



INSTI
MULTIPLEX

ХИВ-1/2 сифилис* тест за антитела

*Обозначение **CE** за сифилис по лична декларация

Бърз еднократен тест за откриване на антитела срещу Човешки имунодефицитен вирус тип 1 (ХИВ-1), тип 2 (ХИВ-2) и *T. pallidum*

90-1028 - Един INSTI® Multiplex тест за антитела срещу ХИВ-1/2 Сифилис с помощни материали (за употреба на място)

15°C 30°C

Да се съхранява при 15°C – 30°C. Само за **ин vitro** диагностична **IVD** употреба.

Препоръчва се всички инструкции за употреба да бъдат прочетени преди началото на процедурата за тестване. Въпреки че тестът е проектиран да бъде лесен за употреба, съответствието с процедурата за тестване е необходимо, за да се гарантират точни резултати.

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ - не е за скрининг на донори

INSTI MULTIPLEX тест за антитела срещу ХИВ-1/2 Сифилис е еднократен, бърз, проточен *ин vitro* качествени имуноанализ за откриване на антитела срещу човешки имунодефицитен вирус тип 1/тип 2 и *Treponema pallidum* в човешка ЕДТА-целя кръв, кръв от пръста, серум или ЕДТА-плазма. Тестът е предназначен за използване от обучен персонал в медицински заведения, клинични лаборатории, спешни случаи и лекарски кабинети като ин vitro диагностично изделие, способно да даде резултати за по-малко от една минута. Той е подходящ за тестване до болничното легло или за изследване на място (РОС) и понастоящем не е одобрен за самостоятуване. Всички необходими указания за консултация преди и след теста трябва да се следват във всяка среда, в която се използва Тестът за откриване на антитела INSTI MULTIPLEX.

INSTI MULTIPLEX тест за антитела срещу ХИВ-1/2 Сифилис ще бъде наричан INSTI Multiplex тест в останалата част от настоящите инструкции за употреба.

РЕЗИОМЕ

Синдромът на придобита имунна недостатъчност (СПИН) се причинява от най-малко два ретровируса, ХИВ-1 и ХИВ-2. ХИВ-1 и ХИВ-2 са сходни по геномна структура, морфология и способност да причиняват СПИН.¹ ХИВ се предава главно чрез сексуален контакт, излагане на кръв или кръвни продукти, или от заразената майка на плода. Хората в повишен риск от ХИВ инфекция включват изключително употребяващи наркотици интривенозно, които споделят спеш с мъже (МСМ), ХИВ е изолиран от пациенти със СПИН, СПИН-свързан комплекс (СКК) и от лица във висок риск от заразяване със СПИН.²⁻⁵ Антителата, специфични за ХИВ обхващат протеини, преобладават в серумите от лица във висок риск от заразяване със СПИН, както и при хора със СПИН или СКК.⁵⁻⁷ Наличието на антитела срещу ХИВ показва предишна експозиция на вируса, но не представлява непременно диагноза СПИН. Разпространението на антитела срещу ХИВ при хора, за които не е известно до са изложени на риск от заразяване с ХИВ, не е известно, но е значително по-малко.⁵ Липсата на антитела срещу ХИВ не показва, че индивидът е свободен от ХИВ-1 или ХИВ-2; ХИВ е изолиран от серонегативни индивиди преди сероконверсия. Специфичността и чувствителността на теста зависят, наред с други фактори, от: а) избора на ХИВ антигени, използвани за откриване на антитела, б) класовите антитела, признати от коногата за откриване, и в) сложността на протокола, използван за извършване на теста.⁸ В някои проби може да се наблюдават неспецифични реакции. Реактивен резултат от INSTI тест следва да се счита за предварителен резултат, след извършване на необходимото консултиране на място. След реактивен резултат от бърз тест за ХИВ трябва да се вземе венозна кръвна проба в епруветка за събиране на ЕДТА (за цяла кръв или плазма) и да се изпрати в лаборатория за потвърждаващ тест за ХИВ.

Treponema pallidum е причинител на сифилис. Някои от протеините на този организъм са силно имунореактивни и инфектираните лица развиват антитела скоро след инфекцията. Тези антитела не се появяват от лечението и след като бъдат индуцирани, те остават откриваеми в продължение на години. Възможно е човек да е положителен за антитела за *T. pallidum*, но да е излекуван от инфекцията. След реактивен резултат за *T. pallidum* антитела, трябва да се вземе венозна кръвна проба в епруветка за събиране на ЕДТА (за цяла кръв или плазма) или епруветка с червена капачка (за серум) и да се изпрати в лаборатория за потвърждаващо изследване за сифилис. Необходим е потвърдителен тест за определяне на активен сифилис или минала инфекция при пациента.

ПРИНЦИПИ НА ТЕСТА

INSTI Multiplex тест е ръчен тест, с визуално отчитане, поточен имуноанализ за качествено откриване на ХИВ-1/ХИВ-2 и сифилис IgG и/или IgM¹⁷ антитела в човешка кръв, серум или плазма. Тестът се състои от синтетична филтрационна мембрана, разположена върху абсорбиращ материал в пластмасов патрон, наричан **мембранен модул INSTI**. Мембраната е специално третирана с ХИВ-1 и ХИВ-2 рекомбинантни протеини и сифилис антигени, които реагират с ХИВ-1/ХИВ-2 и сифилис IgG и/или IgM антитела в пробата, за да се получат ясно зрители сигнали върху мембраната. Мембраната включва и процедурен контрол. Процедурният контрол се състои от място, третирано с протеин А, способно да улови IgG или IgM антитела, които обикновено присъстват в кръвата и кръвните съставки. IgG или IgM антителата реагират с патентован хроматичен агент, за да произведат визуален сигнал върху мембраната.

Тъй като IgG и/или IgM антитела могат да присъстват в кръвата от нормални или ХИВ или сифилис положителни човешки проби, контролната точка осигурява визуален сигнал при провеждане на теста, което показва, че тестът е извършен правилно. Ако контролната точка не се появи, тестът се счита за невалиден. При тестовите точки, рекомбинантните ХИВ-1/ХИВ-2 и сифилис протеини, вградени в мембраната, улавят специфични антитела, ако има такива в пробата. Антителата, уловени в мембраната, реагират с патентован хроматичен агент, за да произведат видими сигнали върху мембраната. Мембраният модул е проектиран да филтрира, абсорбира и задържа пробата и всички реагенти по такъв начин, че да ограничи изтичането и изпадането на персонала на потенциално инфекциозни материали.

Реагентите, необходими за провеждане на теста, включват разредител за проби, цветен проявител и избистращ разтвор. Тестът се извършва чрез добавяне на кръвната проба, серума или плазмата към флакона с разредителя на пробата, който разгражда червените кръвни клетки и разреджа пробите. След това пробата/разтворът на разредителя се излива върху ямката на мембраният модул. Антителата за ХИВ-1/ХИВ-2 и сифилис, ако присъстват в пробата, се улавят от протеини върху филтрационната мембрана. След това към мембраният модул се добавя

цветен проявител. Проявителят реагира с уловените антитела, за да образува ясна синя точка на мястото на контролната зона и, в случай че в пробата има ХИВ-1/ХИВ-2 и/или сифилис антитела, на мястото на едната или двете тестови зони върху мембраната се появява синя точка. В последната стъпка към мембраната се добавя разтворът за избистряне, за да се намали фоновият цвят и за да станат контролните и тестовите точки по-отчетливи.

Избор на антигени: изследваната от INSTI ХИВ-1/ХИВ-2 част използва комбинация от рекомбинантни трансмембрани протеини от ХИВ-1 (gp41) и ХИВ-2 (gp36). Използването на тези протеини преодолява чувствителността и специфичните проблеми, свързани с теста на базата на вирусни лизати или комбинация от основен антиген и други вирусни протеини.⁹⁻¹³ Сифилисовите антигени, свързани с мембраната, се състоят от рекомбинантен фузионен протеин, получен от p17 и p47 домейни на *Treponema pallidum*.

Откриване на антитела: тестът INSTI Multiplex използва уникален реагент за откриване на антитела срещу ХИВ-1/ХИВ-2 и сифилис. Въпреки че е проектиран предимно за откриване на специфични антитела от IgG клас, е доказано, че частта от теста INSTI ХИВ-1/ХИВ-2 открива IgM антитела в проби, взети в началото на ХИВ инфекцията по време на сероконверсия, и в проби с ниски титри на анти-ХИВ-1, взети при по-късен етап на инфекцията¹⁷.

Сложност на теста: тестът INSTI Multiplex е проектиран да намали сложността на протокола. Тестът INSTI Multiplex не изисква подготовка на пробата, точно определяне на времето, или няколко стъпки, които включват многократно измиване и реагенти. Тези изисквания увеличават сложността на теста и водят до процедури грешки, които могат да повлияят неблагоприятно на чувствителността и специфичността. Общото време за теста може леко да варира в зависимост от вида на пробата, но резултатите от валидните тестове обикновено могат да се отчетат в рамките на една минута.

ВЗЕМАНЕ И СЪХРАНЯВАНЕ НА ПРОБИ

1. За проби ЕДТА-целя кръв, ЕДТА-плазма или серум, следвайте нормалните процедури за вземане на кръв чрез венепункция, която използва епруветки с антикоагулант ЕДТА и лилавя капачка (за цяла кръв и плазма) или епруветки за серум с червена капачка (без антикоагулант).

2. Ако ще се използва плазма или серум, отделете кръвните клетки чрез центрофугиране.

3. Серум или ЕДТА-плазма може да се съхраняват при 2-8°C до 5 дни, замразени при ≤ -20°C за 3 месеца, и замразени при ≤ -70°C за една година.

4. Проби цяла кръв, взети с ЕДТА антикоагулант, могат да бъдат съхранявани при 2-8°C и трябва да се изследват в рамките на 48 часа. **Не нагрявайте и не замразявайте пробите цяла кръв.**

5. Не разреджайте преди изследване.

КОМПОНЕНТИ НА КОМПЛЕКТА И СЪХРАНЕНИЕ

Компонентите на INSTI трябва да се съхраняват при 15-30°C. Всички компоненти на комплекта са опаковани индивидуално само за еднократна употреба. Всеки тест изисква следните материали:

1. **Мембранен модул,** индивидуално опакован, подготвен с контрол (IgG и/или IgM улавяне), ХИВ тест (gp41 и gp36 антиген) и *T. pallidum* (p17-p47 антиген) реакционни зони. Само за еднократна употреба по време на INSTI процедурата.

2. **Разредител за проба,** Δ разтвор, флакон 1, съдържащ 1,5 ml трис-глицин буферен разтвор, съдържащ реагенти за клетъчна лиза, с достатъчно място за добавяне на проби кръв, серум или плазма, които се изследват с INSTI. Готов за употреба, обърнете 2-3 пъти непосредствено преди употреба.

3. **Цветен проявител,** Δ разтвор, флакон 2, съдържащ 1,5 ml индикаторен патентован буферен разтвор на борат със син цвят, предназначен за откриване на IgG и IgM в контролната зона и специфични антитела срещу ХИВ и *T. pallidum* в тестовите зони. Готов за употреба, обърнете 2-3 пъти непосредствено преди употреба.

4. **Избистрящ разтвор,** Δ разтвор, флакон 3, съдържащ 1,5 ml патентован, трис-глицин буферен избистращ разтвор, предназначен да отстранява фоновото оцветяване от мембраният модул преди отчитане на резултатите от теста INSTI. Готов за употреба, не са необходими подготовка или смесване.

Всички разтвори съдържащ 0,1% натриев азид, като консервант и са вредни при поглъщане. Всички разтвори са само за еднократна употреба и са стабилни към датата и при условията на съхранение, посочени на етикетите.

ПОМОЩНИ МАТЕРИАЛИ

При изследване на цяла кръв от проба от пръста са необходими следните материали:

1. Тампон със спирт за еднократна употреба

2. Ланцет за еднократна употреба

3. Пипета за еднократна употреба 50 µl

МАТЕРИАЛИ, КОИТО СА НЕОБХОДИМИ, НО НЕ СЕ ПРЕДОСТАВЯТ

- Лични предпазни средства
- Подходящи контейнери за биологично опасни отпадъци и дезинфектанти
- Абсорбиращи памучни тампони за поставяне върху раната при вземане на проба от пръста или чрез венепункция

За вземане на кръв и изследване чрез венепункция:

- Средства за венепункция, ако се вземат кръвни проби
- Подходящи епруветки за вземане на кръв
- Подходящи контейнери за транспортиране
- Преизпаз пипета за вземане на 50 µl проба

МАТЕРИАЛИ, НАЛИЧНИ КАТО ДОПЪЛНЕЛНИЕ КЪМ КОМПЛЕКТА

INSTI *T. pallidum* положителна контролна проба за антитела: отделни флакони с анти-*T. pallidum* положителна дефинирирана контролна проба от човешка плазма, продукт номер 90-1032, са налични от bioLytical Laboratories.

INSTI ХИВ-1/ХИВ-2 тестови контроли: отделни ХИВ-отрицателни човешки серумни заместители и ХИВ-1/ХИВ-2 положителни дефинирирани контроли проби от човешка плазма, продукт номер 90-1036 са налични от bioLytical Laboratories, за използване при процедури за контрол на качеството.

Моля, вижте раздела за контрол на качеството, следвайки процедурата за анализ, инструкциите за употреба на INSTI Multiplex тестови контроли и инструкциите за употреба на INSTI ХИВ-1/ХИВ-2 тестови контроли.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

Само за *ин vitro* диагностична употреба

Препоръчва се всички инструкции за употреба да бъдат прочетени преди началото на процедурата за тестване. Въпреки че тестът е проектиран да бъде лесен за използване, съответствието с процедурата за тестване е необходимо, за да се гарантират точни резултати.

1. **Да не се смесват реагенти от различни партиди.**

2. Да не се използват реагенти или комплекти с изтекъл срок на годност.

3. Да не се използва мембранен модул, чиято торбичка от фолио е била отворена или цялостта на опаковката е нарушена. След отварянето на мембраният модул, той трябва да се използва незабавно.

4. Да се избягва микробно замърсяване на реагентите.

5. Δ Натриевият азид присъства в 0,1% във всички реагенти на теста. Натриевият азид може да реагира с оповни или медни тръби и да образува силно експлозивни метални азиди. Ако продуктите, съдържащи натриев азид, се изхвърлят в канализацията, промийте с голямо количество вода, за да предотвратите натрупване на азид. Консултирайте се с местните регулаторни агенции, за да определите при каква концентрация на натриев азид даден продукт може да бъде класифициран като опасен отпадък.

6. Експлоатационните характеристики на теста INSTI ХИВ-1/ХИВ-2 не са установени за телесни течности, различни от ЕДТА цяла кръв, кръв от пръст, серум и ЕДТА-плазма. Употребата на кръв, взета в антикоагуланти, различни от ЕДТА, не е валидна. Няма достатъчно данни, за да се интерпретират тестове, извършени върху други телесни течности, сборна кръв или сборен серум и ЕДТА-плазма, или продукти, произведени от такива съборве.

7. Ако не използват препоръчаните обеми на реагентите и пробите, може да се получи изтичане и/или преливане на течности от мембраният модул.

8. Ако тест комплектът е изложен на температури извън диапазона 15°-30°C, преди извършване на теста се уверете, че този температурен диапазон е достигнат. Използвайте контролката на INSTI за сифилис и валидираните контроли за ХИВ, за да осигурите правилната употреба на комплекта

9. Δ При пациенти, провеждащи продължително антиретровирусно медикаментозно лечение, може да се получат фалшиво отрицателни ХИВ-1/ХИВ-2 резултати от теста.

10. При проби от пациенти с тежка хипогамаглобулинемия, като множествен миелом, може да се получат фалшиво отрицателни или невалидни резултати за ХИВ от INSTI Multiplex.

11. Пациентите с повишени нива на хемоглобин могат да покажат фалшиво отрицателни резултати за ХИВ с INSTI Multiplex.¹⁵

12. Тъй като тестът INSTI Multiplex има по-нисък афинитет към антитела от клас IgM в сравнение с IgG, пациентите в ранен първичен стадий на сифилис инфекция могат да дадат отрицателен резултат за *T. pallidum* антитела с INSTI Multiplex.

ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

1. Δ С всички проби трябва да се работи така, сякаш са в състояние да предават инфекциозни заболявания. Препоръчва се да се спазва Директива 2000/54/ЕО или еквивалентни регламенти.¹⁴

2. След работа с материалите за този тест или извършването му, измивайте старателно ръцете си.

3. В зони, където се работи с реагенти от комплекта или проби, не трябва да пушите, да се храните или да пиете.

4. Носете лабораторна престилка и ръкавици за еднократна употреба, когато работите с реагенти от комплекта или проби. Не пипайте със уста.

5. Избягвайте контакт с кожата и очите. При контакт, измийте засегнатите зони с вода.

6. Избягвайте образуването на аерозоли.

7. Δ Изхвърлете всички проби и материали, използвани за извършване на теста, все едно съдържащ инфекциозни агенти. Предпочитаният метод за изхвърляне е стерилизация чрез автоклавиране в продължение на минимум един час при 121°C, последвано от изгаряне. Течните отпадъци, които не съдържащ киселина, и неутрализираните отпадъци могат да се смесват с натриев хипохлорит в такива обеми, че крайната смес да съдържа 0,5% натриев хипохлорит (разтвор, съдържащ 10% белина за домакинството). Изчакайте поне 30 минути, за да завърши обеззаразяването. **Да не се автоклавираят разтвори, които съдържа белина.**

8. При разлив, почистете и обеззаразете в съответствие с установените в помещението на ползвателя процедури за обработване на разлети биологично опасни материали.

ТЕСТОВА ПРОЦЕДУРА

ЗАБЕЛЕЖКА: всички мембрани модули INSTI трябва да се използват веднага след отваряне. Всички реагенти трябва да се дозират равномерно в центъра на ямката.

Вземане на проби от кръв от пръстите:

1. Пригответе помощни материали (тампон, ланцет, пипета), една запечатана тестова торбичка, съдържаща мембранен модул INSTI, и по един флакон от разредителя за проба, цветния проявител и избистрящия разтвор за всеки тест, който трябва да се извърши.

Δ **ВНИМАНИЕ!** Количеството проба (кръв от пръст) е от решаващо значение. За да сте сигурни, че е взето правилното количество кръв, следвайте внимателно следните инструкции:

2. Масажирайте пръста, за да позволите на кръвта да се придвижи към повърхността (върхът на пръста ще стане розов). Използвайте награвателна подложка, ако има такава, за да затоплите ръката. Ръката трябва да бъде поставена на нивото на талията или по-ниско.

3. Избършете върха на пръста с тампон със спирт.

4. Веднага щом пръстът изсъхне, завъртете и премахнете защитната вложка на ланцета. Натиснете пръста силно в точката точно под мястото, където ще се приложи ланцета. С другата ръка поставте ланцета отстрани на върха на пръста и натиснете силно, докато шракне. Незабавно изхвърлете използвания ланцет в подходящ контейнер за остри предмети.

1. Пригответе помощни материали (тампон, ланцет, пипета), една запечатана тестова торбичка, съдържаща мембранен модул INSTI, и по един флакон от разредителя за проба, цветния проявител и избистрящия разтвор за всеки тест, който трябва да се извърши.

2. Масажирайте пръста, за да позволите на кръвта да се придвижи към повърхността (върхът на пръста ще стане розов). Използвайте награвателна подложка, ако има такава, за да затоплите ръката. Ръката трябва да бъде поставена на нивото на талията или по-ниско.

3. Избършете върха на пръста с тампон със спирт.

4. Веднага щом пръстът изсъхне, завъртете и премахнете защитната вложка на ланцета. Натиснете пръста силно в точката точно под мястото, където ще се приложи ланцета. С другата ръка поставте ланцета отстрани на върха на пръста и натиснете силно, докато шракне. Незабавно изхвърлете използвания ланцет в подходящ контейнер за остри предмети.

5. Когато се образува капката кръв, задържте пипетата хоризонтално и докоснете върха на пипетата до кръвната проба. Капилярното действие автоматично изтегля пробата към линията за пълнене и спира. Ако от пункцията се стича много малко кръв, екивалентно

приложете периодично налягане под мястото на пункцията, за да получите необходимия обем кръв. Ако кръвата е недостатъчна, извършете втора кожна пункция с нов ланцет.



ВНИМАНИЕ! Пълненето е автоматично: никога не стискайте крушката на пипетата, докато вземате проби.

6. Прехвърлете кръвата, съдържаща се в пипетата, във флакона с разредителя за проби (Разтвор 1). Изравнете върха на пипетата с флакона с разредителя за пробата и стиснете крушката, за да дозирате пробата (вж. фигура А). **ЗАБЕЛЕЖКА:** ако пробата не се отдели, задържте пипетата вертикално и плъзнете пръст през отвора (без да натискате), след което стиснете крушката (вж. фигура Б). Поставете обратно капачката на флакона и разбъркайте често обръщане. Следвайте Общата процедура след вземането на проби, по-долу.

7. Ако не използват препоръчаните обеми на реагентите и пробите, може да се получи изтичане и/или преливане на течности от мембраният модул.

8. Ако тест комплектът е изложен на температури извън диапазона 15°-30°C, преди извършване на теста се уверете, че този температурен диапазон е достигнат. Използвайте контролката на INSTI за сифилис и валидираните контроли за ХИВ, за да осигурите правилната употреба на комплекта

9. Δ При пациенти, провеждащи продължително антиретровирусно медикаментозно лечение, може да се получат фалшиво отрицателни ХИВ-1/ХИВ-2 резултати от теста.

10. При проби от пациенти с тежка хипогамаглобулинемия, като множествен миелом, може да се получат фалшиво отрицателни или невалидни резултати за ХИВ от INSTI Multiplex.

11. Пациентите с повишени нива на хемоглобин могат да покажат фалшиво отрицателни резултати за ХИВ с INSTI Multiplex.¹⁵

12. Тъй като тестът INSTI Multiplex има по-нисък афинитет към антитела от клас IgM в сравнение с IgG, пациентите в ранен първичен стадий на сифилис инфекция могат да дадат отрицателен резултат за *T. pallidum* антитела с INSTI Multiplex.

Вземане на проби от цяла кръв, серум, плазма и тестови контроли:

1. Оставете образците на стайна температура и разбъркайте добре всеки образец преди употреба. **Не нагрявайте и не замразявайте/размразявайте многократно образците.**

2. Вземете една запечатана тестова торбичка, съдържаща мембранен модул INSTI и по един флакон от разредителя за пробата, цветния проявител и избистрящия разтвор за всеки тест, който трябва да се извърши.

3. С помощта на пипета добавете 50 µl цяла кръв, серум, плазма или контроли на комплекта (вижте забележката) към флакона с разредителя за проби. Запушете флакона и смесете с обръщане 2-3 пъти.

Δ Добавянето на по-голямо от необходимото количество проба може да стане причина за преливане или изтичане от устройството.

ЗАБЕЛЕЖКА: при изследване на място, за контролните комплекти INSTI е важно да използвате пипета с вместимост 50 µl, за да добавите контролния материал към флакона с разредителя за проби. Не използвайте пипетата за еднократна употреба, предвидена за вземане на кръв от пръста.

Обща процедура след вземане на проби:

1. Разкъсайте торбичката и извадете мембраният модул INSTI, без да докосвате центъра на легненето. Поставете модула на равна повърхност. За целите на идентифицирането на пробата, допълнят раздел на мембраният модул може да бъде обозначен с мястото или номера на пациента.

2. След работа с материалите за този тест или извършването му, измивайте старателно ръцете си.

3. В зони, където се работи с реагенти от комплекта или проби, не трябва да пушите, да се храните или да пиете.

4. Носете лабораторна престилка и ръкавици за еднократна употреба, когато работите с реагенти от комплекта или проби. Не пипайте със уста.

5. Избягвайте контакт с кожата и очите. При контакт, измийте засегнатите зони с вода.

6. Избягвайте образуването на аерозоли.

7. Δ Изхвърлете всички проби и материали, използвани за извършване на теста, все едно съдържащ инфекциозни агенти. Предпочитаният метод за изхвърляне е стерилизация чрез автоклавиране в продължение на минимум един час при 121°C, последвано от изгаряне. Течните отпадъци, които не съдържащ киселина, и неутрализираните отпадъци могат да се смесват с натриев хипохлорит в такива обеми, че крайната смес да съдържа 0,5% натриев хипохлорит (разтвор, съдържащ 10% белина за домакинството). Изчакайте поне 30 минути, за да завърши обеззаразяването. **Да не се автоклавираят разтвори, които съдържа белина.**

8. При разлив, почистете и обеззаразете в съответствие с установените в помещението на ползвателя процедури за обработване на разлети биологично опасни материали.

ТЕСТОВА ПРОЦЕДУРА

ЗАБЕЛЕЖКА: всички мембрани модули INSTI трябва да се използват веднага след отваряне. Всички реагенти трябва да се дозират равномерно в центъра на ямката.

Вземане на проби от кръв от пръстите:

1. Пригответе помощни материали (тампон, ланцет, пипета), една запечатана тестова торбичка, съдържаща мембранен модул INSTI, и по един флакон от разредителя за проба, цветния проявител и избистрящия разтвор за всеки тест, който трябва да се извърши.

Δ **ВНИМАНИЕ!** Количеството проба (кръв от пръст) е от решаващо значение. За да сте сигурни, че е взето правилното количество кръв, следвайте внимателно следните инструкции:

2. Масажирайте пръста, за да позволите на кръвта да се придвижи към повърхността (върхът на пръста ще стане розов). Използвайте награвателна подложка, ако

INSTI ХИБ-1/ХИБ-2 ТЕСТ:	Брой панели
Открита е най-ранната кръвна проба, установена от EIA	15
Открито до 1 кръвна проба от най-ранния положителен EIA	10
Открито до 2 кръвни проби от най-ранния положителен EIA	3
Неизвестно**	2

**Последната кръвна проба в панела е реактивна с поне 1 EIA, нереактивна с INSTI.

Реактивност с ХИБ-1: панел с нисък титър

Единичен панел с нисък титър на ХИБ-1 антигела (#PRB -108; Boston Biomedica) е тестван с теста INSTI за ХИБ-1/ХИБ-2 антигела. Този панел с нисък титър се състои от 15 серумни/плазмени проби. Резултатите от това проучване са обобщени в таблицата по-долу. Това проучване показва, че теста INSTI за ХИБ-1/ХИБ-2 антигела има способността да открива антигела срещу ХИБ-1, подобни на наличните понастоящем EIA, лицензирани от Агенцията за контрол на храните и лекарствата.

	Проба №														
Тест	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
INSTI ХИБ-1/ХИБ-2	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п
Abbott EIA	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п
Abbott HIVAB HIV-1/HIV-2 (rDNA)EIA	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п
Cambridge Biotech Recombigen HIV-1 EIA	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п
Syva EIA	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п
Organon Teknika Vironostika Anti-HIV Uni-Form II	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п
Murex HIV 1/2 EIA	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п
Ortho HIV-1/HIV-2 EIA	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п
Sorin ETI-Ab-HIV 1/2K EIA	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п
Syva Microtrak II EIA	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п
Behringwerke ENZ PLUS Anti HIV 1/2	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п
Biostat Anti-HIV-1/HIV-2 Recombinant EIA	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п
Boehringer Mannheim Anti HIV-1/HIV-2 EIA	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п
IAF Biochem Detect - HIV EIA	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п
Diagnostic Pasteur Genelavia EIA	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п
bioMerieux VIDAS anti-HIV-1/2 EIA	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п
Murex Wellcozyme HIV-1/HIV-2 EIA	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п
Behringwerke Enzygnost Anti HIV 1+2 EIA	о	п	о	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п
Cellular Products HIV-1 EIA	о	п	п	п	п	п	п	п	п	о	п	п	п	п	п
Genetic Systems LAV EIA	о	п	п	п	п	п	п	п	о	п	п	п	п	п	п
Genetic Systems HIV-1/HIV-2 EIA	о	п	о	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п	п

*Тези проби са потвърдено положителни (П) с EIA и Western Blotting (Данни от листовката на Boston Biomedica, май 1995 г., стр. 2)

Интерферирани вещества и несвързани заболявания

За да се оцени влиянието на несвързани заболявания или интерферирани вещества върху чувствителността на теста INSTI за ХИБ-1/ХИБ-Х антигела, 195 серумни/плазмени проби от различни медицински състояния, несвързани с ХИБ-1 инфекция и 217 проби с интерферирани вещества бяха заредени с ХИБ-1 положителна проба; вж. таблицата в раздела Специфичност за списъка на изследваните медицински състояния и вещества. Всички проби дадоха реактивни резултати.

ОТКРИВАНЕ НА АНТИТЕЛА СРЕЩУ ХИБ-2 В ПРОБИ ОТ ЛИЦА, ЗАРАЗЕНИ С ХИБ-2

Общо 137 индивидуални ХИБ-2 положителни проби са получени от европейски източници. 49 серума от индивиди с хронична ХИБ-2 инфекция са реагирали на теста INSTI за ХИБ-1/ХИБ-2 антигела. Допълнителни 88 ХИБ-2 положителни серумни и плазмени проби са приготвени като изкуствена цяла кръв; всичките 88 изкуствени проби са реагирали на теста INSTI за ХИБ-1/ХИБ-2 антигела. Комбинираните резултати от двете проучвания, относителната чувствителност на теста INSTI за ХИБ-1/ХИБ-2 антигела за откриване на ХИБ-2 антигела в тези проучвания е изчислена на 100% (137/137).

ИЗСЛЕДВАНЕ ЗА ХИБ-1 ПОДВИД

За да се оцени чувствителността на теста INSTI за ХИБ-1/ХИБ-2 антигела за ХИБ-1 варианти от различни географски региони, са изследвани общо 118 индивидуални потвърдени ХИБ-1 антигела-положителни проби от не-В подтип серум/плазма; от тези 118 проби 109 са били не-В подтипове, включително 23 проби от подтип О. Всички 118 проби са реактивни с INSTI, генерирайки обща чувствителност от 100% на теста INSTI за ХИБ-1/ХИБ-2 антигела за ХИБ-1 не-В подтипове.

СПЕЦИФИЧНОСТ

Извършено е проучване за специфичност с използване на 1386 новополучени проби, взети от лица с нисък или неизвестен риск и високорискови индивиди като част от многоцентрово проспективно клинично изпитване. От 1386 проби, 1376 са дали резултат без реакция с INSTI, а

4 са невалидни. Резултатите от теста INSTI ХИБ-1/ХИБ-2 за антигела са сравнени с резултатите от комбиниран референтен метод (сравнителен метод), който се състои от одобрена от Агенция за контрол на храните и лекарствата EIA с допълнителен Western blot и PCR, според изискванията. Общо 7 INSTI фалшиво реактивни резултата (1 от високорисковата група, 6 от нискорисковата или групата с неизвестен риск) са получени от 1382 проби от ХИБ-отрицателни индивиди, които са дали валидни INSTI резултати. От тези данни е изчислено, че общата специфичност на теста INSTI за ХИБ-1/ХИБ-2 антигела в цели кръвни проби от пръст от комбинираните популации с висок риск и с нисък или неизвестен риск, минуо невалидните резултати, е 1375/1382 = 99,5% (95% CI = 99,0% - 99,8%).

Извършване на тест INSTI за ХИБ-1/ХИБ-2 антигела върху цели кръвни проби от пръст от лица, за които се предполага, че са отрицателни за ХИБ инфекция

Група на изпитване	Общо проби	INSTI нереактивни	Одобрен тест без реакция ²	Действителн о отрицателен ²
Нисък риск	626	620	626	626
Висок риск	782	756 ¹	760 ²	760
ОБЩО	1408	1376	1386	1386

¹ 4 невалидни резултата не бяха включени в изчисляването на специфичността. Четирите проби, дали невалидни резултати с INSTI, са били нереактивни при одобрения тест.
² 22 реактивни са потвърдени от лицензиран ХИБ-1 Western Blot и са изключени от изчисляването на специфичността.
³ От 22-те INSTI реактивни проби, едната е била не-реактивна при одобрения тест, т.е. INSTI фалшиво реактивна.

Интерферирани вещества и несвързани заболявания

За да се оцени влиянието на несвързани заболявания или интерферирани вещества върху спецификата на теста INSTI за ХИБ-1/ХИБ-2 антигела, бяха анализирани 195 серумни/плазмени проби от различни заболявания, несвързани с ХИБ-1 инфекция и 217 проби с интерферирани вещества. Пет проби от индивиди с мултиплен миелом дават невалидни резултати. Не са получени фалшиви реактивни резултати.

Заболяване (n=195)	Брой проби	INSTI реактивен	INSTI нереактивен
Токсоплазмоза	20	0	20
Ревматоиден фактор	20	0	20
Мултиплен миелом	10	0	5
Сифилис	30	0	30
Лупус (SLE)	5	0	5
Рубеола	20	0	20
Цитомегаловирус (CMV)	20	0	20
Епщайн-Бар вирус (EBV)	20	0	20
Човешки Т-лимфотропен вирус - HTLV III плака	15	0	15
Вирус на хепатит Б (HBV)	20	0	20
Вирус на хепатит А (HAV)	15	0	15
Интерферирани вещества (n=217)			
Иктеричен	20	0	20
Повишен билирубин	19	0	19
Липемичен	20	0	20
Визуална хемолиза	5	0	5
Повишени триглицериди	19	0	19
Повишен хемоглобин	20	0	20
Повишен албумин	15	0	15
ЕДТА	13	0	13
Натриев хепарин	13	0	13
Натриев цитрат	13	0	13
Бактериално замърсен	60	0	60

Освен това са изследвани общо 208 проби от бременни жени в различни триместри на бременността, за които е потвърдено, че са ХИБ-1 отрицателни чрез 3^{то} поколение ХИБ ензимен имуноанализ. Една проба (1/208) дава невалиден резултат, всички други INSTI резултати са не-реактивни.

ПРОУЧВАНИЯ ЗА ЕКВИВАЛЕНТНОСТ

Тестът INSTI за ХИБ-1/ХИБ-2 антигела е оценен с използване на съответстващи серумни и плазмени проби. Тестът е проведен с 50 анти-ХИБ-1 отрицателни проби (25 серумни и 25 плазмени) и 50 положителни проби с добавен анти-ХИБ-1. Всички проби са с приемлива ефективност на изследването. Тези резултати показват 100% относителна чувствителност и 100% относителна специфичност със съответната серумна и плазмена плака и че типовете серумни и плазмени проби са еквивалентни.

ВЪЗПРОИЗВОДИМОСТ НА ХИБ

Възпроизводимостта на частта INSTI ХИБ-1/ХИБ-2 от Multiplex теста е изследвана в 3 лаборатории, като са използвани 3 партии от теста INSTI за ХИБ-1/ХИБ-2 антигела в 3 отделни дни. На всяко място е изследван панел от 9 слъпо кодирани плазмени проби, състоящи се от 4 положителни проби за антигела, 1 проба с много ниско ниво на антигела и 4 отрицателни проби за антигела. Проведени са общо 729 теста, 243 във всяка лаборатория. За 4-те положителни за антигела и 4-те отрицателни за антигела проби общата възпроизводимост е 99,7% (646/648, две отрицателни за антигела проби са отчетени като слабо положителни в 1 лаборатория). За 1 проба с много ниско ниво на антигела, 59% (48/81) от резултатите са положителни, докато 41% (33/81) са отрицателни.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НА КЛИНИЧНОТО ДЕЙСТВИЕ НА СИФИЛИС (T. pallidum)

Вътрешни проучвания

По-долу са представени данни от паралелни вътрешни проучвания за аглутинация на частици от INSTI Multiplex и *T. pallidum* (TP-PA) на замразени, архивирани серумни и плазмени проби, получени от търговски източници.

Резултатите от тестовете INSTI Multiplex за антигела *T. pallidum* са сравнени с СЕ маркирана *T. pallidum* аглутинация на частици (TP-PA), n=524 серумни/плазмени проби, за които е известно, че са TP-PA отрицателни или положителни.

INSTI Multiplex <i>T. pallidum</i> антигела	Окончателно тълкуване на TP-PA		
	Положителен	Отрицателен	Общо
Реактивен	138	5	143
Нереактивен	7	374	381
Общо	145	379	524

ЗАБЕЛЕЖКА: в независимо проучване, проведено в Centre National de la Reference de la Syphilis, Париж, Франция¹⁸, чувствителността на INSTI Multiplex върху проби от пациенти с известен вторичен сифилис е 100% (41/41).

Полеоо изследване

В независимо проспективно полево изследване, проведено в Бангалор, Индия през 2012-2013 г. върху популация, изложена на риск от ХИБ и ППИ (n=1010 плазма), ефективността на теста INSTI Multiplex е оценена спрямо статуса на сифилис и ХИБ на всеки пациент, определен чрез алгоритъм от серологични методи за сифилис (RPR, TPHA) и тестове за ХИБ антигела (два бързи теста за страничен поток ХИБ-1/ХИБ -2 плюс един бърз ХИБ-1/ХИБ-2 ELISA тест). Резултатите са представени по-долу.

Клинично действие на теста INSTI Multiplex срещу Rapid Plasma Reagin (RPR) тест за сифилис за популцията на проспективното полево изследване, n=1010.

Rapid Plasma Reagin (RPR) тест	INSTI Multiplex <i>T. pallidum</i> антигела - положителен	INSTI Multiplex <i>T. pallidum</i> антигела - отрицателен
Положителен	12 ¹	5 ²
Отрицателен	2 ³	991
Общо	14	996

¹ 11/12 са потвърдено положителни с *T. pallidum* Haemagglutination Assay (TPHA) и 1/12 се счита за фалшиво положителен с INSTI и RPR.
² 3/5 са потвърдено положителни чрез TPNA, т.е. INSTI фалшиво отрицателни и 2/5 са отрицателни чрез TPNA, т.е. RPR биологичен фалшиво положителни.
³ 2/2 са потвърдено положителни чрез TPNA, т.е. RPR фалшиво отрицателни

Броят на действително положителни за *T. pallidum* антигела пациенти (n=16) в това проспективно проучване, определен чрез TPNA, е твърде нисък за изчисляване на относителната чувствителност на INSTI Multiplex тест за откриване на *T. pallidum* антигела. От общо 994 проби, считани за отрицателни за активен сифилис (чрез RPR и/или TPNA), INSTI Multiplex е отрицателен за 993, за отрицателно процентно съответствие **от 99,9%**. (Важно е да се отбележи, че отрицателен RPR резултат не изключва предишна инфекция със сифилис, следователно това не е марка за действителната специфичност на антигелата срещу *T. pallidum*.)

ХИБ ефективност на теста INSTI Multiplex спрямо резултатите от алгоритъма за ХИБ тест за популцията на проспективното полево проучване, n=1010

Плака	INSTI Multiplex ХИБ-1/ХИБ-2 положителен	INSTI Multiplex ХИБ-1/ХИБ-2 отрицателен
ХИБ известен положителен (n=136)	136	0
ХИБ отрицателен (n=874)	0	874
Общо	136	874

Положителното и отрицателното процентно съответствие за откриване на ХИБ антигела между теста INSTI Multiplex и ХИБ статуса на пациентите, определен чрез алгоритъма за трикратен тест за ХИБ, е 100%.

Плака със смесени титри

Тестът INSTI Multiplex е сравнен с търговска плака със смесен титър за ефективност за сифилис, за да се сравни ефективността с други тестове за антигела срещу *T. Pallidum* за откриване на високи и ниски нива на антигела срещу *T. Pallidum*. Резултатите са представени по - долу.

Плака със смесен титър за ефективност за сифилис 1111-272-00123 (ZeptoMetrix Corporation)

Идентификационен номер на плаката	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>T. pallidum</i> метод за изпитване										
Лицензиран тест на Американската агенция по храните и лекарствата										
Pheonix Biotech Trep Sure	п	п	п	о	о	о	о	о	п	п
Trinity Capita IgG	п	п	п	о	о	о	о	о	п	п
Trinity Capita IgM	о	о	о	о	о	о	о	о	п	о
Serodia-TP-PA	п	п	п	о	о	о	о	о	п	п
INSTI Multiplex <i>T. pallidum</i> антигела	п	п	п	о	о	о	о	о	п	п
О = отрицателен П = положителен										

Изследване на цяла кръв

Ефективност на INSTI Multiplex тест в сравнение с TP-PA за ЕДТА проби от цяла кръв, без добавка (n=105) и с добавка на T.pallidum (n=64).

INSTI Multiplex <i>T. pallidum</i> антигела резултати	Окончателно тълкуване на TP-PA		
	Положителен	Отрицателен	Процентно съответствие
Реактивен	62	0	Положително процентно съответствие 96,9% (62/64)
Нереактивен	2	105	Отрицателно процентно съответствие 100% (105/105)
Общо	64	105	169

Положителното и отрицателното процентно съответствие са 96,9% и 100% за тази подгрупа проби, сравнени благоприятно със съответните стойности, получени от вътрешни тестове (95,2% и 98,7%), което показва, че няма разлика в ефективността при откриването на *T. pallidum* антигела в проби от цяла кръв, серум или плазма.

Резултати от теста INSTI Multiplex в сравнение с TP-PA за проби, които са положителни за други болести или заболявания (n = 380)

Заболяване	Брой проби	INSTI Multiplex сифилис реактивен ¹	INSTI Multiplex сифилис нереактивен ²
Цитомегаловирус (CMV)	10	1	9
Епщайн-Бар вирус (EBV)	9	0	9
<i>Helicobactor pylori</i>	10	0	10
Вирус на хепатит А (HAV)	40	6 ³	34 ⁴
Вирус на хепатит В (HBV)	40	1 ⁵	39 ⁶
Вирус на хепатит С (HCV)	121	6 ⁷	115 ⁸
Човешки имунодефицитен вирус (ХИБ)	25	1	24
Херпес симплекс вирус	10	0	10
Лаймска болест	5	0	5
Миелом	10	0	10
Бременност	50	0	50
Ревматоиден фактор	5	0	5
Рубеола	10	0	10
Системен лупус еритематозус (СЛЕ)	5	1	4
Токсоплазмоза	20	0	20
Вирус на варицела зостер (VZV)	10	0	10

¹ всички са TP-PA положителни, освен ако не е посочено друго.

² всички са TP-PA отрицателни, освен ако не е посочено друго

³ 2 проби са отрицателни при TP-PA, т.е. фалшиво положителни при INSTI

⁴ 2 проби са положителни при TP-PA, т.е. фалшиво отрицателни при INSTI

⁵ 1 проба е отрицателна при TP-PA тест, т.е. фалшиво положителна при INSTI

⁶ 1 проба е положителна при TP-PA, т.е. фалшиво отрицателна при INSTI

⁷ 2 проби са отрицателни при TP-PA, т.е. фалшиво положителни при INSTI.

⁸ 3 проби са положителни при TP-PA тест, т.е. фалшиво отрицателни при INSTI.

Въз