

## АНТИГЕН/АНТИТІЛА ДО ВІЛ

Кат.№: **LUA-EIA.IVCOMB.480**  
Кількість тестів: **480**

Дата випуску інструкції: **11-2019**  
Версія: **8**

**Імуноферментний аналіз (ІФА) четвертого покоління для визначення антитіл до Вірусу Імунодефіциту людини або ВІЛ типу 1 & 2 та антигена P24 ВІЛ-1 у сироватці та плазмі людини**

- тільки для діагностичного використання «in vitro» -

### А. ПРИЗНАЧЕННЯ ВИКОРИСТАННЯ

Набір є твердофазним імуноферментним аналізом для діагностичного скринінгу in vitro антитіл до всіх підтипів ВІЛ-1 та ВІЛ-2 та антигена (p24) ВІЛ-1 у сироватці або плазмі людини.

Цей набір призначений виключно для діагностики *in vitro* в авторизованій клінічній лабораторії, і тест має проводитись спеціально навченим медичним персоналом.

### В. ВСТУП

Епідеміологічні дані свідчать про те, що збудник інфекції, що передається через інтимний контакт, внутрішньовенне вживання наркотиків або інфіковану кров або продукти крові, призводить до Синдрому Набутого Імунодефіциту (СНІД).

Ця хвороба впливає на опосередкований Т-клітинами імунітет, що призводить до важкої лімфопенії та зменшення субпопуляції допоміжних Т-лімфоцитів. Знищення цієї популяції Т-лімфоцитів вірусом викликає імунну недостатність, що призводить до зменшення або дефіциту реакції на наступні інфекції.

Отже, інфекції стають більш серйозними і можуть призвести до смерті. В даний час успішного лікування СНІДу немає.

Етіологічний агент був ідентифікований як ретровірус, вірус імунодефіциту людини 1 типу (ВІЛ-1).

Також був виділений близький, але відмінний тип вірусу імунодефіциту, позначений як ВІЛ-2. Цей вірус викликає захворювання, яке не відрізняється від СНІДу.

Показано, що серологічна перехресна реактивність між ВІЛ-1 та ВІЛ-2 сильно змінюється від зразка до зразка.

Ця мінливість вимагає включення антигенів як до ВІЛ-1, так і до ВІЛ-2 для скринінгу антитіл до ВІЛ-1 та ВІЛ-2.

Наявність анти-ВІЛ-1 та/або анти-ВІЛ-2 та/або антигену p24 ВІЛ в крові вказує на потенційну інфекцію ВІЛ-1 та/або ВІЛ-2, і тому цю кров не слід використовувати для переливання або для виробництва ін'єкційних продуктів.

### С. ПРИНЦИП ТЕСТУ

Гібридний рекомбінантний антиген, що представляє імунодомінантні епітопи ВІЛ-1 і ВІЛ-2, О-пептид групи ВІЛ-1 разом з двома моноклональними антитілами до антигену p24 ВІЛ-1, наносять на лунки мікропланшету.

Імунодомінантні епітопи та антитіла були ретельно відібрані для забезпечення скринінгу антитіл та антигену p24 до всіх підтипів ВІЛ-1, включаючи підтип О та ВІЛ-2. До цих лунок додають зразки сироватки або плазми, і якщо у зразку присутні антитіла, специфічні до ВІЛ-1 та/або ВІЛ-2 (IgG, IgM або IgA), вони утворюють стабільні комплекси з гібридним рекомбінантним антигеном ВІЛ або О-пептидом групи ВІЛ-1. Якщо у зразку присутній p24 ВІЛ-1, антиген буде захоплений специфічним моноклональним антитілом та Fab-фрагментом другого комплементарного моноклонального антитіла до антигену p24.

Потім ідентифікуються комплекси антиген-антитіло шляхом послідовного додавання: (1) біотинильованого гібридного рекомбінантного антигену, О-пептиду групи ВІЛ-1, моноклонального антитіла до p24 ВІЛ-1 та Fab-фрагменту другого комплементарного моноклонального антитіла до антигену p24 та (2) кон'югат стрептавідину з пероксидазою хрому HRP.

Гідролітична активність пероксидази хрому дозволяє кількісно оцінити ці антитіло-антиген комплекси.

Потім додають розчин субстрату пероксидази.

Під час інкубації синій колір буде розвиватися пропорційно кількості антитіл до ВІЛ-1/2 або антигену p24 ВІЛ-1, зв'язаного з лункою, таким чином встановлюючи їх присутність чи відсутність у зразку.

Лунки, що містять зразки, негативні для антитіла до ВІЛ та/або антигену p24, залишаються безбарвними.

До кожної лунки додають стоп-розчин, а отриманий жовтий колір зчитують на зчитувачі мікропланшетів при 450 нм (nm).

## D. КОМПОНЕНТИ

Продукт з кодом LUA-IVCOMB.CE.96 містить реагенти для 96 тестів.

### 1. Мікропланшет MICROPLATE

1x мікропланшет. 12 смужок по 8 мікролунок, вкритих гібридним рекомбінантним антигеном, що містить послідовності gp36, gp41 та gp120, і з двома моноклональними антитілами, специфічними до пептиду p24 Ag ВІЛ-1 та О-пептиду групи ВІЛ-1. Пластини запечатані в пакет з осушувачем.

### 2. Негативний Контроль CONTROL-

1x2.0 мл (ml)/флакон. Готовий до використання контроль. Він містить дефібриновану плазму людини, негативну на антитіла до ВІЛ та антигену p24, та 0.045% ProClin 300 як консерванти. Негативний контроль має жовто-коричневий колір.

### 3. Позитивний контроль HIV-1 Ab CONTROL 1+

1x2.0 мл (ml)/флакон. Готовий до використання контроль. Він містить інактивовану сироватку, позитивну до антитіл до ВІЛ 1, відфільтровану Ab та Ag ВІЛ-негативну сироватку тварин та 0.045% ProClin 300 як консервант. Позитивний контроль має світло-зелений колір.

**Важлива примітка:** Позитивний контроль був інактивованим за допомогою В-пропіонолактону BPL/UV. Це не в повній мірі забезпечує відсутність життєздатних патогенів, а отже, контроль слід розглядати як потенційно біологічно небезпечний відповідно до належної лабораторної практики.

### 4. Позитивний контроль HIV-2 Ab CONTROL 2+

1x2.0 мл (ml)/флакон. Готовий до використання контроль. Він містить інактивовану сироватку, позитивну до антитіл до ВІЛ2, відфільтровану Ab та Ag ВІЛ-негативну сироватку тварин та 0.045% ProClin 300 як консерванти. Позитивний контроль має темно-зелений колір.

**Важлива примітка:** Позитивний контроль був інактивованим за допомогою В-пропіонолактону BPL/UV. Це не в повній мірі забезпечує відсутність життєздатних патогенів, а отже, контроль слід розглядати як потенційно біологічно небезпечний відповідно до належної лабораторної практики.

### 5. Калібратор HIV-1 P24 Ag CAL Ag

1 флакон. Ліофілізований. Він містить неінфекційний рекомбінантний антиген p24 у 10 мМ (mM) фосфатному буфері pH 7.0±0.2 з 0.3 мг/мл (mg/ml) сульфату гентаміцину та 0.045% ProClin 300 як стабілізатори. Цей компонент калібрується за Стандартом Антигену HIV-1 від Biogad, код 72217, розведеним для отримання концентрації приблизно 100 пг/мл (pg/ml) ± 20%.

**Важливі примітки:**

- 1) Калібратор містить рекомбінантний Ag p24 з концентрацією близько 100 пг/мл (pg/ml), що відповідає 4 МО/мл (IU/ml) ± 20%.
- 2) Об'єм, необхідний для розчинення вмісту флакона, може змінюватися від партії до партії. Будь ласка, використовуйте правильний об'єм, зазначений на етикетці.

### 6. Концентрат Промивного буфера WASHBUF 20X

1x60 мл (ml)/пляшка. 20-кратний концентрований розчин. Містить 0.045% ProClin 300. Після розведення промивний розчин містить 10 мМ (mM) фосфатного буфера pH 7.0 +/- 0.2, 0.05% Твін 20.

### 7. Кон'югат №1 CONJ 1

4 флакони. Флакон містить ліофілізовані біотинильовані пептиди ВІЛ-1&2&O gp36, gp41 і gp120, біотинильований О-пептид ВІЛ1, біотинильований фрагмент Fab другого комплементарного моноклонального антитіла до антигену p24 та біотинильоване моноклональне антитіло, специфічне для антигену p24 ВІЛ-1. Флакони слід ресуспендувати з 6 мл (ml) Розчинника Кон'югат №1.

### 8. Кон'югат 1 Розчинник CONJ 1 DIL

1x30 мл (ml)/флакон. Використовується для розчинення ліофілізованого порошку Кон'югату №1, він містить Трис сольовий буфер, доповнений 0.045% ProClin 300, Твін 20 та BSA.

### 9. Кон'югат № 2 CONJ 2

1x15 мл (ml)/флакон. Розчин містить HRP, кон'югований зі стрептавідином у сольовому буфері Tris, доповненому 0.045% ProClin 300, Tween 20 та BSA. Цей компонент має колірне кодування рожевим/червоним.

#### 10. Хромоген/Субстрат SUBS TMB

1x25 мл (мл)/флакон. Готовий до використання компонент. Містить 50 мМ (mM) розчину цитратного буфера, рН 3.5-3.8, 4% диметилсульфоксиду, 0.03% тетраметилбензидину (TMB) та 0.02% перекису водню (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).

**Примітка:** Зберігати захищеним від світла, чутливий до сильного освітлення.

#### 11. Сірчана кислота H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.3 M (M)

1x15 мл (мл)/пляшка. Містить 0.3 M (M) розчину H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Увага: Подразнююча речовина (H315; H319; P280; P302+P352; P332+P313; P305+P351+P338; P337+P313; P362+P363).

#### 12. Розчинник для зразків DILSPE

1x7 мл (мл)/флакон. Містить сольовий буфер Tris, доповнений 0.045% ProClin 300, блокує анти-HAMA та Tween 20; використовується для розведення зразків. Цей компонент має колірне позначення у світло-синьому кольорі.

#### 13. Ущільнювальна фольга для планшета x 2 шт.

#### 14. Вкладиш інструкції x 1 шт.

### Е. МАТЕРІАЛИ, НЕОБХІДНІ, АЛЕ НЕ ПОСТАЧАЮТЬСЯ З НАБОРОМ

1. Калібровані мікропіпетки (200 мкл (μl) і 10 мкл (μl)) та одноразові пластикові наконечники.
2. Вода класу EIA (бідистильована або деіонізована, оброблена деревним вугіллем, для видалення окислювальних хімікатів, що використовуються як дезінфікуючі засоби).
3. Таймер з діапазоном 60 хвилин або вище.
4. Абсорбуючі паперові серветки.
5. Калібрований мікропланшетний термостатичний інкубатор ІФА, здатний забезпечити температуру +37 °C (°C).
6. Калібрований мікропланшетний зчитувач ІФА з фільтрами 450 нм (nm) (зчитування) та 620-630 нм (nm) (бланкування).
7. Калібрований мікропланшетний вошер ІФА.
8. Вортекс або подібні змішувальні інструменти.

### Ф. ПОПЕРЕДЖЕННЯ ТА ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

1. Набором повинен користуватися лише кваліфікований та належним чином підготовлений технічний персонал під наглядом лікаря, відповідального за лабораторію.
2. Коли набір використовується для скринінгу одиниць крові та компонентів крові, він повинен бути використаний у лабораторії, сертифікованій та кваліфікованій національним органом у цій галузі (Міністерством охорони здоров'я чи подібним органом) для проведення такого типу аналізу.
3. Весь персонал, який бере участь у проведенні аналізу, повинен носити захисний лабораторний одяг, рукавички без тальку та окуляри. Слід уникати використання будь-яких гострих (голки) або ріжучих (лез) пристроїв. Весь залучений персонал повинен бути навчений процедурам біобезпеки, як рекомендовано Центром контролю захворювань, Атланта, США, а також повідомляється в публікації Національного інституту охорони здоров'я: «Біобезпека в мікробіологічних та біомедичних лабораторіях», вид. 1984 рік.
4. Весь персонал, який займається обробкою зразків, повинен бути вакцинований проти ВГВ та ВГА, для яких вакцини доступні, безпечно та ефективно.
5. Лабораторне середовище слід контролювати таким чином, щоб уникнути забруднень, таких як пил або мікроорганізми, що утворюються в повітрі, при відкритті флаконів з наборів та мікропланшетів та при проведенні тесту. Не надавайте Хромоген (ТМБ) дії сильного світла та уникайте вібрації поверхні стелю, де проводиться випробування.
6. Отримавши набір, зберігайте його при температурі 2...8 °C (°C) у холодильнику з контролем температури або в холодній кімнаті.
7. Не обмінюйте компоненти між різними партіями наборів. Рекоменується, щоб компоненти між двома наборами однієї партії не мінялися місцями.
8. Переконайтеся, що реагенти прозорі та не містять видимих важких частинок або скупчень. Якщо ні, порекомендуйте керівнику лабораторії розпочати необхідні процедури із заміни набору.
9. Уникайте перехресного забруднення між зразками сироватки/плазми, використовуючи одноразові наконечники та змінюючи їх після кожного зразка. Не використовуйте одноразові наконечники повторно.
10. Уникайте перехресного забруднення між реагентами, використовуючи одноразові наконечники та змінюючи їх між використанням кожного з них. Не використовуйте одноразові наконечники повторно.

11. Не використовуйте набір після закінчення терміну придатності, зазначеного на зовнішньому контейнері та внутрішніх етикетках (флаконах).
12. Розглядайте всі зразки як потенційно інфекційні. З усіма зразками сироватки людини слід поводитись на рівні 2 біобезпеки, як це рекомендує Центр контролю за захворюваннями, Атланта, США, відповідно до публікацій Інституту охорони здоров'я: «Біобезпека в мікробіологічних та біомедичних лабораторіях», вид. 1984 рік.
13. Використовувати одноразовий пластиковий посуд рекомендується для приготування рідких компонентів або для перенесення компонентів на автоматизовані робочі місця, щоб уникнути перехресного забруднення.
14. Відходи, що утворились під час використання набору, слід утилізувати відповідно до національних директив та законів, що стосуються лабораторних відходів хімічних та біологічних речовин. Зокрема, рідкі відходи, що утворюються внаслідок процедури промивання, залишків контролів та зразків, повинні бути оброблені як потенційно інфекційний матеріал та інактивовані перед утилізацією. Запропоновані процедури інактивації - це обробка 10% кінцевою концентрацією побутового відбілювача протягом 16-18 годин або інактивація теплом автоклавом при 121 °C (°C) протягом 20 хв.
15. Випадкові розливи зразків та під час роботи повинні бути адсорбовані паперовими рушниками, змоченими побутовим відбілювачем, а потім водою. Потім рушники слід утилізувати у належні контейнери, призначені для лабораторних/лікарняних відходів.
16. Сірчана кислота є подразником. У разі розливу промити поверхню великою кількістю води.
17. Інші відходи, що утворюються внаслідок використання набору (приклад: наконечники, що використовуються для зразків та контролів, використані мікропланшети), слід обробляти як потенційно інфекційні та утилізувати відповідно до національних директив та законів, що стосуються лабораторних відходів.

### Г. ЗРАЗКИ: ПІДГОТОВКА І РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Кров забирається асептично шляхом венепункції, а плазма або сироватка готуються із застосуванням стандартних методик підготовки зразків для клінічного лабораторного аналізу. Вплив на приготування зразка з цитратом, ЕДТА та гепарином не спостерігалось.
2. Уникайте будь-якого додавання консервантів до зразків; особливо азиду натрію, оскільки ця хімічна речовина впливає на ферментативну активність кон'югату, генеруючи хибнонегативні результати.
3. Зразки повинні бути чітко ідентифіковані кодами або назвами, щоб уникнути неправильного тлумачення результатів. Коли набір використовується для перевірки одиниць крові, настійно рекомендується маркування штрих-кодом та електронне зчитування.
4. Гемолізовані («червоні») та помітно гіперліпемічні («молочні») зразки слід відкинути, оскільки вони можуть призвести до хибних результатів. Зразки, що містять залишки фібрину або важких частинок чи мікробні нитки та тіла, слід відкидати, оскільки вони можуть призвести до хибних результатів.
5. Сироватку та плазму можна зберігати при +2-8 °C (°C) у пробірках для первинного збору протягом п'яти днів після збору. Не заморожуйте первинні пробірки для збору. Для більш тривалого періоду зберігання зразки сироватки та плазми, обережно вибрані з первинної пробірки, можна зберігати замороженими при -20 °C (°C) мінімум 12 місяців. Будь-які заморожені зразки не слід заморожувати/розморожувати більше одного разу, оскільки це може утворити частинки, які можуть вплинути на результат тесту.
6. Якщо присутні частинки, фільтруйте за допомогою фільтрів 0.2-0.8 мкм (μm), щоб очистити зразок для тестування.
7. Не використовуйте зразки, інактивовані теплом, оскільки вони можуть спричинити хибну реакційну здатність.

### Н. ПІДГОТОВКА КОМПОНЕНТІВ І ПОПЕРЕДЖЕННЯ

Дослідження, проведене на відкритому наборі, не вказало на будь-яку відповідну втрату активності терміном до 2 місяців.

#### Мікропланшет:

Перед відкриттям контейнера дайте мікропланшету досягти кімнатної температури (близько 1 години). Перевірте, чи пакет не пошкоджений, і чи є дефект, який вказує на проблеми зі зберіганням. У цьому випадку зателефонуйте до служби підтримки клієнтів ЛАБЮЕІ. Невикористані смужки потрібно покласти назад в алюмінієвий пакет, разом з осушувачем, щільно закрити і зберігати при +2-8 °C (°C). При

першому відкритті смужки, що залишились, є стабільними до двох місяців.

#### **Негативний контроль:**

Готовий до використання. Перед використанням добре перемішайте на вортексі.

#### **Позитивні контроли Аб:**

Позитивні контроли готові до використання. Поводьтеся з Позитивними Контролями Аб як з потенційно інфекційними, навіть якщо ВІЛ, якщо він є у контролі, був хімічно інактивованим.

#### **Калібратор Ag:**

Ліофілізований Калібратор Ag містить неінфекційний рекомбінантний антиген р24. На етикетці флакона записано об'єм води класу EIA для його розведення та досягнення відповідної концентрації р24 (близько 100 пг/мл (pg/ml)). Щоб допомогти розчинити ліофілізовану гранулу, перемішайте її кілька разів за певні проміжки часу. Повне розчинення повинно бути досягнуто протягом 2-5 хвилин.

**Примітка:** Розведений Калібратор не є стабільним. Зберігати в аліквотах при -20 °C (°C).

#### **Концентрат Промивного буфера:**

Перед використанням 20-кратний концентрований розчин слід розбавити водою класу EIA до 1200 мл (ml) і обережно перемішати обертанням з денця на кришку. Оскільки у флаконі можуть бути присутніми деякі кристали солі, подбайте про розчинення всього вмісту під час приготування розчину.

Під час приготування уникайте піноутворення, оскільки наявність бульбашок може спричинити погану ефективність промивання.

**Примітка:** Після розведення промивний розчин стабільний протягом 1 тижня при +2..8 °C (°C).

#### **Кон'югат №1:**

Розчин суміші Кон'югату №1 слід готувати безпосередньо перед початком випробування. Додайте 6 мл (ml) розчинника Кон'югату 1 безпосередньо до одного флакону Кон'югату №1, щоб розчинити ліофілізований порошок. Цього препарату (всього 6 мл (ml) в одному флаконі) достатньо для 32 тестів або 4 повних вертикальних смужок мікропланшету. Щоб допомогти розчинити ліофілізований порошок, перемішуйте кілька разів на вортексі через регулярні проміжки часу.

**Важлива примітка:** Будь-яка невикористана частина цього відновленого Розчину Кон'югату №1 може зберігатися при температурі +2..8 °C (°C) не більше 12 годин. Після закінчення цього часу його слід викинути, а порожню, використану ємність промити водою класу EIA та зберігати в сухому вигляді для будь-якого наступного повторного використання.

#### **Кон'югат №2:**

Готовий до використання. Перед використанням добре перемішайте обертанням з денця на кришку.

#### **Хромоген/Субстрат:**

Готовий до використання. Перед використанням добре перемішайте обертанням з денця на кришку.

Будьте обережні, щоб не забруднити рідину окислювальними хімікатами, повітряним пилом або мікробами.

Не надавайте сильному освітленню, окислювачам та контакту з металевими поверхнями.

Якщо цей компонент доводиться переносити, використовуйте лише пластикову, доступну стерильну одноразову тару.

#### **Сірчана кислота:**

Готова до використання. Перед використанням добре перемішайте обертанням з денця на кришку.

Увага: Подразнююча речовина (H315; H319; P280; P302+P352; P332+P313; P305+P351+P338; P337+P313; P362+P363).

#### **Легенда:**

##### **Попереджувальні Н-фрази:**

**H315** - Викликає подразнення шкіри.

**H319** - Викликає серйозне подразнення очей.

##### **Попереджувальні Р-фрази:**

**P280** - Одягати захисні рукавички/захисний одяг/захист очей/захист обличчя.

**P302+P352** - ПРИ ПОПАДАННІ НА ШКІРУ: Змити великою кількістю мила та води.

**P332+P313** - Якщо виникає подразнення шкіри: зверніться за медичною консультацією/допомогою.

**P305+P351+P338** - ПРИ ПОПАДАННІ В ОЧІ: Обережно промивати водою протягом декількох хвилин. Зніміть контактні лінзи, якщо вони є і це легко зробити. Продовжуйте промивання.

**P337+P313** - Якщо подразнення очей не зникає: зверніться за медичною консультацією/допомогою.

**P362+P363** - Зніміть забруднений одяг і виперіть його перед повторним використанням.

#### **Розчинник для зразків:**

Готовий до використання. Перед використанням добре перемішайте обертанням з денця на кришку.

### **I. ПРИЛАДИ ТА ІНСТРУМЕНТИ, ЩО ВИКОРИСТОВУЮТЬСЯ В КОМБІНАЦІЇ З НАБОРОМ**

- 1. Мікропіпетки** повинні бути відкалібровані, щоб забезпечити правильний об'єм, необхідний для аналізу, а також проводити регулярне знезараження (побутовий спирт, 10% розчин відбілювача, дезінфікуючі засоби медичного призначення) тих частин, які можуть випадково потрапити на зразок. Їх також слід регулярно обслуговувати, щоб показати точність 1% та правдивість +/- 2%. Дезактивацію розливів або залишків компонентів набору також слід проводити регулярно.
- 2. Інкубатор ІФА** слід встановити на +37 °C (°C) (допуск +/- 0.5 °C (°C)) і регулярно перевіряти, щоб підтримувати правильну температуру. Для інкубацій підходять як сухі інкубатори, так і водяні ванни, за умови, що прилад підтверджений для інкубації тестів ІФА.
- 3. Вошер ІФА** є надзвичайно важливим для загальних показників аналізу. Вошер потрібно заздалегідь ретельно оцінити, перевірити, чи вноситься потрібний об'єм видачі, та регулярно подавати на технічне обслуговування відповідно до інструкцій виробника щодо використання. Зокрема, після закінчення щоденного навантаження вошер слід ретельно очищати від солей деіонізованою водою. Перед використанням вошер слід праймувати розведеним Промивним Розчином. Прилад слід щотижня подавати на дезактивацію згідно з його керівництвом (пропонується дезактивація 0.1 М (М) NaOH). 5 циклів промивання (аспірація + дозування 350 мкл (μl)/лунку промивного розчину + 20 секунд замочування = 1 цикл) достатньо для забезпечення аналізу із заявленими характеристиками. Якщо замочування неможливо, додайте ще один цикл промивання. Неправильний цикл промивання або голки, забиті сіллю, є основною причиною помилково позитивних реакцій.
- 4.** Час інкубації має допуск ± 5%.
- 5. Зчитувач мікропланшетів ІФА** повинен бути обладнаний фільтром зчитування 450 нм (nm) та другим фільтром 620-630 нм (nm), обов'язковим для бланкування. Його стандартні характеристики повинні бути (a) пропускна здатність ≤ 10 нм (nm); (b) діапазон поглинання від 0 до ≥ 2.0; (c) лінійність до ≥ 2.0; (d) повторюваність ≥ 1%. Бланкування проводиться на лунці, визначеній у розділі «Процедура аналізу». Оптичну систему зчитувача потрібно регулярно калібрувати, щоб забезпечити правильне вимірювання оптичної щільності. Її слід регулярно підтримувати відповідно до інструкцій виробника.
- 6.** При використанні **автоматизованої робочої станції ІФА** всі критичні кроки (внесення, інкубація, промивання, зчитування, обробка даних) повинні бути ретельно встановлені, відкалібровані, контрольовані та регулярно обслуговуватися, для того, щоб відповідати значенням, зазначеним у розділах «Валідація тесту» та «Робочі характеристики аналізу». Протокол аналізу повинен бути встановлений в операційній системі пристрою та перевірений як для вошера, так і для зчитувача. Крім того, частина станції для подачі рідини (дозування та промивання) повинна бути перевірена та правильно встановлена. Особливу увагу потрібно приділити, щоб уникнути перенесення голками, що використовуються для дозування та промивання. Це потрібно вивчити та контролювати, щоб мінімізувати можливість забруднення сусідніх лунок. Використання автоматизованих робочих станцій ІФА рекомендується, коли кількість зразків, що перевіряються, перевищує 20-30 одиниць за пробіг.
- 7.** При використанні автоматичних пристроїв у разі, якщо тримач флакона з інструментом не підходить до флаконів, що входять до набору, перенесіть розчин у відповідні контейнери та позначте їх такою ж етикеткою відкритої з оригінального флакону. Ця операція важлива для того, щоб уникнути невідповідності вмісту флаконів при їх передачі. Коли випробування закінчиться, поверніть вторинні марковані контейнери до температури 2.8 °C (°C), міцно закупорені.
- 8.** Служба підтримки клієнтів ЛАБЮЕІ пропонує підтримку користувачеві в налаштуванні та перевірці приладів, що використовуються в поєднанні з набором, з метою забезпечення

відповідності описаним вимогам. Також надається підтримка для встановлення нових інструментів, які будуть використовуватися з набором.

## L. КОНТРОЛЬ ТА МАНІПУЛЯЦІЇ ДО ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

1. Перевірте термін придатності набору, надрукований на зовнішній етикетці (коробка з набором). Не використовуйте, якщо термін придатності минув.
2. Переконайтеся, що рідкі компоненти не забруднені частинками або скупченнями, видимими неозброєним оком. Переконайтеся, що Хромоген/Субстрат безбарвний або блідо-блакитний, аспіруючи невеликий його об'єм стерильною прозорою пластиковою піпеткою. Переконайтеся, що при транспортуванні не сталося поломки і не прололо рідина всередині коробки. Переконайтеся, що алюмінієвий мішок, що містить мікропланшет, не пробитий і не пошкоджений.
3. Розведіть весь вміст 20X концентрату Промивного Розчину, як описано вище.
4. Розчиніть Калібратор Ag.
5. Розчиніть флакон з Кон'югатом №1, що містить ліофілізований порошок, з Розчинником Кон'югату 1 (1 ліофілізований Кон'югат №1 + 6 мл (ml) Розчинника Кон'югату №1), щоб отримати суміш Кон'югату №1, як описано у відповідному розділі.
6. Дайте всім іншим компонентам досягти кімнатної температури (близько 1 години), а потім обережно перемішайте як описано.
7. Встановіть інкубатор ІФА на +37 °C (°C) і підготуйте вошер ІФА, праймуючи його розведеним промивним розчином, відповідно до інструкцій виробника. Встановіть правильну кількість циклів промивки, як повідомляється в конкретному розділі.
8. Увімкніть зчитувач ІФА принаймні за 20 хвилин до операції зчитування.
9. Якщо ви використовуєте автоматизовану робочу станцію, увімкніть її, перевірте налаштування та обов'язково використовуйте правильний протокол аналізу.
10. Переконайтеся, що мікропіпетки встановлені на необхідний об'єм.
11. Перевірте, чи все інше обладнання доступне та готове до використання.
12. У разі проблем не продовжуйте подальше тестування та повідомте керівнику.

## M. ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

Аналіз повинен проводитися відповідно до того, що повідомляється нижче, з обережністю, щоб підтримувати однаковий час інкубації для всіх зразків під час тестування.

### 1. Автоматизований аналіз:

Якщо тест проводиться автоматично за допомогою системи ІФА, ми пропонуємо, щоб спочатку прилад аспірував 50 мкл (μl) Розчинника для зразків, а потім 150 мкл (μl) контролів та зразків.

Перед аспірацією наступного зразка голки необхідно належним чином промити, щоб уникнути перехресного забруднення зразків.

Для наступних операцій дотримуйтеся інструкцій з експлуатації, наведених нижче для Ручного аналізу.

Настійно рекомендується перевірити, що проміжок часу між внесенням першого та останнього зразків буде розрахований приладом та врахований шляхом відповідної затримки першої операції промивання. Правильну кількість ліофілізованого Кон'югату №1 необхідно розчинити кожен з 6 мл (ml) Розчинника Кон'югату №1. Як тільки ліофілізовані порошки будуть розчинені і добре перемішані, їх слід змішати разом у пластиковому контейнері, і аналіз можна почати.

### 2. Ручний аналіз:

1. Розчиніть потрібну кількість ліофілізованого Кон'югату №1 з Розчинником Кон'югату №1, перш ніж розпочинати внесення зразків та контролів для аналізу.
2. Помістіть необхідну кількість лунок у тримач мікролунок. Залиште 1-у лунку порожньою для операції бланкування.
3. Внесіть Розчинник для зразків по 50 мкл (μl) у всі лунки, за винятком А1, яка використовується для бланкування.
4. Внесіть 150 мкл (μl) Негативного Контролю в трьох примірниках, 150 мкл (μl) ВІЛ-1 Позитивного Контролю, 150 мкл (μl) ВІЛ-2 Позитивного Контролю і 150 мкл (μl) Калібратора Ag у двох примірниках у відповідні лунки.
5. Внесіть 150 мкл (μl) Зразка в кожен належним чином ідентифіковану лунку. Обережно перемішайте пластину на робочій поверхні, уникаючи переливу та забруднення сусідніх лунок, щоб повністю перемішати зразок у розчиннику.
6. Інкубуйте мікропланшет протягом **60 хвилин при +37 °C (°C)**.

**Важливе зауваження:** Смужки слід герметизувати клейкою ущільнювальною фольгою, що постачається, лише тоді, коли тест проводиться вручну. Не накривайте смужки, використовуючи автоматичні прилади ІФА.

7. Промийте мікропланшет автоматичним вошером, подавши та аспіруючи 350 мкл (μl)/лунку розведеного промивного розчину, як зазначено у розділі І.3.
8. Піпетуйте 100 мл (ml) суміші Кон'югату №1 в кожен лунку, приготовленої, як описано вище, у кожен лунку, за винятком 1-ї лунки для бланкування, і накрийте герметиком.

**Важлива примітка:** Будьте обережні, щоб не торкатися внутрішньої поверхні лунки наконечником піпетки, заповненою Кон'югатом. Можливе забруднення.

9. Інкубуйте мікропланшет протягом **30 хвилин при +37 °C (°C)**.
10. Піпетуйте 100 мкл (μl) Кон'югату №2 у всі лунки, крім А1, і обережно перемішайте мікропланшет, щоб змішати два кон'югати.

**Важливе зауваження:** Цей розчин необхідно додавати на дно кожної лунки для забезпечення належної продуктивності. Неадекватне змішування двох розчинів (Кон'югату 1 і Кон'югату 2) може зменшити зв'язування стрептавідину HRP (Кон'югат 2) з біотинильованими реагентами і, отже, вплинути на результати аналізу. Обов'язково забезпечте адекватне перемішування, коли додається Кон'югат №2, як у ручній, так і в автоматизованій процедурі.

11. Інкубуйте мікропланшет протягом **30 хвилин при +37 °C (°C)**.
12. Промийте, як у кроці 7.
13. Піпетуйте 200 мкл (μl) суміші Хромоген/Субстрат у кожен лунку, включаючи бланк-лунку. Потім інкубуйте мікропланшет протягом **30 хвилин при кімнатній температурі (18-25 °C (°C))**. Почніть хромограм відразу після додавання цього компонента до першої лунки.

**Важлива примітка:** Не піддавайте сильному прямому світлу, оскільки може створюватися високий фон.

14. Піпетуйте 100 мкл (μl) Сірчаної кислоти у всі лунки, використовуючи ту саму послідовність піпетування, що і на етапі 13, щоб зупинити ферментативну реакцію. Додавання кислоти перетворить колір позитивних контролів та позитивних зразків з блакитного на жовтий/коричневий.
15. Виміряйте інтенсивність забарвлення розчину в кожній лунці, як описано в розділі І.5, за допомогою пристрою для зчитування мікропланшетів при 450 нм (nm) (зчитування) та при 620-630 нм (nm) (віднімання фону, обов'язкове), бланкуючи прилад в лунці А1.

### Важливі зауваження:

1. Переконайтеся, що на нижній частині мікролунок немає відбитків пальців перед зчитуванням. Це може призвести до хибнопозитивних результатів при зчитуванні.
2. Зчитування повинно проводитися відразу після додавання Стоп-розчину, і в будь-якому разі не довше, ніж через 30 хвилин після його додавання. Може статися деяке самоокислення хромогену, що призводить до високого фону.
3. Калібратор (CAL) не впливає на розрахунок значення cut-off, і, отже, на результати випробувань. Калібратор можна використовувати лише тоді, коли керівництво лабораторії вимагає внутрішнього контролю якості.

## N. СХЕМА АНАЛІЗУ

| Метод                  | Операції   |
|------------------------|--|
| Розчинник Зразка       | 50 мкл (μl)  |
| Контролі та Калібратор | 150 мкл (μl)   |
| Зразки                 | 150 мкл (μl)   |
| <b>1-а інкубація</b>   | <b>60 хв.</b>  |
| Температура            | +37 °C (°C)  |
| Промивання             | 5 циклів із 20 хв. замочування АБО<br>6 циклів без замочування |
| Кон'югат №1            | 150 мкл (μl)   |
| <b>2-а інкубація</b>   | <b>30 хв.</b>  |
| Температура            | +37 °C (°C)  |
| Кон'югат №2            | 100 мкл (μl)   |
| <b>3-я інкубація</b>   | <b>30 хв.</b>  |
| Температура            | +37 °C (°C)  |

|                                   |  |
|-----------------------------------|--|
| Промивання                        | 5 циклів із 20 хв. замочування АБО<br>6 циклів без замочування |
| TMB/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | 200 мкл (µl)   |
| <b>4-а інкубація</b>              | <b>30 хв.</b>  |
| Температура                       | КТ   |
| Сірчана кислота                   | 100 мкл (µl)   |
| Зчитування ОЩ                     | 450 нм (nm)/620-630 нм (nm)                                    |

Нижче наведено приклад схеми видачі:

| Мікропланшет |          |        |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |
|--------------|----------|--------|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|
|              | 1        | 2      | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
| A            | BLK      | CAL Ag |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |
| B            | NC       | CAL Ag |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |
| C            | NC       | S1     |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |
| D            | NC       | S2     |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |
| E            | POS 1 Ab | S3     |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |
| F            | POS 2 Ab | S4     |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |
| G            | POS 3 Ab | S5     |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |
| H            | POS 4 Ab | S6     |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |

Легенда: BLK = Бланк NC = Негативний Контроль POS 1 Ab = ВІЛ-1 Ab Позитивний Контроль, POS 2 Ab = ВІЛ-2 Ab Позитивний, CAL Ag = Калібратор Ag р24 ВІЛ, S = Зразок

### О. ВНУТРІШНІЙ КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Будь-коли, коли використовується набір, виконується контроль, щоб перевірити, чи відповідають заявленим характеристики аналізу. Перевірте відповідність наступних даних:

| Параметр                     | Вимоги   |
|------------------------------|--|
| Бланк-лунка                  | ≤ 0.100 Значення ОЩ 450 нм (nm)/620-630 нм (nm)  |
| Негативний Контроль (NC)     | ≤ 0.200 середнього значення ОЩ 450 нм (nm)/620-630 нм (nm) після бланкування<br>Поглинання окремих значень негативного контролю має бути меншим або рівним 0.200. Якщо одне значення виходить за межі цього діапазону, відкиньте це значення та перерахуйте середнє значення. Якщо два значення виходять за межі цього діапазону, пробіг слід повторити. |
| Позитивний Контроль ВІЛ-1 Ab | S/Co ≥ 3.5   |
| Позитивний Контроль ВІЛ-2 Ab | S/Co ≥ 7.5   |
| Калібратор ВІЛ Ag            | S/Co > 1.5   |

Якщо результати тесту відповідають вимогам, зазначеним вище, перейдіть до наступного розділу. Якщо це не так, не продовжуйте і виконайте наступні перевірки:

| Проблема  | Перевірити  |
|---|---|
| <b>Бланк-лунка</b><br>> 0.100 ОЩ 450 нм (nm)/620-630 нм (nm)  | 1. що під час аналізу розчин Хромоген/Субстрат не забруднився.  |
| <b>Негативний Контроль (NC)</b><br>> 0.200 середнього значення ОЩ 450 нм (nm)/620-630 нм (nm) після бланкування | 1. що процедура промивання та налаштування вошера підтверджені у попередньому кваліфікаційному дослідженні;<br>2. що був використаний належний миючий розчин і перед використанням вошера був ним праймований;<br>3. що в процедурі аналізу не було допущено жодної помилки (внесення позитивного контролю замість негативного);<br>4. що не відбулося жодного забруднення негативного калібратора або його лунки через позитивні зразки, розливи або ферментний кон'югат;<br>5. що мікропіпетки не були забруднені позитивними зразками або ферментним кон'югатом;<br>6. що голки вошера не були заблоковані або частково перекриті. |
| <b>Позитивні Контролі</b>   | 1. що процедура була правильно виконана;  |

|  |   |
|--|---|
| CP1 < 3.5<br>CP2 < 7.5                 | 2. що при внесенні контролів не було зроблено жодної помилки (напр.: внесено негативний контроль замість позитивного контролю). У цьому випадку негативний контроль також матиме значення ОЩ 450 нм (nm)/620-630 нм (nm) > 0.200.<br>3. що процедура промивання та налаштування вошера підтверджені у попередньому кваліфікаційному дослідженні;<br>4. що зовнішнє забруднення позитивного контролю не відбулося.   |
| <b>Калібратор HIV Ag</b><br>S/Co < 1.5 | 1. що процедура була правильно виконана;<br>2. що при внесенні контролів не було зроблено жодної помилки (напр.: внесено негативний контроль замість позитивного контролю). У цьому випадку негативний контроль також матиме значення ОЩ 450 нм (nm)/620-630 нм (nm) > 0.200.<br>3. що процедура промивання та налаштування вошера підтверджені у попередньому кваліфікаційному дослідженні;<br>4. що зовнішнє забруднення позитивного контролю не відбулося;<br>5. що порошок ліофілізату був правильно розчинений з відповідним об'ємом води, зазначеним на етикетці флакона. |

Якщо виникла якась із зазначених вище проблем, повідомте про проблему керівнику для подальших дій.

### Р. РОЗРАХУНОК ЗНАЧЕННЯ CUT-OFF

Результати випробувань розраховуються за допомогою граничного значення, визначеного за такою формулою щодо середнього значення ОЩ 450 нм (nm)/620-630 нм (nm) Негативного контролю (NC):

$$NC + 0.125 = \text{Cut-Off (Co)}$$

Значення, знайдене для тесту, використовується для інтерпретації результатів, як описано у наступному параграфі.

**Важлива примітка:** Коли розрахунок результатів здійснюється оперативною системою автоматизованої робочої станції ІФА, переконайтеся, що для обчислення величини cut-off та отримання правильної інтерпретації результатів використовується правильна формула.

### Q. ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Результати тестування інтерпретуються як співвідношення значення ОЩ 450 нм (nm)/620-630 нм (nm) зразка та значення Cut-off (або S/Co) відповідно до такої таблиці:

| S/Co | Інтерпретація |
|------|---------------|
| < 1  | Негативний    |
| > 1  | Позитивний    |

Негативний результат свідчить про те, що пацієнт не був інфікований ВІЛ. Якщо початкове значення поглинання дорівнює або перевищує граничне значення, повторно протестуйте зразок у двох примірниках. Якщо обидва значення повторного тестування менше граничного значення, інтерпретація не реагує на антитіло до ВІЛ та/або антиген (негативний).

Якщо одне або обидва значення повторного тесту дорівнюють або перевищують граничне значення, інтерпретація результатів тестування багаторазово реагує. Відповідно до критеріїв цього ІФА тесту на ВІЛ, зразок слід вважати реактивним або позитивним щодо антитіл до ВІЛ та/або антигену.

Позитивний результат свідчить про ВІЛ-інфекцію, тому пацієнта слід лікувати відповідним чином.

### Важливі примітки:

- Інтерпретація результатів повинна проводитися під наглядом відповідального за лабораторію, щоб зменшити ризик помилок судження та неправильного тлумачення.
- Повторно реагуючі зразки слід надіслати на Аналіз Підтвердження, перш ніж буде встановлено діагноз ВІЛ-інфекції.

3. Коли результати тестування передаються з лабораторії до інформаційного центру, слід звернути увагу, щоб уникнути помилкової передачі даних.
4. Діагностика ВІЛ-інфекції повинна проводитися та передаватися пацієнту тільки кваліфікованим лікарем.

Приклад розрахунку наведено нижче:

Наступні дані не можна використовувати замість реальних цифр, отриманих користувачем.

Негативний контроль: 0.110 - 0.120 - 0.115  
Середнє значення ОЩ 450 нм (nm)/620-630 нм (nm): 0.115 ОЩ 450 нм (nm)/620-630 нм (nm)  
Менше ніж 0.200 - Прийнято

Позитивний контроль ВІЛ 1 Ab: середнє значення 2000 ОЩ 450 нм (nm)/620-630 нм (nm)  
Вище 0.700 - Прийнято

Позитивний контроль ВІЛ 2 Ab: середнє значення 2.100 ОЩ 450 нм (nm)/620-630 нм (nm)  
Вище 0.700 - Прийнято

Калібратор Ag: середнє значення 0.322 ОЩ 450 нм (nm)/620-630 нм (nm)  
S/Co > 1 - Прийнято

Cut-off = 0.115 + 0.125 = 0.240

Зразок 1: 0.070 ОЩ 450 нм (nm)/620-630 нм (nm)

Зразок 2: 1.690 ОЩ 450 нм (nm)/620-630 нм (nm)

Зразок 1 S/Co < 1 = негативний

Зразок 2 S/Co > 1 = позитивний

## R. РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Оцінка ефективності спочатку проводилася відповідно до того, що повідомляється у Загальних технічних специфікаціях або CTS (стаття 5, глава 3 Директиви IVD 98/79/ЄС).

Оцінка продуктивності була проведена в лабораторіях ЛАБЮЕІ для валідації пристрою ВІЛ Ab&Ag.

### R.1 АНАЛІТИЧНА ЧУТЛИВІСТЬ

Межа виявлення (або аналітична чутливість) аналізу була розрахована за допомогою препаратів, специфічних для виявлення антитіл до ВІЛ-1 та ВІЛ-2 та ВІЛ-1 р24 Ag, що надається NIBSC Blanche Lane South Mimms Potters Bar Hertfordshire EN6 3QG, Великобританія.

Зразки розбавляли у Ab та Ag ВІЛ-негативній плазмі для генерування граничних кривих розведення та досліджували у двох примірниках.

У таблицях нижче наведено середні значення ОЩ 450 нм (nm) та індекс S/Co:

Моніторинговий зразок NIBSC анти-ВІЛ-2  
код 99/674-019

| Зразок              | Лот № 3 |       | Лот № 4 |       | Лот № PS |       |
|---------------------|---------|-------|---------|-------|----------|-------|
|                     | ОЩ      | S/Co  | ОЩ      | S/Co  | ОЩ       | S/Co  |
| 1x                  | 3.982   | 22.37 | 3.982   | 22.25 | 3.737    | 20.99 |
| 2x                  | 3.982   | 22.37 | 3.982   | 22.25 | 3.582    | 20.12 |
| 4x                  | 3.947   | 22.17 | 3.961   | 22.13 | 3.478    | 19.54 |
| 8x                  | 3.871   | 21.74 | 3.849   | 21.50 | 3.275    | 18.40 |
| 16x                 | 2.969   | 16.68 | 2.962   | 16.55 | 2.997    | 16.83 |
| 32x                 | 1.670   | 9.38  | 1.660   | 9.27  | 1.684    | 9.46  |
| 64x                 | 0.953   | 5.35  | 0.949   | 5.30  | 0.959    | 5.38  |
| 128x                | 0.527   | 2.96  | 0.524   | 2.92  | 0.525    | 2.95  |
| 256x                | 0.313   | 1.76  | 0.313   | 1.75  | 0.315    | 1.77  |
| 512x                | 0.187   | 1.05  | 0.187   | 1.04  | 0.190    | 1.06  |
| 1024x               | 0.133   | 0.75  | 0.133   | 0.74  | 0.135    | 0.76  |
| Негативний Контроль | 0.058   | 0.32  | 0.057   | 0.32  | 0.06     | 0.33  |

Середнє значення ОЩ 450 нм (nm) Негативне = 0.058

Стандартне Відхилення (SD) = 0.025

Аналітична чутливість = середнє значення ОЩ 450 нм (nm)  
Негативне + 5 SD = 0.183

Пристрій показує граничне значення розведення на рівні 512x.

Британський робочий стандарт NIBSC для анти-ВІЛ-1  
код 99/750-024

| Зразок | Лот № 3 | Лот № 4 | Лот № PS |
|--------|---------|---------|----------|
|--------|---------|---------|----------|

| Розведення          | ОЩ    | S/Co  | ОЩ    | S/Co  | ОЩ    | S/Co  |
|---------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1x                  | 3.882 | 21.81 | 3.894 | 21.75 | 3.680 | 20.67 |
| 2x                  | 2.742 | 15.40 | 2.722 | 15.20 | 2.766 | 15.54 |
| 4x                  | 1.679 | 9.43  | 1.676 | 9.36  | 1.688 | 9.48  |
| 8x                  | 1.018 | 5.72  | 1.010 | 5.64  | 1.018 | 5.72  |
| 16x                 | 0.486 | 2.73  | 0.485 | 2.71  | 0.492 | 2.76  |
| 32x                 | 0.289 | 1.62  | 0.290 | 1.62  | 0.293 | 1.64  |
| 64x                 | 0.177 | 0.99  | 0.178 | 0.99  | 0.178 | 1.00  |
| 128x                | 0.120 | 0.67  | 0.120 | 0.67  | 0.122 | 0.69  |
| 256x                | 0.088 | 0.49  | 0.088 | 0.49  | 0.088 | 0.49  |
| 512x                | 0.073 | 0.41  | 0.073 | 0.41  | 0.073 | 0.41  |
| 1024x               | 0.065 | 0.36  | 0.065 | 0.36  | 0.065 | 0.36  |
| Негативний Контроль | 0.051 | 0.29  | 0.052 | 0.29  | 0.054 | 0.30  |

Середнє значення ОЩ 450 нм (nm) Негативне = 0.052

Стандартне Відхилення (SD) = 0.028

Аналітична чутливість = середнє значення ОЩ 450 нм (nm)  
Негативне + 5 SD = 0.192

Пристрій показує граничне значення розведення на рівні 32x.

NIBSC 1-й міжнародний довідковий реагент для ВІЛ-1 Ag  
код 90/636 - (Версія 4, 12 травня 2009 р.)

| Зразок              | Лот № 3       |       | Лот № 4 |       | Лот № PS |       |
|---------------------|---------------|-------|---------|-------|----------|-------|
|                     | МО/мл (IU/ml) | ОЩ    | S/Co    | ОЩ    | S/Co     | ОЩ    |
| 16                  | 2.734         | 15.36 | 2.720   | 15.19 | 2.759    | 15.50 |
| 8                   | 1.451         | 8.15  | 1.442   | 8.05  | 1.466    | 8.23  |
| 4                   | 0.776         | 4.36  | 0.777   | 4.34  | 0.783    | 4.40  |
| 2                   | 0.446         | 2.51  | 0.447   | 2.50  | 0.452    | 2.54  |
| 1                   | 0.261         | 1.47  | 0.261   | 1.46  | 0.263    | 1.48  |
| 0.5                 | 0.160         | 0.90  | 0.159   | 0.89  | 0.162    | 0.91  |
| 0.25                | 0.104         | 0.58  | 0.104   | 0.58  | 0.104    | 0.58  |
| Негативний Контроль | 0.052         | 0.29  | 0.052   | 0.29  | 0.054    | 0.30  |

Пристрій показує чутливість ≤ 2 МО/мл (IU/ml) відповідно до вимог CTS:2009.

### R.2 ДІАГНОСТИЧНА СПЕЦИФІЧНІСТЬ ТА ЧУТЛИВІСТЬ

#### R.2.1 Діагностична Специфічність

Визначається як ймовірність аналізу давати негативний результат за відсутності специфічного аналіту.

Було досліджено близько 1800 негативних зразків, отримано специфічність 100%.

Були досліджені всі найпоширеніші потенційно інтерферуючі речовини, включаючи корелюючі антитіла до вірусів гепатиту, HTLV I&II, анти-E. Coli та зразки вагітних.

Перехресних реакцій або хибнопозитивних результатів не виявлено.

#### R.2.2 Діагностична Чутливість

Визначається як ймовірність аналізу давати позитивний результат в присутності специфічного аналіту.

Діагностична чутливість була оцінена внутрішньо на загальній кількості 92 позитивних зразків, включаючи ВІЛ-2, ВІЛ-1 група O, ВІЛ-1 група M змішаних підтипів, ВІЛ-1 р24 антиген та супернатанти клітинної культури. Виявлена діагностична чутливість становить 100%.

Серія панелей була протестована.

Результати наведені в таблицях нижче.

Штаб-квартира Франції дю Санг  
Панель Ас анти-ВІЛ Аб (1-6) Лот № 49

| ID | Композиція  | Лот № 2 |
|----|-------------|---------|
|    |             | S/Co    |
| 1  | HIV1(1/700) | 22.04   |
| 2  | HIV1(1/160) | 25.05   |
| 3  | HIV1(1/200) | 17.91   |
| 4  | HIV2(1/500) | 25.05   |
| 5  | HIV2(1/500) | 25.05   |
| 6  | негативний  | 0.33    |

Штаб-квартира Франції дю Санг  
Панель Ас анти-ВІЛ Аб (1-6) Лот № 56

| ID | Лот № 3 | Лот № 4 |
|----|---------|---------|
|    | S/Co    | S/Co    |
| 1  | 17.56   | 17.85   |
| 2  | 22.43   | 23.63   |
| 3  | 10.97   | 12.76   |
| 4  | 22.43   | 23.63   |

|   |       |       |
|---|-------|-------|
| 5 | 22.43 | 23.63 |
| 6 | 0.29  | 0.24  |

**Міжнародний стандарт ВООЗ ВІЛ (антитіла), 1-а Міжнародна Референсна Панель (код NIBSC 02/210) (Версія 5.0 від 11.11.2012)**

| ID | Лот № PS |
|----|----------|
|    | S/Co     |
| 1  | 21.65    |
| 2  | 21.65    |
| 3  | 21.65    |
| 4  | 21.65    |
| 5  | 17.81    |
| 6  | 21.65    |
| 7  | 0.33     |

**Кваліфікаційна панель ВІЛ 1/2/О/р24 (код 0158)**

| ID | Лот № PS |
|----|----------|
|    | S/Co     |
| 1  | 19.98    |
| 2  | 0.35     |
| 3  | 21.65    |
| 4  | 20.42    |
| 5  | 3.96     |
| 6  | 21.65    |

Нарешті, 6 панелей **сероконверсії**, що містять зразки антитіл ВІЛ 1/2/О та/або ВІЛ-1 р24-позитивного антигену, отримані з ВВІ, США та Zeptomatrix, були оцінені за допомогою лоту № 2 та № 4 LUA-IVCOMB.CE. У таблиці нижче наведені результати.

| Панель сероконверсії | LUA-IVCOMB.CE                                       | LUA-IVCOMB.CE |
|----------------------|---|---------------|
|                      | Лот 2   | Лот 4         |
| <b>ID</b>            | <b>Перший зразок виявлений позитивним на панелі</b> |               |
| PRB 914 (N)          | 1   | 1             |
| PRB 930 (AE)         | н/д   | 1             |
| PRB 950 (AZ)         | 2   | н/д           |
| PRB 955 (BE)         | 2   | н/д           |
| PRB 956 (BF)         | 4   | н/д           |
| HIV9089-65376        | 4   | н/д           |

**R.3 ТОЧНІСТЬ**

Точність пристрою оцінювали, визначаючи його значення в межах і між прогонами. У таблиці нижче наведено результати для негативного зразка та низькопозитивного зразка.

| Середні значення N = 72 | Негативний зразок | Низькопозитивний |
|-------------------------|-------------------|------------------|
| S/Co                    | 0.29              | 9.18             |
| Стандартне відхилення   | 0.02              | 0.283            |
| CV %                    | 7.12              | 3.08             |

**R.4 ДОСТОВІРНІСТЬ**

Достовірність аналізу перевіряли тестом на розведення. Для такого дослідження спочатку серійно розводили позитивний зразок у негативній сироватці, а потім кожне розведення тестували у 3 повторях у 2 лотах. Були отримані наступні результати:

| ЛОТ | МО/мл (IU/ml) | Очікуване S/Co | Отримане S/Co | Відновлення % |
|-----|---------------|----------------|---------------|---------------|
| P3  | 16            |                | 15.36         |               |
|     | 8             | 7.68           | 8.15          | >100          |
|     | 4             | 3.84           | 4.36          | >100          |
|     | 2             | 1.92           | 2.51          | >100          |
|     | 1             | 0.96           | 1.47          | >100          |
|     | 0.5           | 0.48           | 0.90          | >100          |
| PS  | 16            |                | 15.50         |               |
|     | 8             | 7.75           | 8.23          | >100          |
|     | 4             | 3.87           | 4.40          | >100          |
|     | 2             | 1.94           | 2.54          | >100          |
|     | 1             | 0.97           | 1.48          | >100          |
|     | 0.5           | 0.48           | 0.91          | >100          |

**R.5 НАСИЧЕННЯ ВИСОКОЮ ДОЗОЮ («ХУК-ЕФЕКТ»)**

«Хук-ефект» - або недооцінка/неправильна інтерпретація позитивного результату через ефект насичення аналітичної системи, спричинений дуже високими дозами аналіту, - був виключений за допомогою зразка, який сильно реагував на антитіла до ВІЛ та антиген до ВІЛ. Нерозведений зразок показав дуже високе значення ОЩ 450 нм (nm)/620-630 нм (nm), і після кількох розведень у негативній сироватці, як для Антитіла ВІЛ, так і для Антигену ВІЛ, ефекту насичення не спостерігалось.

**S. ОБМЕЖЕННЯ**

Користувачеві цього набору рекомендується уважно прочитати та зрозуміти цю інструкцію до набору. Суворе дотримання протоколу необхідне для отримання достовірних результатів випробувань. Зокрема, точне піпетування зразків та реагентів, а також ретельне промивання та визначення термінів інкубаційних етапів є важливими для точного та відтворюваного виявлення антитіл до ВІЛ-1 та ВІЛ-2 та антигену р24 ВІЛ-1.

Після проведення ІФА тесту повторно реакційні зразки слід подати на додаткове тестування за допомогою Вестерн-Блот (WB), Імунофлуоресцентного аналізу (IFA), тесту на радіоімунопреципітацію (RIPA) та ПЛР на нуклеїнову кислоту ВІЛ.

Визначення того, що сироватка людини містить антитіла або антиген р24 до ВІЛ, має значні медичні, соціальні, психологічні та економічні наслідки. Рекомендується вважати конфіденційність, відповідне консультування та медичну оцінку суттєвим аспектом послідовності тестування. СНІД та захворювання, пов'язані зі СНІДом, є клінічними захворюваннями, і їх діагноз можна встановити лише клінічно.

**Тільки проведення ІФА не може бути використано для діагностики СНІДУ.**

Нереактивний результат тесту в будь-якому пункті послідовності тестування не виключає можливості зараження ВІЛ. Невідомим є ризик безсимптомної людини, яка постійно реагує, на розвиток СНІДУ чи пов'язаних з ним станів.

Помилково реактивні результати випробувань можна спостерігати за допомогою такого тестового набору. Частка реактивних зразків буде залежати від чутливості та специфічності набору для тестування та від поширеності антитіл до ВІЛ-1 та ВІЛ-2 у популяції, що підлягає скринінгу. Антитіла до ВІЛ можуть виникати через добровільну участь у дослідженні вакцини проти ВІЛ.

Інтерпретація цього діагностичного тесту буде залежати від типу вакцини. Для точної діагностики ВІЛ у добровольців з вакциною може знадобитися кореляція з історією хвороби та додатковими тестами.

Вся продукція IVD, вироблена компанією, перебуває під контролем сертифікованої Системи управління якістю, схваленої Уповноваженим органом з оцінки відповідності. Кожна партія проходить контроль якості та випускається на ринок лише за умови відповідності технічним регламентам та критеріям прийнятності.



**ВИРОБНИК:**

ТОВ «ЛАБЮЕЙ»  
вул. Петлюри, будинок 25  
м. Івано-Франківськ, 76018, Україна  
Тел.: +38 (067) 000-20-22  
E-mail: [info@labua.com.ua](mailto:info@labua.com.ua)



UA.TR.116