

## НАБОР ИФА

# ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИГЕНОВ/АНТИТЕЛ ВИРУСА ИММУНОДЕФИЦИТА ВИЧ 1+2

### 1520-12, HIV 1+2 Ag/Ab ELISA

Каталог. № : 1520-12  
Количество : 96  
Производитель: DAI (США)

Методика от 06-09-2013



Основой при проведении анализа является оригинал инструкции на английском языке, вложенной в набор. Номер и дата версии оригинала и перевода инструкции должны совпадать.

| Анализ                | ВИЧ 1+2 Ag/Ab ELISA  |
|-----------------------|--|
| Метод                 | Твердофазный иммуноферментный анализ   |
| Принцип               | ИФА: сэндвич; двойной антиген и антитело                                     |
| Дальность обнаружения | Качественный: положительный, отрицательный и пороговый (cut-off) калибраторы |
| Образец               | 100 мкл сыворотки  |
| Специфичность         | 100%   |
| Чувствительность      | 100%   |
| Общее время           | ~ 105 мин  |
| Срок хранения         | 12-18 мес. с даты производства   |

*\*Результаты лабораторного исследования не могут быть единственной основой медицинского заключения. Нужно учитывать историю болезни пациента и результаты последующих анализов.*

#### НАЗНАЧЕНИЕ

Набор ИФА ВИЧ 1+2 Ab/Ag является твердофазным иммуноферментным анализом 4-го поколения для качественного определения антигенов или антител к вирусу иммунодефицита человека (ВИЧ) типа 1 и/или 2 в человеческой сыворотке или плазме. Предназначен для скрининга донорской крови или как вспомогательный анализ для диагностики клинических заболеваний, связанных с инфицированием ВИЧ и относится к синдрому приобретенного иммунодефицита (СПИДу).

#### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ОБЪЯСНЕНИЯ

(См. в оригинале инструкции).

#### ПРИНЦИП МЕТОДА

Набор ИФА ВИЧ 1+2 Ab/Ag является твердофазным иммуноферментным анализом типа «сэндвич» с двойной инкубацией, в котором используются полистироловые микропланшетные стрипы, покрытые рекомбинирующими антигенами ВИЧ, проявляющимися в кишечной палочке (рекомбинант ВИЧ-1gp41, gp-120 и рекомбинант ВИЧ-2 gp-36). Перед первым этапом инкубации биотинилированные анти-ВИЧ (p24) антитела добавляются в лунки вместе с образцом сыворотки / плазмы пациента. Если какой-либо конкретные ВИЧ- 1/2 антитела присутствуют в образце, то они будут захвачены в лунке во время первой инкубации. В то же время, что также будет захвачено, так это ВИЧ p24 антиген (если присутствует). Этот захват считается двойным сэндвич-комплексом антитела, который состоит из покрытых антителами к p24 биотинилированных антител. После этого несвязанные белки сыворотки вымываются из лунок.

На второй стадии инкубации фермент пероксидазы хрена (HRP) добавляется для того, чтобы обнаружить комплекс захваченных ВИЧ p24 антиген-биотинилированных антител (или ВИЧ-1/2 антител). HRP конъюгируется со вторыми рекомбинантными антигенами ВИЧ 1+2 и авидином.

**Обнаружение p24:** после захвата p24 в лунках авидин будет реагировать с биотином и прикрепит HRP к комплексу Ab-P24-Ab.

**Обнаружение ВИЧ-1/2 антитела:** после захвата ВИЧ 1/2 антител в лунках, эти захваченные антитела связываются с HRP-конъюгированными антигенами, образуя сэндвич-иммунокомплекс Ag- Ab -Ag (HRP).

После этих этапов, несвязанный конъюгат удаляют промыванием лунок. Добавляют в лунки на этом этапе растворы хромогена. Продукт синего цвета продукт производится когда хромогены гидролизуются в лунках связанным HRP, содержащим иммунные комплексы типа сэндвич Ag-Ab-Ag (HRP) и / или Ab-на - Ab (HRP).

После остановки реакции серной кислотой синий цвет изменяется на желтый. Интенсивность цвета пропорциональна количеству антител или p24, захваченный в лунках, и образцу соответственно. Бесцветные лунки появляются, когда образцы являются негативными к анти-ВИЧ- 1/2 или p24.

#### ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

##### 1. Микролуночный планшет

Микролуночные стрипы с бланками помещены на белый держатель. Планшет храниться в фольговом пакете с осушителем. 8×12/12×8-луночный планшет. Каждая лунка содержит рекомбинирующие антигены ВИЧ 1+2 и антитела к p24. Микролуночные стрипы могут разделяться с целью использования отдельно. Неиспользуемые лунки или стрипы нужно помещать в герметизирующий пластиковый пакет с поглотителем влаги и вернуть к температуре 2-8°C – 1 планшет.

##### 2. Отрицательный контроль – 1 флакон

Желтоватая жидкость во флаконе с зеленым колпачком, 1 мл на флакон.

Стабилизированный белком буфер, неактивный к ВИЧ 1+2.

Консерванты: 0,1% ProClin 300.

Готов к использованию.

После открытия остается стабильным на протяжении месяца при температуре 2-8°C.

##### 3. Антител положительный контроль-1 (ВИЧ 1) – 1 флакон

Жидкость красного цвета во флаконе с красным колпачком. 1 мл на флакон.

Антитела к ВИЧ 1, разведенные буфером, стабилизированным белком.

Консерванты: 0,1% ProClin 300.

Готов к использованию.

После открытия остается стабильным на протяжении месяца при температуре 2-8°C.

##### 4. Антител положительный контроль-2 (ВИЧ 2) – 1 флакон

Жидкость красного цвета во флаконе с желтым колпачком. 1 мл на флакон.

Антитела к ВИЧ 2, разведенные буфером, стабилизированным белком.

Консерванты: 0,1% ProClin 300.

Готов к использованию.

После открытия остается стабильным на протяжении месяца при температуре 2-8°C.

##### 5. Антигенов положительный контроль – 1 флакон

Жидкость красного цвета во флаконе с синим/коричневым колпачком. 1 мл на флакон.

Рекомбинантный антиген ВИЧ p24, разведенный буфером, стабилизированным белком.

Консерванты: 0,1% ProClin 300.

Готов к использованию.

После открытия остается стабильным на протяжении месяца при температуре 2-8°C.

##### 6. Конъюгат пероксидазы хрена – 1 флакон

Жидкость красного цвета в белом флаконе с красным/оранжевым колпачком. 12 мл на флакон.

Антигены ВИЧ 1+2, конъюгированные пероксидазой хрена.

Готов к использованию.

После открытия остается стабильным на протяжении месяца при температуре 2-8°C.

##### 7. Биотин-конъюгированный реагент – 1 флакон

Жидкость цвета цвета во флаконе с синим колпачком. 3,5 мл на флакон.

Биотинилированные ВИЧ-антитела к p24, разведенные буфером, стабилизированным белком.

Консерванты: 0,1% ProClin 300.

Готов к использованию.

После открытия остается стабильным на протяжении месяца при температуре 2-8°C.

##### 8. Промывочный буфер – 1 флакон

Бесцветная жидкость в прозрачной бутылке с белым колпачком. 50 мл на флакон.

РН 7,4 20 × PBS. (Содержит полисорбат Твин 20 в качестве детергента)

РАЗБАВИТЬ ПЕРЕД ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ: концентрат нужно разбавить 1 до 20 деионизированной или дистиллированной водой.

После разбавления остается стабильным на протяжении недели при комнатной температуре, и двух недель – при температуре 2-8°C.

##### 9. Раствор хромогена А – 1 флакон

Бесцветная жидкость в белом флаконе с зеленым колпачком. 6 мл на флакон.

Раствор перекиси мочевины.

Готов к использованию.

После открытия остается стабильным на протяжении месяца при температуре 2-8°C.

##### 10. Раствор хромогена В – 1 флакон

Бесцветная жидкость в коричневом флаконе с коричневым колпачком. 6 мл на флакон, ТМВ-раствор (тетраметил-бензидин, растворенный в лимонной кислоте).

Готов к использованию.

После открытия остается стабильным на протяжении месяца при температуре 2-8°C.

#### 11. Стоп раствор – 1 флакон

Бесцветная жидкость в белом флаконе с желтым колпачком. 6 мл, разведенный раствором серной кислоты (2.0M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>).

#### 12. Герметизирующий пластиковый пакет – 1 шт.

Для хранения неиспользуемых стрипов.

#### 13. Картонная крышка для планшета – 2 листа

Для накрывания планшета во время инкубации и избегания испарения или заражения лунок.

#### 14. Листок-вкладыш с инструкцией – 1 экземпляр

### НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

1. Деионизированная или дистиллированная вода.
2. Одноразовые перчатки и таймер.
3. Подходящий контейнер отходов для потенциально зараженных материалов.
4. Одноразовые клинообразные лотки
5. Дозаторная установка и/или пипетка (одно- или многоканальная), одноразовые наконечники для пипеток.
6. Абсорбирующая бумага или чистое полотенце
7. Сухой инкубатор или водяная ванна, 37±0,5°C.
8. Микрошейкер для разбавления и смешивания конъюгата с образцами.
9. Микропланшетный ридер с одной длиной волны 450 нм или двойной длиной волны 450 и 630 нм.
10. Аспирационная/промывающая система для микролунок.

### СБОР, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

1. Сбор образцов: Для данного анализа могут использоваться образцы свежей сыворотки или плазмы. Кровь, собрана венепункцией, должна естественным способом и полностью свернуться – сыворотку/плазму следует отделить от свернувшейся крови как можно раньше во избежание гемолиза эритроцитов. Необходимо убедиться в том, что образцы чисты и не заражены микроорганизмами. Все видимые твердые частицы, находящиеся в образце, должны быть удалены центрифугированием при частоте 3000 оборотов в минуту на протяжении мин. 20 минут при комнатной температуре, или же с помощью фильтрации на 0,22μ фильтрах. Образцы плазмы, собранные в EDTA, цитрат натрия или гепарин могут использоваться для анализа, однако высоко липемических, иктерических или гемолизированных образцов следует избегать, так как они могут давать ложные результаты. Не инaktivируйте образцы нагреванием, это может им навредить.
2. ТРАНСПОРТИРОВКА И ХРАНЕНИЕ: Храните образцы при 2-8 °C. Образцы, не предназначены для анализа в течение 3 дней, должны замораживаться (-20°C или ниже). Следует избегать многократного размораживания-замораживания. Образцы для транспортировки должны быть запечатаны и маркированы в соответствии с действующими местными и международными правилами транспортирования клинических образцов и этиологических возбудителей.

### ОСОБЫЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ПРОМЫВАНИЮ

1. Тщательное промывание очень важно для получения правильных и точных аналитических данных.
2. Поэтому рекомендуется использовать качественный микролуночный промывочный аппарат для ИФА, выполняющий на должном уровне процедуру промывания. В среднем требуется не менее 5 автоматических циклов промывания 350-400 мкл/лунку, чтобы избежать ложноположительных реакций и высокого фона.
3. Во избежание перекрестной контаминации планшета с образцами или конъюгатом пероксидазы хрена, не выбрасывайте содержимое лунок после инкубации; пускай устройства для промывания планшета удалит жидкость автоматически.
4. Рекомендуется калибровать промывочную систему на самом наборе, чтобы совпадали аналитические рабочие характеристики. Удостоверьтесь в том, что каналы дозирования жидкости промывочного устройства не заблокированы и не загрязнены, а в лунки каждый раз подается достаточное количество промывочного буфера.
5. В случае ручного промывания мы рекомендуем проводить 5 сеансов распределения (по 350/400 мкл/лунку) и удаления жидкости. Если результат неточный (высокий фон), нужно увеличить количество промывочных процедур или время выдержки в лунке.

6. В любом случае, после удаления жидкости из стрипов, их необходимо хранить в растворе гипохлорита натрия при конечной концентрации 2,5% на протяжении 24 часов, перед тем как надлежащим образом промыть их.
7. Концентрат промывочного раствора перед использованием нужно разбавит 1 до 2. Для одного планшета смешайте 50 мл концентрата и 950 мл воды, получив в конечном итоге 1000 мл промывочного буфера. При использовании неполного планшета, подготовьте пропорциональное количество раствора.

### ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Если хранить компоненты набора при температуре 2-8°C, они будут стабильными до окончания срока пригодности. Смотрите дату, указанную на этикетке набора. **Не замораживайте.** Чтобы обеспечить максимальную точность данного набора, защищайте реагенты от загрязнения микроорганизмами или химикатами во время хранения.

### ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ И БЕЗОПАСНОСТЬ

#### Данный набор предназначен только для диагностики ин-витро! ТОЛЬКО ДЛЯ ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ.

Данный анализ является методом, чувствительным к времени и температуре. Чтобы избежать ложных результатов, строго придерживайтесь процедуры схемы анализа, не изменяя ее.

1. Не используйте реагенты с разных лотов или других наборов. Компоненты набора подобраны точно, чтобы обеспечить максимальную результативность анализа.
2. Уверьтесь в том, что срок годности реагентов не истек, а также, что они из одного лота. Не используйте реагенты после окончания срока пригодности, указанного на этикетках реагентов или упаковке набора.
3. ВНИМАНИЕ – КРИТИЧЕСКИЙ ШАГ: Все реагенты и образцы необходимо привести к комнатной температуре (18-30°) до начала теста. Слегка встряхните реагент перед использованием, и верните к температуре 2-8°C сразу после использования.
4. используйте только достаточное количество образцов, как указано в схеме анализа. В противном случае чувствительность анализа может оказаться очень низкой.
5. Не касайтесь внешней стороны дна лунок; отпечатки пальцев или царапины могут препятствовать считыванию.
6. При считывании результатов уверьтесь в том, что дно планшета сухое, а внутри лунок нету воздушных пузырьков.
7. Никогда не давайте лункам микропланшета высохнуть после промывания. Переходите немедленно к следующему этапу. При добавлении реагентов избегайте образования воздушных пузырьков.
8. Избегайте длительных пауз между этапами анализа. Обеспечьте одинаковые рабочие условия для всех лунок.
9. Часто калибруйте пипетки, чтобы обеспечить точность дозирования образцов/реагентов. Всегда используйте новые одноразовые наконечники для каждого образца и реагента во избежание перекрестной контаминации. Никогда не пипетируйте растворы ртом. Рекомендуется использование автоматических пипеток.
10. Уверьтесь в том, что инкубационная температура внутри инкубатора составляет 37°C.
11. Добавляя образцы, избегайте касания наконечника пипетки дна лунки.
12. При считывании результатов планшетным ридером, рекомендуется установить абсорбцию при 450нм или при 450 нм со ссылкой на 630 нм.
13. Обращайтесь со всеми реагентами и образцами человеческого происхождения как с потенциально инфицированными.
14. В наборе могли быть использованы материалы человеческого происхождения. Они тестировались наборами высокой результативности и являются отрицательными к антителам ВИЧ 1+2 антигены/антитела, вирусу гепатита С, ТР и поверхностному антигену вируса гепатита В. Однако, не существует аналитического метода, способного уверить в полном отсутствии возбудителя инфекции в образцах или реагентах. Поэтому необходимо очень аккуратно обращаться с реагентами и образцами. Строгое соблюдение правил лабораторной практики может обеспечить личную безопасность. Никогда не ежьте, не пейте, не курите и не наносите косметику в лаборатории.
15. В данном наборе могла использоваться бычья сыворотка. Альбумин бычьей сыворотки и сыворотка зародыша теленка взяты у животных, проживающих в географических зонах, безопасных по отношению к возможности заражения ГЭ КРС и ТГЭ.
16. Перед дальнейшей утилизацией все наконечники для пипеток, флаконы, стрипы и контейнеры для образцов необходимо

собрать и подвергнуть паровой стерилизации на протяжении 1 часа при температуре 121°C, либо же обработать гипохлоритом натрия на протяжении 30 минут с целью обеззараживания.

17. Стоп-раствор (2М H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) является сильной кислотой. Едкий. Использовать осторожно. В случае попадания капель на кожу или в глаза, немедленно вытереть или промыть водой. Консервант ProClin 300 может вызывать чувствительность кожи.
18. Ферментативная активность конъюгата пероксидазы хрена может пострадать от пыли, реактивных химикатов, растворов типа гипохлорита натрия, кислоты, щелочей и т.д. НЕ проводить анализ в присутствии данных веществ.
19. Сертификат безопасности материала доступен по требованию.
20. В случае использования полностью автоматизированной системы обработки данных микропланшета, не накрывайте планшет крышкой во время инкубации. Можно также упустить выбивание остатков из планшета после промывания.

## ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. **Подготовка реагентов:** Все реагенты следует вынуть из рефрижератора и привести к комнатной температуре перед использованием (18-30°C). Проверьте, нет ли в концентрате промывочного буфера кристаллов соли. В случае образования кристаллов, нужно повысить растворимость, подогрев его при 37°C, пока кристаллы не растворятся. Растворите промывочный буфер 1:20 дистиллированной или деионизированной водой. Используйте только чистые сосуды для растворения.
2. **Нумерация лунки:** Установите необходимое количество стрипов в держатель и отсчитайте достаточное количество лунок, включая три лунки для отрицательных контролей (напр., В1, С1, D1), две для положительных контролей (одну для ВИЧ 1 и одну для ВИЧ 2-контролей, напр., Е1, F1) и один бланк (напр., А1, в лунку для бланка не должен добавляться ни образец, ни конъюгат ПХ). Если результаты. **Если считывание результатов будет проводиться с использованием планшетного ридера с двойной длиной волны, требование по использованию лунки бланка можно упустить. Где допустимо не использовать положительный контроль ВИЧ-2.**
3. **Добавление биотин-конъюгированного реагента:** Добавьте 20 мкл биотинилированных антител к ВИЧ р24 в соответствующие лунки, кроме лунки бланка.
4. **Добавление образцов:** Добавьте 100 мкл положительных контролей, отрицательных контролей и образцов в соответствующие лунки. **(Внимание:** во избежание перекрестной контаминации используйте отдельные одноразовые наконечники для пипеток для каждого образца, отрицательного и положительного контроля).
5. **Инкубирование (1):** Накройте планшет крышкой и инкубируйте на протяжении 60 минут при температуре 37°C. Рекомендуется использовать регулируемый термостатом бак для воды, чтобы обеспечить стабильность температуры и влажности во время инкубации. При использовании сухого инкубатора, не открывайте часто дверь.
6. **Промывание (1):** По завершению инкубации заберите и выбросьте крышку для планшета. Промойте каждую лунку 5 раз разведенным промывочным буфером. Во время каждого промывания дайте лункам пропитаться раствором на протяжении 30-60 секунд. После последнего цикла промывания, переверните планшет на промокательную бумагу или чистое полотенце. И постучите по нему, чтоб удалить остатки жидкости.
7. **Добавление конъюгата преоксидазы хрена:** добавьте 100 мкл конъюгата преоксидазы хрена в каждую лунку, кроме бланка.
8. **Инкубирование (2):** Накройте планшет крышкой и инкубируйте на протяжении 30 минут при температуре 37°C.
9. **Промывание (2):** По завершению инкубации заберите и выбросьте крышку для планшета. Промойте каждую лунку 5 раз разведенным промывочным буфером, как описано в п. 5.
10. **Окрашивание:** накапайте 50 мкл раствора хромогена А и 50 мкл раствора хромогена В в каждую лунку, **включая бланк.** Накройте планшет крышкой и перемешайте, слегка постукивая по планшету. Инкубируйте планшет при температуре 37°C **на протяжении 15 минут без света.** Ферментная реакция между растворами хромогена и конъюгатом образует голубой цвет в лунках с положительным контролем и ВИЧ 1+2 антигена/антитела –положительными образцами.
11. **Остановка реакции:** Уберите и выбросьте крышку планшета. С помощью многоканальной пипетки или вручную, добавьте 50 мкл стоп-раствора в каждую лунку и слегка перемешайте. В лунках с положительным контролем и образцами ВИЧ 1+2 антигена/антитела образцовывается интенсивный желтый цвет.

12. **Измерение абсорбции:** Откалибруйте планшетный считыватель с лункой бланка и считайте абсорбцию при 450 нм. При использовании аппарата с двойным фильтром, установите опорную длину волны на 630 нм. Подсчитайте пороговое значение и определите результат. **(ВНИМАНИЕ: Считайте абсорбцию на протяжении 15 минут после остановки реакции!)**

## ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ И КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

При расчете и интерпретации результатов каждый микропланшет должен рассматриваться отдельно, независимо от количества параллельно обрабатываемых планшетов. Результат рассчитывается соотношением значения оптической плотности (ОП) каждого образца с пороговым значением (ПЗ) планшета. Если считывание ПЗ основано на планшетном ридере с одним фильтром, результаты рассчитываются вычитанием значения ОП лунки бланка из значений образцов и контролей печатных отчетов. Если же считывание основано на планшетном ридере с двойным фильтром, вычитать значения ОП лунки бланка из значений образцов и контролей печатных отчетов не нужно.

### 1. Расчет порогового значения: $PЗ = *Ок + 0,12$

\*Ок = среднее значение абсорбции трех отрицательных контролей.

Например:

#### 1. Расчет Ок:

|                                     |       |       |       |
|-------------------------------------|-------|-------|-------|
| Лунка №:                            | В1    | С1    | D1    |
| Значение ОП отрицательных контролей | 0.032 | 0.031 | 0.027 |

Ок = 0,030

#### 2. Расчет ПЗ: $(ПЗ) = 0,030 + 0,12 = 0,150$

Если одно из значений отрицательных контролей не отвечает спецификациям контроля качества, его следует исключить и рассчитать среднее значение еще раз, используя оставшиеся два значения. Если спецификация КК не отвечает более одного значения ОП отрицательных контролей, анализ неверный и требует повторения.

### 2. Диапазон контроля качества

Результаты анализа являются действительными, если придерживаться критериев контроля качества. Каждой лаборатории рекомендуется установить подходящую систему контроля качества с материалом контроля качества, похожим или идентичным анализируемому образцу пациента.

1. Значение ОП лунки бланка, содержащей только хромоген и стоп-раствор, меньше 0,080 при 450 нм.
2. Значение ОП положительного контроля должно равняться или превышать 0,800 при 450/630 нм, или при 450 нм после бланкирования.
3. Значение ОП отрицательного контроля должно быть меньше 0,100 при 450/630 нм, или при 450 нм после бланкирования.

### 3. Интерпретация результатов

(S = индивидуальная абсорбция (ОП) каждого образца)

**Отрицательный результат ( $S/ПЗ < 1$ ):** образцы, проявляющие абсорбцию ниже порогового значения, являются отрицательными для данного анализа, что указывает на отсутствие антител к ВИЧ ½ или антигену р24. Таким образом, пациент, скорее всего, не инфицирован, либо же доза крови не содержит антител к ВИЧ 1+2 или антигену р24 и могла быть перелита.

**Положительный результат ( $S/ПЗ \geq 1$ ):** образцы, проявляющие абсорбцию равную или выше порогового значения, считаются изначально реактивными, что указывает на вероятное наличие антител к ВИЧ ½ или антигену р24. Для всех исходно реактивных образцов рекомендуется повторное исследование в дубле. Повторно реактивные образцы считаются положительными к антителам ВИЧ 1+2 или антигену р24, то есть пациент, скорее всего, инфицирован этим вирусом. Любую дозу крови, содержащую антитела/антигены ВИЧ следует немедленно утилизировать.

**Сомнительный результат ( $S/ПЗ = 0,9 - 1,1$ ):** Образцы со значениями соотношения абсорбции и ПЗ в диапазоне между 0,9 и 1,1 считаются сомнительными, рекомендуется провести повторный анализ этих образцов в дубле для подтверждения результата. Повторно положительные образцы считаются положительными к антителам или антигену р24 ВИЧ 1+2. Перед составлением окончательного диагноза требуется провести последующие и дополнительные исследования позитивных образцов другими аналитическими системами (напр., ПЦР и др.).

**Аналитическая чувствительность** набора для определения антигена р24 составляет приблизительно 5пг/мл.

## РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

**Исследование 1:** В исследовании рабочих характеристик настоящий набор продемонстрировал 100% чувствительность обнаружения ВИЧ-инфекции. Продемонстрированная специфичность 99,76%.

| Samples Type         | Samples No. | +   | -    | Positive (WB) | Specificity | Sensitivity |
|----------------------|-------------|-----|------|---------------|-------------|-------------|
| Healthy blood donors | 2968        | 7   | 2961 | 0             | 99.76%      | —           |
| High Risk population | 1462        | 181 | 1281 | 178           | 99.76%      | 100%        |

**Исследование 2:** Для оценки рабочих характеристик анализа было организовано исследование в нескольких местах. Чувствительность обнаружения ВИЧ инфекции составила 100%. Продемонстрированная специфичность 99,80%.

| Site       | Samples | No.   | HIV (1+2) Ag&Ab ELISA |      |
|------------|---------|-------|-----------------------|------|
|            |         |       | +                     | -    |
| Blood bank | -       | 2685  | 2                     | 2683 |
| Hospital   | +       | 297   | 297                   | 0    |
|            | -       | 203   | 0                     | 203  |
| Blood bank | +       | 120   | 120                   | 0    |
|            | -       | 4860  | 12                    | 4848 |
| Ref.lab    | +       | 132   | 132                   | 0    |
|            | -       | 1011  | 5                     | 1006 |
| Hospital   | +       | 128   | 128                   | 0    |
|            | -       | 72    | 3                     | 69   |
| Total      | +       | 677   | Sensitivity 100%      |      |
|            | -       | 8.831 | Specificity 99.80%    |      |

**Исследование 3** (Сравнение с другими наборами):

Рабочие характеристики этого набора ИФА сравнивались с тремя другими коммерчески доступными наборами для выявления антител к ВИЧ или ВИЧ-антигенов и антител. Общее совпадение составило 99,89-100%.

|   | HIV (1+2) Ag&Ab ELISA |     |      |       |
|---|-----------------------|-----|------|-------|
|   |                       | +   | -    | TOTAL |
| EIA-1 (HIV-Ag/Ab)                             | +                     | 297 | 0    | 297   |
|   | -                     | 0   | 203  | 203   |
|   | TOTAL                 | 297 | 203  | 500   |
| <b>AGREEMENT : (297 + 203) / 500 = 100%</b>   |                       |     |      |       |
| EIA-3(HIV-Ab)                                 | +                     | 2   | 1    | 3     |
|   | -                     | 0   | 2682 | 2682  |
|   | TOTAL                 | 2   | 2683 | 2685  |
| <b>AGREEMENT : (2 + 2682) / 2685 = 99.96%</b> |                       |     |      |       |
| EIA-4(HIV-Ag/Ab)                              | +                     | 0   | 1    | 1     |
|   | -                     | 2   | 2682 | 2684  |
|   | TOTAL                 | 2   | 2683 | 2685  |
| <b>AGREEMENT : (0 + 2682) / 2685 = 99.89%</b> |                       |     |      |       |

**Исследование 4** (Воспроизводимость)

| Samples          | Samples No. | Average OD | MAX OD | MIN OD | CV(%) |
|------------------|-------------|------------|--------|--------|-------|
| Strong positive  | 20          | 2.454      | 2.490  | 2.407  | 2.8   |
| Positive         | 20          | 1.288      | 1.349  | 1.207  | 5.3   |
| Weak Positive    | 20          | 0.430      | 0.501  | 0.396  | 8.7   |
| Positive control | 20          | 2.801      | 2.897  | 2.764  | 3.2   |

## Исследование 5 (Определение антигена)

| Ag Samples | This HIV (1+2) Ag&Ab |       |        | ELISA Ag-Ab |       |        |
|------------|----------------------|-------|--------|-------------|-------|--------|
|            | A                    | S/CO  | Result | A           | S/CO  | Result |
| 1          | 0.573                | 4.55  | +      | 0.484       | 2.13  | +      |
| 2          | 1.054                | 8.37  | +      | 2.891       | 12.74 | +      |
| 3          | 0.321                | 2.48  | +      | 0.722       | 3.18  | +      |
| 4          | 0.637                | 5.06  | +      | 0.369       | 1.63  | +      |
| 5          | 2.549                | 20.23 | +      | 3.016       | 13.29 | +      |
| 6          | 2.67                 | 21.19 | +      | 2.934       | 12.93 | +      |
| 7          | 1.073                | 8.23  | +      | 2.877       | 12.67 | +      |

Производительность в определении антигена ВИЧ этого набора ИФА сравнивалась другими коммерчески доступными наборами для обнаружения ВИЧ-антигена и антител. Продемонстрированная диагностическая чувствительность в обнаружении антигена p24 ВИЧ теста составила 100%.

Настоящий набор может обнаружить антиген ВИЧ в концентрации до 100 пг/мл.

## Исследование 6 (Обнаружение других подтипов)

Клинические характеристики этого набора ИФА в исследовании различных подтипов ВИЧ были оценены группой образцов, полученных из 7 ВИЧ-2, 2 ВИЧ-О и 17 ВИЧ-1(М). Положительные пробы были охарактеризованы на основании CD4 + клеток и / или Вестерн-блот (ВБ), либо ГАТ отдельных пациентов. Результаты, полученные в отдельных лабораторий могут различаться.

| Specimen                | No          | + | - | +(WB)  | Sensitivity |
|-------------------------|-------------|---|---|--------|-------------|
| HIV-2                   | 7           | 7 | 0 | 7      | 100%        |
| HIV-O (BBI)             | 2           | 2 | 0 | NA     | 100%        |
| <b>HIV - 1 Subtypes</b> |             |   |   |        |             |
| A                       | No. samples | 1 |   | Result | WB          |
| B                       | 1           |   |   | +      | +           |
| C                       | 9           |   |   | +      | +           |
| B+C                     | 4           |   |   | +      | +           |
| E                       | 1           |   |   | +      | +           |
| G                       | 1           |   |   | +      | +           |

## Клинические исследования (резюме):

После тестирования более чем 15 000 отрицательных и 700 ВИЧ-положительных образцов, специфичность этого набора составила более 99,80%, а продемонстрированная чувствительность составила 100%.

## Аналитическая специфичность:

Перекрестной реактивности не наблюдалось с образцами от пациентов, инфицированных вирусом гепатита А, С, В, HTLV, ЦМВ, и т.п. Нет наблюдался прозонный эффект и влияние ревматоидного фактора во время клинических исследований. На характеристики качества анализа не влияют повышенные концентрации билирубина, гемоглобина и триолеина. Замороженные образцы были протестированы, чтобы проверить, влияние из-за забора и хранения.

## ОГРАНИЧЕНИЯ

- Отсутствие повторения положительного результата может случиться из-за общих биологических характеристик ИФА-метода. Анализ разработан с целью достижения высокого уровня показателей чувствительности и специфичности, а модель «сэндвич» сводит до минимума возможность неспецифических реакций из-за вмешательства незнакомых веществ. Антитела или p24 могут быть не обнаруживаемыми на ранних стадиях болезни и у некоторых пациентов с ослабленным иммунитетом.
- Все положительные результаты необходимо подтверждать другими имеющимися методами и интерпретировать, принимая во внимание клиническую информацию о пациенте.
- К ошибочным результатам могут привести следующие факторы: просроченные наборы, недостаточное промывание, зараженные реагенты, неправильная схема проведения анализа, недостаточная аспирация во время промывания, отсутствие каких-либо составляющих реагентов, оборудование, расчет времени, объемы, происхождение и качество образцов.
- Распространение маркера повлияет на прогностическую ценность анализа.
- Если после повторного исследования первично положительных образцов результат оказывается отрицательным, образцы следует считать неповторяющимися (ложноположительными) и интерпретироваться как отрицательные. Как и в случае с иными высокочувствительными наборами ИФА, ложноположительные

- результаты случаются по некоторым причинам, основной из которых является недостаточное промывание.
6. Данный набор предназначен ТОЛЬКО для исследования человеческой сыворотки или плазмы. Не использовать для исследования трупных образцов, слюны, мочи и других жидких компонентов организма, или смешанной крови.
  7. Анализ не различает ВИЧ-1 и ВИЧ-2.
  8. Этот анализ не различает результаты между положительным антителом и положительным антигеном p24.
  9. Этот анализ является качественным, его результаты не можно использовать для измерения концентрации антител.

#### **ПОКАЗАТЕЛИ НЕСТАБИЛЬНОСТИ И ПОВРЕЖДЕНИЯ РЕАГЕНТОВ**

1. Значения положительных и отрицательных контролей вне заданного диапазона контроля качества свидетельствуют о возможном повреждении реагентов и/или ошибке оператора/оборудования. В данном случае результаты следует считать недействительными, а образцы подвержены повторному исследованию. В случае постоянной ошибки результатов по причине повреждения или нестабильности реагентов, немедленно замените реагенты на новые.
2. Если после смешения в лунках растворов хромогена А и В смесь очень быстро приобретает голубой окрас, не продолжайте анализ, а замените реагенты новыми.

**Пригодность:** Не использовать набор после истечения срока годности, указанного на коробке с набором или этикетке реагента.



#### **ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР**

ООО «ДИАМЕБ»  
ул.Чорновола, 97  
г. Ивано-Франковск, 76005  
тел.: +38 (0342) 775 122  
факс: +38 (0342) 775 123  
е-mail: [info@diameb.ua](mailto:info@diameb.ua)  
[www.diameb.com](http://www.diameb.com)