обр}$ в неконкурентном ИФА меньше 1,5, а ПП меньше 50%.

Если ОП образца в лунках неконкурентного и конкурентного ИФА больше 1,5 и ПП при этом меньше 50%, в этом случае образец необходимо развести в 10 раз и повторить анализ. Если ОП разведенного образца больше $ОП_{крит}$ (см учет результатов при качественном исследовании) и ПП для него равен или больше 50%, то образец считается **положительным** (подтвержденным). Если ПП меньше 50% и при этом сохраняется высокая оптическая плотность образца, то его необходимо развести в 100 или в 1000 раз и повторить анализ. Если ОП такого разведенного образца больше $ОП_{крит}$ и ПП для него равен или больше 50%, то образец считается **положительным** (подтвержденным), если ПП меньше 50% - **отрицательным** независимо от результатов неконкурентного и конкурентного ИФА.

ПОСТАНОВКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИФА-АНАЛИЗАТОРОВ

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

СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности набора – 18 месяцев. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

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.

После вскрытия упаковок неиспользованные реагенты допускается хранить в плотно закрытых упаковках в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности.

Транспортирование

Замораживание не допускается.

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 25 °С в течение 15 сут.

УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для учреждений здравоохранения.

ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления и подтверждения наличия антигена p24 вируса иммунодефицита человека 1 типа» «ИФА-АГ-ВИЧ-1» соответствует ТУ 9398-135-70423725-2020, Национальным стандартам РФ и нормативным документам в части требований безопасности и эффективности. По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться по адресу: 142530 Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1-1а, Закрытое Акционерное Об-

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

о «ЭКОлаб» (ЗАО "ЭКОлаб"); тел. 8(49643) 3-23-11; 3-30-93; тел./ факс (49643)3-30-85; тел. 8-933-33-47, ekolab-sekretar@mail.ru.

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. все спорные исследуемые образцы пациентов;
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.

Директор ЗАО "ЭКОлаб" по научной работе С.Г.Марданлы

"СОГЛАСОВАНО"

Генеральный директор ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР» П.К. Варнавичус

«02» 08 2021 г.

КРАТКАЯ СХЕМА ПОСТАНОВКИ ИФА (ИФА-АГ-ВИЧ-1)

Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!		
Внести	***Выявление антигена р24***	***Подтверждающее исследование***
	в одну лунку – 100 мкл $К^{+}_{АГ}$, в две лунки – по 100 мкл $К^{-}$, в остальные лунки – по 100 мкл исследуемых сывороток; во все лунки – по 50 мкл рабочего раствора конъюгата -1	в лунки стрипов для неконкурентного ИФА – по 50 мкл РРО, в лунки стрипов для конкурентного ИФА – по 50 мкл РПА; в две лунки (с РРО и с РПА) – по 100 мкл $К^{+}_{АГ}$ в две лунки (с РРО и с РПА) – по 100 мкл $К^{-}$; в остальные лунки – по 100 мкл исследуемых образцов (параллельно в лунки для неконкурентного и конкурентного ИФА); во все лунки – по 50 мкл рабочего раствора конъюгата -1.
Инкубация	60 мин, 37°С на шейкере (500 об/мин)	
Промыть	4 раза рабочим промывочным раствором	
Внести	по 100 мкл конъюгата-2 в каждую лунку	
Инкубация	30 мин, 37°С на шейкере (500 об/мин)	
Промыть	4 раза рабочим промывочным раствором	
Внести	по 100 мкл рабочего субстратно-индикаторного раствора в каждую лунку	
Инкубация	25 мин, 18-25°С в защищенном от света месте	
Внести	по 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку	
Измерить	ОП при 450 нм (референс 620-650 нм), «бланк» - по воздуху	

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

ПРОШИТО
И КОЛИЧЕСТВЕ 10 ЛИСТОВ
«02» 08 2021 год
Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичус П.К.

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью
10 лист
Ген. Директор ЗАО "ЭКОлаб"
Борисов В.Ю.
08 2021 г.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU