

ინფექციური პათოლოგიის, შიდსისა და
კლინიკური იმუნოლოგიის სამეცნიერო-
პრაქტიკული ცენტრი



INFECTIOUS DISEASES, AIDS & CLINICAL
IMMUNOLOGY RESEARCH CENTER

თბილისი 0160, ალ.კაზბეგის გამზ. 16. ტ: 39.91.43, 39.49.56, ფაქ: (995 32) 39.91.44, ელ: aids@gol.ge

16Al. Kazbegi Ave, 0160 Tbilisi, Georgia T: (995 32) 39.91.43, 39.49.56 F: (995 32) 39.91.44 Email: aids@gol.ge

ლაბორატორიული დიაგნოსტიკის სტანდარტული ოპერაციული პროცედურა

დაწესებულება: ინფექციური პათოლოგიის, შიდსის და კლინიკური იმუნოლოგიის ს/პ ცენტრი

სათაური: აივ ინფექციის HIV Ag/Ab ELISA



სათაური: აივ ინფექციის HIV Ag/Ab ELISA	
სოპ ნომერი: 2-05-003	ძალაში შესვლის თარიღი:

I. მიზანი

ადამიანის იმუნოდეფიციტის ტიპი 1 და ტიპი 2 ვირუსები წარმოადგენენ შეძენილი იმუნოდეფიციტის სინდრომის (შიდსი) გამომწვევ ეთიოლოგიურ აგენტს. აივ ორივე ტიპის ვირუსი იწვევს სისხლის სპეციფიური CD4+ T უჯრედების დაშლას. CD4+ T უჯრედები ორგანიზმში გადამწყვეტ როლს ასრულებენ დაავადებების წინააღმდეგ ბრძოლაში. აივ ინფექციის გავრცელების ძირითადი გზები:

- ყველა სახის დაუცველი სექსი პიროვნებასთან, რომელიც დაავადებულია აივ ინფექციით.
- ნემსის, შპრიცების გაზიარება
- სისხლის პროდუქტების გადასხმა
- დედიდან ბავშვზე გადაცემა და სხვა

აივ ინფექციის სეროლოგიური დადასტურება შეიძლება გაკეთდეს შრატსა და პლაზმაში აივ ანტიგენის ან ანტისხეულების გამოკვლევისას. ანტიგენის არსებობა შეიძლება გამოვლინდეს მწვავე ფაზასა და შიდსის სიმპტომატური ფაზის მიმდინარეობისას. ანტისხეულები აივ-1 და აივ-2-ის მიმართ შეიძლება გამოვლინდეს ინფექციის მიმდინარეობის მთელი პერიოდის განმავლობაში მწვავე ფაზის დასაწყისსა ან მის შემდეგ მოკლე პერიოდში და შიდსით დაავადების ბოლო სტადიაში. ამგვარად მაღალი მგრძნობელობის მქონე ტესტ სისტემების დანერგვა და გამოყენება ყველაზე სარწმუნო მიდგომაა სისხლის და სისხლის პროდუქტების აივ ინფექციაზე სეროლოგიური კვლევისას. ტესტ სისტემების მგრძნობელობის პროგრესული გაუმჯობესება გულისხმობს ე.წ. ფანჯრის ფაზის, დრო აივ ვირუსით ინფიცირებასა და აივ ანტისხეულების გამოვლენას შორის, შემოკლებას.

ეს დოკუმენტი აღწერს ადამიანებში აივ Ag/Ab იმუნოფერმენტული (ELISA) კვლევის პროცედურას.

II. პრინციპი

HIV Ag/Ab დაფუძნებულია ELISA ერთ საფეხურიან "სენდვიჩ" პრინციპზე. აივ ანტიგენის და აივ ანტისხეულების ნარევი შეკავშირებული პირშუშხას პეროქსიდაზასთან მოქმედებს როგორც კონიუგატი ხოლო ტეტრამეთილბენზიდინი ზეჟანგთან ერთად როგორც სუბსტრატი. ტესტის დასრულებისას ფერის წარმოქმნა მიუთითებს აივ ანტისხეულების ან აივ ანტიგენის არსებობაზე, მაშინ, როდესაც ფერის არ წარმოქმნა ან სუსტი შეფერილობა მიუთითებს აივ ანტისხეულების ან ანტიგენის არ არსებობაზე. პლანშეტის ფოსოები დაფარულია აივ – 1 gp160(2), HIV – 1 ANT70 პეპტიდით, აივ – 2 env პეპტიდით (ამინომჟავები 592 – 603) და anti-აივ – 1 p24. ყოველი ფოსო შეიცავს HRP-მონიშნულ კონიუგატის ბურთულას იგივე აივ - ანტისხეული/ანტიგენის ნარევით. სინჯის დილუენტი, რომელიც პირველ რიგში ემატება ფოსოებს ხსნის კონიუგატის

სათაური: აივ ინფექციის HIV Ag/Ab ELISA	
სოპ ნომერი: 2-05-003	ძალაში შესვლის თარიღი:

სფეროს.შემდეგ საკვლევი სინჯი ან შესაბამისი კონტროლი აივ ანტისხეულით ან ანტიგენით ემატება ფოსოს და მიმდინარეობს ინკუბაცია. თუ სინჯი შეიცავს აივ -1 ან აივ- 2 ანტისხეულს წარმოიქმნება ანტიგენ/ანტი აივ/ფერმენტით მონიშნული მყარი ფაზა თუ სინჯი შეიცავს აივ-1 ანტიგენს წარმოიქმნება მყარი ფაზა ანტისხეული/აივ/ფერმენტით მონიშნული ანტისხეულის კომპლექსი. გარეცხვის პროცედურის და TMB სუბსტრატთან ინკუბაციის შემდეგ ფოსოები გოგურდმჟავას დამატების შემდეგ შეიფერება ყვითლად. თუ სინჯის შეიცავს ანტი-აივ-1, ანტი-აივ-2, ანტი-აივ-1 O ჯგუფს და/ან აივ ანტიგენს წარმოიქმნება ინტენსიური ყვითელი ფერი. თუკი სინჯის არ შეიცავს ანტი-აივ და აივ ანტიგენს ფერი ან არ წარმოიქმნება ან წარმოიქმნება ძალიან ბაცი ფერი.

პასუხისმგებლობები

თანამშრომელთა პასუხისმგებლობა

იხილეთ ლაბორატორიის ხარისხის სახელმძღვანელო და ბიოუსაფრთხოების სახელმძღვანელო, სადაც აღწერილია ლაბორატორიული გამოკვლევის ზუსტი და უსაფრთხო შესრულების პროცესში ლაბორატორიის თანამშრომელთა ზოგადი მოვალეობები და პასუხისმგებლობები. ამასთან იხილეთ შესაბამისი ადგილობრივი და ეროვნული წესები და ინსტრუქციები, სტანდარტები და დირექტივები.

III უსაფრთხოების სპეციფიკური მოთხოვნები და პასუხისმგებლობები

პერსონალის უსაფრთხოება

- აივ Ag/Ab ტესტზე მუშაობისას იმოქმედეთ ისე, როგორც პოტენციურ ინფექციურ მასალასთან მუშაობისას.
- გამოიყენეთ ერთჯერადი ხელთათმანები და მუშაობის ყველა ეტაპზე - ნარჩენების გადაყრა, პიპეტებთან და პლანშეტთან მუშაობისას იმოქმედეთ სიფრთხილით როგორც ინფექციის გადამტან აგენტთან მუშაობისას.
- იმ შემთხვევაში თუ მოხდა დაბინძურებული მასალის გადაყლაპვა ან ლორწოვანთან (თვალი, პირი) ან დაზიანებულ კანთან შეხება დაუყოვნებლივ მიმართეთ ექიმს.

IV. სინჯის დამუშავება

სინჯის აღება

- ადამიანის შრატის ან პლაზმის

კვლევაში შეიძლება გამოყენებული იყოს ადამიანის შრატის ან პლაზმის სინჯები რომლებიც აღებულია სინჯარაში, რომელიც შეიცავს შემდეგ ანტიკოაგულანტებს - ნატრიუმის ციტრატი, ჰეპარინი ან EDTA . სხვა ანტიკოაგულანტების გამოყენება არ არის სასურველი.

სათაური: აივ ინფექციის HIV Ag/Ab ELISA	
სოპ ნომერი: 2-05-003	ძალაში შესვლის თარიღი:

სინჯის დამუშავება და შენახვა

- სინჯში რაიმე მასალის არსებობამ შეიძლება გამოიწვიოს არასწორი შედეგი. ამიტომ უხსნადი მასალის მოცილება უნდა მოხდეს ცენტრიფუგირებით.
- ახლად აღებული სინჯები უნდა შეინახოთ ერთი კვირის განმავლობაში 2 - დან 8°C -ზე. თუ საჭიროა უფრო დიდი ხნით შენახვა სინჯები უნდა გაყინოთ - 20 °C -ზე ან უფრო დაბალ ტემპერატურაზე.
- სინჯების გამოყინვა/გაყინვა შეიძლება მხოლოდ სამჯერ. სითბურმა ინაქტივაციამ 56 °C - ზე 30 წთ-ის განმავლობაში შეიძლება უარყოფითად იმოქმედოს აივ ანტიგენის დეტექციაზე.
- სინჯები ტესტის დაწყებამდე უნდა დატოვოთ ოთახის ტემპერატურაზე (15 -დან 30 °C).
- სინჯების შენახვა თვით-ლღობად საყინულეში რეკომენდებული არ არის.
- სინჯში ნატრიუმის აზიდის არსებობამ შეიძლება გამოიწვიოს არასწორი შედეგი.

V. რეაქტივები – მასალა/ დამხმარე ხელსაწყოები

A. ბიოუსაფრთხოების დამხმარე მასალა/ხელსაწყოები

ბიოუსაფრთხოება
რეაქტივები
• სადეზინფექციო ხსნარი (მინიმუმ 0.5% ნატრიუმი ჰიპოქლორიტის ხსნარი ან ექვივალენტური სადეზინფექციო ხსნარი) • <i>შენიშვნა</i> —70% ეთანოლის გამოყენება RNA/DNA ვირუსების სადეზინფექციოდ არ შეიძლება.
დამხმარე მასალა
• ბიოლოგიურად საშიში ნარჩენების პარკი/კონტეინერი • სადეზინფექციო ხსნარების კონტეინერი • ერთჯერადი ხელთათმანები • ლაბორატორიული ხალათი • ადსორბენტი პირსახოცები • დამატებითი პერსონალური დამცავი საშუალებები PPE (მაგ., თვალების დამცავი სათვალეები, რესპირატორული დამცავი) რისკის საფრთხის გათვალისწინებით. .
ხელსაწყოები
• Class II Biological Safety Cabinet (BSC)

სათაური: აივ ინფექციის HIV Ag/Ab ELISA	
სოპ ნომერი: 2-05-003	ძალაში შესვლის თარიღი:

B. დამხმარე მასალა/ხელსაწყოები პროცედურისთვის

პროცედურა
რეაქტივები
• TMB ხსნარი: ტეტრამეთილბენზიდინი ლიმნის მჟავაში. კონსერვანტი: 1 გ/12 – ქლოროაცეტამიდი. შეურიეთ შარდოვანას ზეჟანგის ხსნარს. • ფოსფატური ბუფერი კონცენტრირებული: 25- ჯერადი ხსნარი (დისტილირებული წყალი). • სინჯის დილუენტი: შეიცავს სტაბილიზირებულ ცილას და დეტერგენტს. კონსერვანტი: 0,2 % KathonCG. • შარდოვანას ზეჟანგის ხსნარი. კონსერვანტი: 1გ/1 2-ქლოროაცეტამიდი. შეურიეთ TMB ხსნარს. • უარყოფითი კონტროლი: ადამიანის შრავი არარეაქტიული ანტი-აივ და აივ ანტიგენთან. კონსერვანტი: 0,1გ/1 გენტამიცინ სულფატი და 0,2 მლ/ლ დარიჩინის ალდეჰიდი. • ანტი-აივ-1 დადებითი კონტროლი, ადამიანის შრავი რომელიც შეიცავს ადამიანის მონოკლონურ ანტი-აივ-1. კონსერვანტი: 0,1გ/ლ გენტამიცინ სულფატი და 0,2 მლ/ლ დარიჩინის ალდეჰიდი. • ანტი-აივ-2 დადებითი კონტროლი, ადამიანის შრავი რომელიც შეიცავს ადამიანის მონოკლონურ ანტი-აივ-2. კონსერვანტი: 0,1გ/ლ გენტამიცინ სულფატი და 0,2 მლ/ლ დარიჩინის ალდეჰიდი. • (ახალი) დისტილირებული ან დეიონიზირებული წყალი. • 1 მოლ/ლ გოგირდმჟავა (ანალიზური ხარისხი).
დამხმარე მასალა

სათაური: აივ ინფექციის HIV Ag/Ab ELISA	
სოპ ნომერი: 2-05-003	ძალაში შესვლის თარიღი:

• 96-ფოსოიანი მიკროპლანშეტი, U-ძირით • სამაგრი და წნელი: პლანშეტის ფოლგის პარკის დასახური. • პლანშეტის დასალუქი: პერფორირებული, ადჰეზიური. • სანიშნების ფურცელი: პროტოკოლის, რეაქტივების და სამუშაო ხსნარის საიდენტიფიკაციო ბარ კოდების სანიშნები ავტომატური პროცესისთვის. • V-ფორმის ერთჯერადი კიუვეტები. • ერთჯერადი ჭურჭელი (მინის ან პლასტმასის) TMB სუბსტრატის მოსამზადებლად. • ბიოლოგიურად საშიში ნარჩენების კონტეინერები პოტენციური ინფექციური მასალისთვის. • ადსორბენტი ქსოვილი. • პიპეტის წვერები, 0.5-10 μl • პიპეტის წვერები, 10- 100 μl • პიპეტის წვერები, 100-1000 μl • პიპეტის წვერები, 100-1000 μl • პიპეტის წვერები, 0.25 ml - 5 ml • სტერილური მოსაჭერ თავსახურიანი სინჯარები (15 მლ ან 50 მლ) • ლაბორატორიული პერმანენტული მარკერი • სტერილური პინცეტი • სინჯარების შტატივი • ცილინდრი, 100 მლ, დაყოფილი 1.0 მლ • ცილინდრი, 1000 მლ, დაყოფილი 1.0 მლ • პარაფილმი ან პლასტიკური სახვევი ELISA პლანშეტებისთვის.
--

ხელსაწყოები
• განაწილებელი სისტემა ან/და პიპეტების წვერები (ერთ- ან მრავალ-არხიანი შემდეგი მოცულობების გასანაწილებლად - 100 μl $\pm$ 10 μl, 50 μl $\pm$ 7 μl, 1000 μl $\pm$ 50 μl, 5 მლ $\pm$ 0.25 მლ და წვერები. • ვორტექსი. • მიკროსანჯღრევლა კონიუგატის სინჯთან შესარევად, სიჩქარე დაახლოებით 15 Hz (=900 ბრუნვა წუთში). • თერმოსტატი (37°C) • მიკროფოსოების ასპირატორი/ გამრეცხი სისტემა • მიკროფოსოების წამკითხავი ორმაგი ტალღის სიგრძით 450 $\pm$ 5 nm და 620 to 700 nm • პლასტიკური სინი ან ყუთი სახურავით • პროგრამული უზრუნველყოფა (excel ფურცელი) • მაცივარი (2-8°C) • საყინულე (-20 or -80°C) • ტაიმერი

C. რეაქტივების მომზადება

რეაქტივები მოამზადეთ შემდეგნაირად (შენიშვნა— რეაქტივები და სინჯები უნდა დატოვოთ ოთახის ტემპერატურაზე (15 -დან 30 °C-ზე) კვლევის დაწყებამდე და კვლევა უნდა ჩატარდეს ოთახის ტემპერატურაზე. რეაქტივები შეინახეთ 2 - დან 8 °C- ზე:	
ELISA სტრიპები	დადეთ ფოლგის პარკი ოთახის ტემპერატურაზე 15 -დან 30 °C-

სათაური: აივ ინფექციის HIV Ag/Ab ELISA	
სოპ ნომერი: 2-05-003	ძალაში შესვლის თარიღი:

	ზე		
ფოსფატური ბუფერი	გახსენით ფოსფატური ბუფერის კონცენტრატი 1 ; 25 დისტილირებულ ან დეიონიზირებულ წყალში . მოამზადეთ შემდეგნაირად: - ჩაასხით 100 მლ ფოსფატური ბუფერი კოლბაში და შეავსეთ 2 500 მლ წყლით. მოამზადეთ სულ ცოტა 25 მლ (1 მლ კონცენტრირებული ბუფერი 24 მლ წყალი) ფოსფატური ბუფერი ყოველი სტრიპისთვის.		
TMB სუბსტრატი	შეურიეთ საჭირო რაოდენობის TMB ხსნარი ერთჯერად ჭურჭელში იმავე რაოდენობის შარდოვანას ზეჟანგის ხსნარს კვლევისთვის საჭირო ფოსოების რიცხვის შესაბამისად (ნახეთ ცხრილი)		
	TMB	+	UP
ფოსოების რიცხი	TMB ხსნარი	+	შარდოვანას ზეჟანგის ხსნარი
1 - 16	1,5 მლ	+	1,5 მლ
17 - 32	2,5 მლ	+	2,5 მლ
33 - 48	3 მლ	+	3 მლ
49 - 64	4 მლ	+	4 მლ
65 - 80	5 მლ	+	5 მლ
81 - 96	6 მლ	+	6 მლ
გოგირდმჟავა	გოგირდმჟავა კოროზიული ხსნარია და მუსაობის დროს უნდა დაიცვათ განსაკუთრებული სიფრთხილე რომ არ მოხვდეს კანს ან თვალის ლორწოვანს. შენიშვნა: გოგირდმჟავის ხსნარის მომზადებისას (1მოლ/ლ) კონცენტრირებული ხსნარიდან გახსოვდეთ, რომ შერევისას მჟავა ყოველთვის უნდა დაემატოს წყალს (მაგ., 50 მლ კონცენტრირებული მჟავა (18 მოლ/ლ 850 მლ დისტილირებულ წყალზე)		

რეაქტივების შენახვა და სტაბილურობა

- გაუხსნელი კომპონენტები შეინახეთ 2 -დან 8°C-ზე. რეაქტივების მრავალჯერადი გაღებობა/გაყინვა არ შეიძლება.

ELISA სტრიპები	4 კვირა	2 - დან 8°C	დალუქული პარკი
ფოსფატური ბუფერი	2 კვირა	2 -დან 8°C	მომზადების შემდეგ
TMB ხსნარი	8 საათი	15 -დან 30°C	თუ ინახება სიბნელეში
სინჯის დილუენტი, ფოსფატური ბუფერის	16 კვირა	2 -დან 8°C	თავდაპირველ კონტეინერში

სათაური: აივ ინფექციის HIV Ag/Ab ELISA	
სოპ ნომერი: 2-05-003	ძალაში შესვლის თარიღი:

კონცენტრატი, TMB ხსნარი, შარდოვანას ზეჟანგის ხსნარი, უარყოფითი კონტროლი და დადებითი კონტროლი			
---	--	--	--

VI. ხარისხის უზრუნველყოფა /ხარისხის კონტროლი

ხარისხის კონტროლი უნდა ჩატარდეს იმ სიხშირით როგორც ეს მითითებულია დაწესებულების ხარისხის პროგრამის გეგმაში. სიხშირე შეიძლება იყოს შემდეგი: ყოველ დღე, ყოველი ტესტის ჩატარებისას, ან რეაქტივის შეცვლისას. იხილეთ ტესტის შესრულების ინსტრუქცია, რომელიც თან ახლავს ყოველ კონკრეტულ ტესტს და შეასრულეთ ის ყოველგვარი ცვლილებების გარეშე.

გამოიყენეთ

- უარყოფითი კონტროლი: ადამიანის შრავი არარეაქტიული ანტი-აივ და აივ ანტიგენთან. კონსერვანტი: 0,1 გ/ლ გენტამიცინ სულფატი და 0,2 მლ/ლ დარიჩინის ალდეჰიდი (ტესტის ინსტრუქციაში მითითებული რაოდენობით).
- ანტი-აივ-1 დადებითი კონტროლი, ადამიანის შრავი რომელიც შეიცავს ადამიანის მონოკლონურ ანტი-აივ-1. კონსერვანტი: 0,1 გ/ლ გენტამიცინ სულფატი და 0,2 მლ/ლ დარიჩინის ალდეჰიდი (ტესტის ინსტრუქციაში მითითებული რაოდენობით).
- ანტი-აივ-2 დადებითი კონტროლი, ადამიანის შრავი რომელიც შეიცავს ადამიანის მონოკლონურ ანტი-აივ-2. კონსერვანტი: 0,1 გ/ლ გენტამიცინ სულფატი და 0,2 მლ/ლ დარიჩინის ალდეჰიდი (ტესტის ინსტრუქციაში მითითებული რაოდენობით).
- თუ კონტროლები არ გავიდა მთელი კვლევა უნდა განმეორდეს. კონტროლის არასწორი პასუხი მიუთითებს კვლევის პროცედურის შეცდომაზე. პრობლემის გადასაწყვეტად მიმართეთ ლაბორატორიის ხელმძღვანელს და მიიღეთ ზომები შეცდომის გამოსასწორებლად. არ დაწეროთ პასუხი სანამ ყველა პრობლემა არ გადაწყდება.

სინჯის და ხარისხის კონტროლების იდენტიფიკაციის ყველა მონაცემი დააფიქსირეთ ELISA სამუშაო ფურცელში.

რეაქტივების კონტროლი:

- პროცედურის დაწყებამდე უნდა შეამოწმოთ ყველა რეაქტივის ვადა.
- დააფიქსირეთ ლოტის/ კომპლექტის ნომერი და მოქმედების ვადები.

ხელსაწყო კონტროლი:

- ყველა ხელსაწყო უნდა იყოს მოცილებული მზის პირადიპირი სინათლიდან და ზედაპირი გაწმენდილი მტვერისგან.
- პიპეტები უნდა გაწმინდოთ ყოველდღე და ყოველ წელს მოახდინოთ კალიბრაცია.

სათაური: აივ ინფექციის HIV Ag/Ab ELISA	
სოპ ნომერი: 2-05-003	ძალაში შესვლის თარიღი:

VII. პროცედურა

A. ხელსაწყოების და სამუშაო გარემოს მომზადება

1. გამოიყენეთ პერონალის დაცვის შესაბამისი ხელსაწყოები (PPE), შესაძლო რისკის შეფასების გათვალისწინებით.
2. მოამზადეთ სადეზინფექციო საშუალებები. ლაბორატორიის სამუშაო ჟურნალი რეაქტივების მომზადებისათვის. გამოყენებამდე ჩაასხით 100 მლ სადეზინფექციო სითხე სადეზინფექციოს სითხის კონტეინერში.
3. გამოყენებამდე გაწმინდეთ სამუშაო ადგილი სადეზინფექციო სითხით.
4. დადეთ ყველა მასალა და დამხმარე მასალა სამუშაო ადგილზე.
5. ტესტის დაწყებამდე გაათბეთ სინჯები ოთახის ტემპერატურაზე (18 to 25°C).
6. შეამოწმეთ თერმოსტატი 37°C.

B. პროცედურა

1. სტრიპების დამჭერში მოათავსეთ საჭირო რაოდენობის ELISA სტრიპები. ამოიღეთ სტრიპების დასაკრავები.
2. ჩაასხით 100 µl სინჯის დილუენტი ყველა ფოსოში, კონტროლების ფოსოების ჩათვლით.
3. ჩაასხით 50 µl სინჯი ან კონტროლი შესაბამის ფოსოში, სამი უარყოფითი კონტროლის, ერთი ანტი-აივ-1 დადებითი კონტროლის, ერთი ანტი-აივ-2 დადებითი კონტროლის, და ერთი აივ-1 ანტიგენ დადებითი კონტროლის ჩათვლით ყოველ სტრიპში.
4. კარგად აურიეთ (გამოიყენეთ მირკოშეიკერი, სიჩქარე დაახლოებით 15 Hz (=900 ბრუნვა წუთში) 15 წამის განმავლობაში ან გამოიყენეთ ექვივალენტური სისტემა).
5. სტრიპების ინკუბაცია 37°C - ზე 60 ± 5 წუთის განმავლობაში.
6. გარეცხეთ და ჩამოწურეთ ფოსოები ექვსჯერ ფოსფატური ბუფერით.
7. ჩაასხით 100 µl TMB სუბსტრატი ყველა ფოსოში. არ აურიოთ ან შეაჩქაროთ.
8. სტრიპების ინკუბაცია 15 -დან 30 °C - ზე 30 ± 2 წუთის განმავლობაში
9. გააჩერეთ რეაქცია 100 µl 1 მოლ/1 გოგირდმჟავას დამატებით ყოველ ფოსოში.
10. გამოიყენეთ პიპეტების იგივე თანმიმდევრობით და დროის ინტერვალით როგორც TMB სუბსტრატის დამატებისას.
11. რეაქტივების ასარევად ჰორიზონტალური მოძრაობით შეაჩქარეთ სტრიპების დამჭერი.
12. პლანშეტი უნდა წაიკითხოთ 15 წუთის განმავლობაში 450 nm და 620 -დან 700 nm - ზე.

A. გასუფთავება

- პოტენციურად ინფექციური მასალის შხეფები მაშინვე უნდა გაიწმინდოს ქაღალდის ადსორბენტი ქსოვილით და დაბინძურებული ადგილის დეკონტამინაცია უნდა მოხდეს მაგ. ახლად მომზადებული 0,5 % ნატრიუმის ჰიპოქლოტიტით.

სათაური: აივ ინფექციის HIV Ag/Ab ELISA	
სოპ ნომერი: 2-05-003	ძალაში შესვლის თარიღი:

შენიშვნა: ნატრიუმის ჰიპოქლორიტის გამოყენება მჟავას შხეფებზე არ შეიძლება, ჯერ კარგად გაწმინდეთ და გაამშრალეთ დაბინძურებული ადგილი და შემდეგ გაწმინდეთ ნატრიუმის ჰიპოქლორიტით.

- მასალა რომლითაც გაწმინდეთ დაბინძურებული ადგილი, აგრეთვე ხელთათმანები უნდა გადაადგოთ როგორც პოტენციურად ბიოლოგიურად საშიში ნაგავი.
- მოახდინეთ ნარეცხი ხსნარის, რომელიც შეიცავს ბიოლოგიურ სინჯს დეზინფექცია და ავტოკლავირება სანამ გადაყრით ადგილობრივი ინსტრუქციების თანახმად.
- ადამიანის და ცხოველის სინჯები და რეაქტივები, ასევე დაბინძურებული მასალა, დამხმარე მასალა, გამანეიტრალებელი მჟავები და სხვა ნარჩენები გადაყარეთ დეკონტამინაციის შემდეგ:

- ჩაყურსეთ ახლად დამზადებულ 0,5 % ნატრიუმის ჰიპოქლორიტში 30 წუთით.

გააკეთეთ თხევადი ნარჩენების ნეიტრალიზაცია (ქიმიური) სანამ დაამატებთ ნატრიუმის ჰიპოქლორიტს.

ან ავტოკლავირებით 121 °C-ზე 60 წუთის განმავლობაში. ავტოკლავირება არის აივ და ადამიანის B ჰეპატიტის ვირუსის ინაქტივაციის საუკეთესო საშუალება..

არ გააკეთოთ ნატრიუმის ჰიპოქლორიტის შემცველი მასალის ან ხსნარების ავტოკლავირება

ქიმიურ ნაერთებთან მუშაობა ხდება GLP (Good Laboratory Practice) კარგი ლაბორატორიული გამოცდილების ადგილობრივი ინსტრუქციების თანახმად.

VIII. გოგირდის მჟავა, რომელიც გამოიყენება როგორც რეაქტივის გასაჩერებელი რეაქტივი კოროზიულია და უნდა გამოიყენოთ დიდი სიფრთხილით. თუ გასაჩერებელი ხსნარი მოხვდა კანს ან თვალის ლორწოვანს კარგად დაიბანეთ ის ადგილი რამდენიმე წუთის განმავლობაში.

IX. შედეგების ინტერპრეტაცია

- არარეაქტიული შედეგი მიუთითებს იმაზე, რომ საკვლევი სინჯი ან არ შეიცავს ანტი-აივ -1, ანტი-აივ-2, ანტი-აივ-1 ჯგუფ O ან აივ -1 ანტიგენს ან სინჯი შეიცავს მათ ისეთი რაოდენობით რის დეტექციასაც აივ Ag/Ab ტესტი არ ახდენს.
- რეაქტიული შედეგი მიუთითებს იმაზე, რომ საკვლევი სინჯი შეიცავს ანტი-აივ -1, ანტი-აივ-2, ანტი-აივ-1 ჯგუფ O და/ან აივ -1 ანტიგენს ან ის შეიცავს არასპეციფიურად რეაქტიულ ფაქტორს.
- სინჯები, რომლებიც აჩვენებენ თავიდანვე რეაქტიულ შედეგს უნდა თავიდან გამოიკვლიოთ წყვილებში. მხოლოდ ის სინჯები რომლებიც იძლევიან რეაქტიულ შედეგს ერთი ან ორივე განმეორებითი კვლევისას

სათაური: აივ ინფექციის HIV Ag/Ab ELISA	
სოპ ნომერი: 2-05-003	ძალაში შესვლის თარიღი:

განიხილება როგორც რეაქტიული ანტი-აივ -1, ანტი-აივ-2, ანტი-აივ- 1 ჯგუფ O და/ან აივ-1 ანტიგენის მიმართ.

ყველა მაღალი მგრძნობელობის ტესტ სისტემა შეიცავს არასპეციფიური რეაქციების არსებობის პოტენციალს, სინჯები, რომლებიც განმეორებით რეაქტიულია უნდა დადასტურდეს შესაბამისი ტესტ მეთოდით. აივ Ag/Ab მეთოდის ადრეული სეროკონვერსიის სინჯებში მაღალი სპეციფიურობის გამო რეკომენდებულია კვლევაში აივ ანტიგენის დეტექციის მგრძნობიარე ტესტის, როგორც დამადასტურებელი ტესტის ჩართვა.

თავიდან რეაქტიული სინჯი, რომელიც არ არის რეაქტიული განმეორებითი კვლევის შემდეგ უნდა განიხილოს როგორც არარეაქტიული. განმეორებით არარეაქტიული სინჯების პირველი რეაქტიული შედეგი შეიძლება გამოწვეული იყოს:

მაღალი რეაქტიულობის მქონე სინჯიდან ხელსაწყოს ან პიპეტის წვერის გადატანისას დაბინძურება.

სუბსტრატის მეტალის იონებით დაბინძურება.

- ნესტით ან რეაქტივების წვეთებით ჯვარედინი დაბინძურება.
- გარეცხვის და ასპირაციის არასწორი პროცედურა.
- წაკითხვის დროს დაშვებული შეცდომები(ფოსოების ქვეშ სითხის წვეთები ან ჰაერის ბუშტები ფოსოში).

X. პროცედურის შეზღუდვები

სარწმუნო და სანდო შედეგები მიიღება როდესაც სრულად არის გააზრებული და შესწავლილი ტესტის თანმდევი ინსტრუქცია და ტესტი ტარდება კარგი ლაბორატორიული გამოცდილების თანახმად.

გარეცხვის პროცედურა კრიტიკულია.არასაკმარისი გარეცხვის შედეგია არასწორი გაზომვა და მცდარი შედეგი.

ლიპემიური, ჰემოლიზური და მაღალი სიმკვრივის შრატის სინჯი კვლევაში არ გამოიყენება.

XI. რეგისტრაცია / შეტყობინება

რეგისტრაცია

კვლევის შედეგები იწერება ლაბორატორიულ ჟურნალში და რეგისტრირდება ელექტრონულად სპეციალურ პროგრამაში

შეტყობინება

შედეგები კონფიდენციალურია.

უარყოფითი შედეგი - თუ პირველადი სკრინინგ ტესტი აჩვენებს არა რეაქტიულ შედეგს.

დადებითი შედეგი - თუ სინჯი აჩვენებს რეაქტიულ შედეგს სამი სკრინინგული კვლევის შემდეგ. უნდა მოითხოვოდ

მომდევნო განმეორებითი გამოკვლევა სანამ შეატყობინებთ პაციენტს.

სათაური: აივ ინფექციის HIV Ag/Ab ELISA	
სოპ ნომერი: 2-05-003	ძალაში შესვლის თარიღი:

შუალედური - თუ სინჯი აჩვენებს გაურკვეველ შედეგს სამი სკრინინგული კვლევის შემდეგ საჭიროა სინჯის განმეორებითი გამოკვლევა ორი კვირის, სამი კვირის, ექვსი კვირის და 12 თვის შემდეგ სანამ შედეგს შეატყობინებთ პაციენტს.

თუ შედეგი რჩება შუალედური ერთი წლის შემდეგ პიროვნება განიხილება როგორც აივ უარყოფითი.

სპეციალური შენიშვნები - ტესტის წინა, ტესტის შემდგომი კონსულტაციები და შედეგი

კონფიდენციალურია.

XII. REFERENCES

WHO (March 1997) Revised Recommendation for the Selection and Use of HIV Antibody Tests. Weekly Epidemiological Record, No. 12.

1. Kilmarx P. Acquired immunodeficiency syndrome. In: Heymann DL, editor. Control of communicable diseases manual, 19th Edition. Washington, D.C.: APHA Press; 2008.
2. CDC. Late HIV Testing—34 States, 1996–2005. *MMWR* 2009;58(24):661-5.
3. RA Weis and RW Wrangham. From *Pan* to pandemic. *Nature* 1999; 397:385-6.
4. Marks, G., Crepaz, N., Senterfitt, J., Janssen, R., Meta-Analysis of High-Risk Sexual Behavior in Persons Aware and Unaware They are Infected with HIV in the United States: Implications for HIV Prevention Programs. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*. 2005; 39(4):446-453.
5. Gaur, A.H., Dominguez, K.L., Kalish, M.L., Rivera-Hernandez, D., et al. Practice of Feeding Premasticated Food to Infants: A Potential Risk Factor for HIV Transmission. *Pediatrics*. 2009;124:658-666.
6. Vidmar, L., Poljak, M., Tomazic, J., Seme, K., Klavs, I. Transmission of HIV-1 by human bite. *Lancet*. 1996; 347:1762–1763.
7. CDC. Human immunodeficiency virus transmission in household settings—United States. *MMWR* 1994;43(19):347-356
8. Carey, Lytle, & Cyr. Implications of laboratory tests of condom integrity. *Sexually Transmitted Diseases* 1999; 26(4):216-20.

Lytle, Routson, Seaborn, Dixon, Bushar, & Cyr. An in vitro evaluation of condoms as barriers to a small virus. *Sexually Transmitted Diseases* 1997; 24(3):161-164

XIII. ATTACHMENTS

1. ELISA photo Flowchart
2. ELISA sandwich method photo

Attachment 1

მიკროპიკეტები

ზოგადი მოთხოვნები

მიკროპიკეტები უნდა გამოვიყენოთ გამომშვები კომპანიის ინსტრუქციის მიხედვით. მიკროპიკეტს უნდა ახლდეს ინფორმაცია, სადაც მითითებული იქნება:

სერტიფიცირების თარიღი

სათაური: აივ ინფექციის HIV Ag/Ab ELISA	
სოპ ნომერი: 2-05-003	ძალაში შესვლის თარიღი:

შემდგომი სერტიფიცირების თარიღი
სტანდარტული ოპერაციული პროცედურის დასახელება
ჟურნალის დასახელება

მიკროპიპეტის მართებული (სათანადო, კორექტული) გამოყენებისას საჭიროა:

მიკროპიპეტის წვერის წინასწარ გარეცხვა

პირველ საფეხურამდე (A) დაჭერა

მიკროპიპეტის გაჩერება ვერტიკალურ პოზიციაში

მიკროპიპეტის წვერის ბოლოს ჩაყურსვა ხსნარში (2-4მმ-ზე ლურჯი წვერის მქონე პიპეტის შემთხვევაში)

პიპეტის დგუშის ამოქმედება და საწყის მდგომარეობაში დაბრუნება ხორციელდება ნაზი და თანაბარი მოძრაობით (B)

დაცდა რამდენიმე წამი.

დაბოლოებისას ზემოთი სითხის მოცილება ხორციელდება ნაზი აბსორბაციით, დაბოლოებასთან შეხების გარეშე;

განაწილება

პიპეტი თავსდება 10⁰-40⁰-ით დახრილი კუთხით სინჯარასთან მიმართებაში

პიპეტის დგუშს ვაწვებით პირველ საფეხურამდე (C)

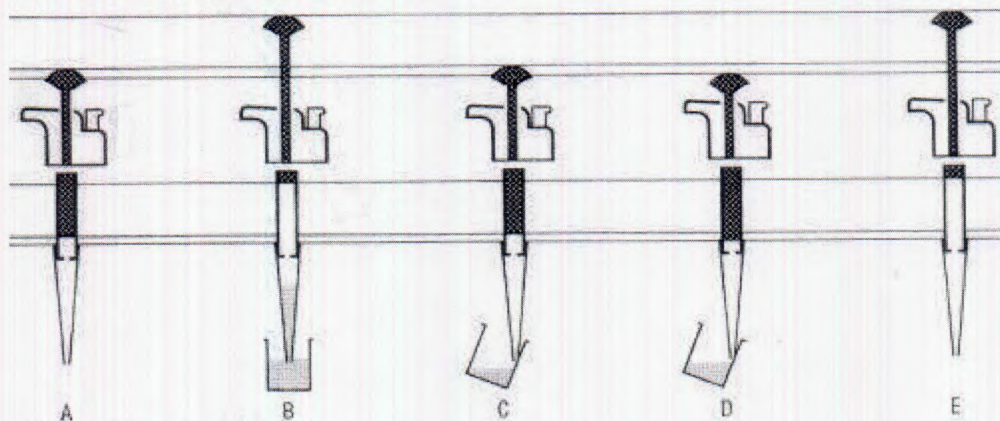
ვიცდით რამდენიმე წამს

ვაწვებით პიპეტის დგუშს მეორე საფეხურამდე (D)

ამოგვაცქს პიპეტი ჭურჭლიდან (დგუშზე დაწოლილი)

დგუში მოგვყავს საწყისს პოზიციაში (E)

ვხსნით პიპეტის დაბოლოებას.



მიკროპიპეტის დაზიანების ან გაფუჭების შესახებ შეატყობინეთ უფროს ლაბორანტს ან ხარისხის დაცვის მენეჯერს ან მის ასისტენტს. ეს შემთხვევა უნდა დაფიქსირდეს ჟურნალში.

ბიოუსაფრთხოებაზე პასუხისმგებელი პირის ინფორმირების შემდეგ, თუ ეს აუცილებელია, უნდა მოხდეს ხელსაწყოთა გაუვნებელოება. ხელსაწყოთა უნდა მიეკრას ეტიკეტი, რომელზეც ეწერება, რომ იგი შესაკეთებელია.

თუ ხელსაწყო სწორად არ მუშაობს ან მისი სერტიფიცირების ვადა ამოიწურა მას უნდა მიეკრას ეტიკეტი “ჩასატარებელია სერტიფიცირება- არ გამოიყენოთ”.

სათაური: აივ ინფექციის HIV Ag/Ab ELISA	
სოპ ნომერი: 2-05-003	ძალაში შესვლის თარიღი:

კონტროლი

არსებობს სახვა და სხვა სახის პიპეტები, ამიტომ მათი კონტროლი და მოკიდებულია იმაზე, თუ რომელკლასს მიეკუთვნებიან ისინი.

პიპეტის მოცულობა μ l	კლასი	შემოწმების სიხშირე ერთი თვის განმავ.	სიზუსტე μ l	სარწმუნოობა %	უზუსტობა μ l
1000	A	3	20	2	+/-20
1000	B	3	40	4	+/-40
1000	C	6	80	8	+/-80
500	A	3	10	2	+/-10
500	B	3	20	4	+/-20
500	C	6	35	8	+/-40
200	B	3	8	4	+/-8
200	C	6	16	8	+/-16
100	B	3	4	4	+/-4
100	C	6	8	8	+/-8
50	B	3	2	4	+/-2
50	C	6	4	8	+/-4
10	B	3	0,4	4	+/-0,4
10	C	6	0,8	8	+/-0,8

სიზუსტე და სანდოობა

პიპეტითა მოღებულს ითხეში დასაშვებია 0.1 მგ ცდომილება. მნიშვნელობა აქვს ატმოსფერულ წნევას, ტემპერატურასა და ჰიგრომეტრიას.

მოათავსეთ საზომი კონტეინერი სასწორზე;
დააყენეთ სასწორი ნულოვან პოზიციაზე;
აიღეთ დისტილირებული წყლის განსაზღვრული რაოდენობა;
ჩაასხით ცალკე ჭურჭელში;
ხელმეორედ აიღეთ ჭურჭლიდან;
ჩაასხით კონტეინერში;
ჩაინიშნეთ წონა, გაზომვა მეორდება 10-ჯერ;
წონის ყველა მაჩვენებელს ვინიშნავთ საკონტროლო ფორმაში;
ხდება გამოთვლა;
ხდება დასკვნის გამოტანა;

ხელსაწყოს მოვლა

წყალგაუმტარობის შემოწმება ყოველთვიურად:

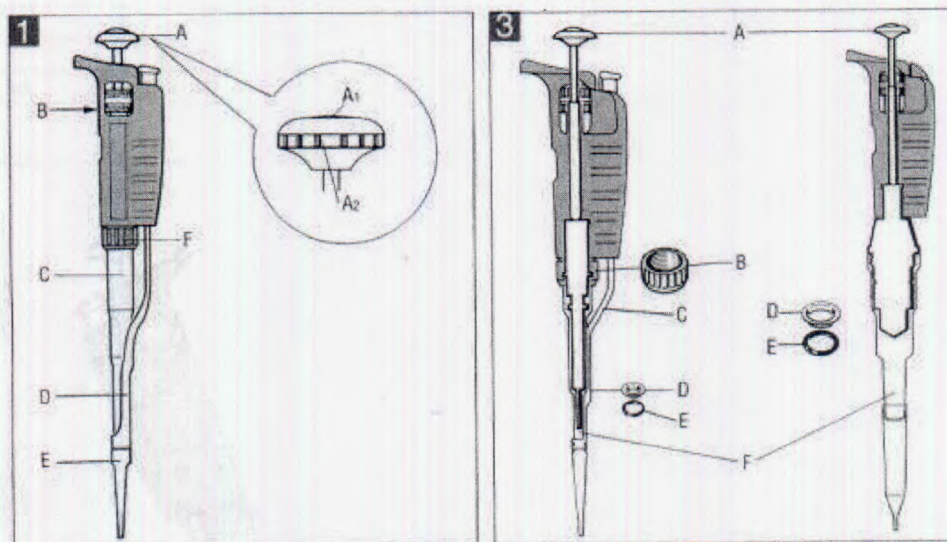
- პიპეტის გამართული მუშაობის შესამოწმებლად საჭიროა ამოვიღოთ სითხე მაქსიმალური რაოდენობით;
- გავაჩეროთ პიპეტი ვერტიკალურად ერთი წუთის განმავლობაში;
- სითხის არც ერთი წვეთი არ უნდა ჩამოვარდეს;

სათაური: აივ ინფექციის HIV Ag/Ab ELISA	
სოპ ნომერი: 2-05-003	ძალაში შესვლის თარიღი:

■ თუ მიკროპიპეტი ჟონავს მიმართეთ უფროს ლაბორანტს ან ხარისხის მენეჯერს ან მის თანაშემწეს და ჟურნალში ჩაწერეთ რომ მიკროპიპეტი შესაკეთებელია. მიკროპიპეტის შესაკეთებლად შეცვალეთ თორიკული რეზინი. გარეგანი გაწმენდა ხორციელდება წყლიანი ან სპირტიანი საშრობი ქაღალდით ყოველდღიურად მთლიანი პიპეტის გაწმენდა ხორციელდება ყოველთვიურად;

- წვერის ეჟექტორის და მტარებლის მოხსნა;
 - ყველა ნაწილის გაწმენდა
 - დგუშის წმენდა და დროგამოშვებით გამოცვლა;
 - თორიკული რეზინის წმენდა და დროგამოშვებით შეცვლა;
- ყველა შემთხვევაში იხილეთ პიპეტის მოხმარების თანდართული ინსტრუქცია. ჩაინიშნეთ პროცედურები ჟურნალში.

— PIPETMAN P —

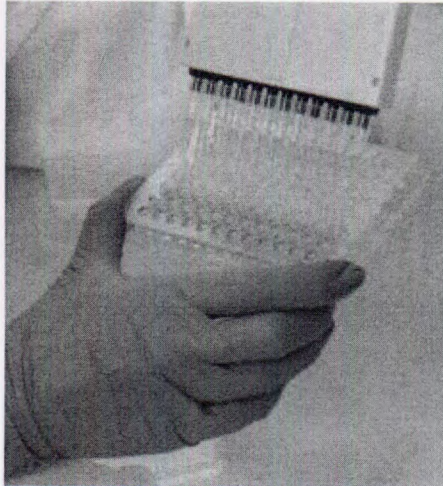


ბიოსაფრთხოების საკითხები

ბიოლოგიური საფრთხის შემცველი დაზინძურებული მასალის პიპეტში მოხვედრისთანავე იგი უნდა გაიწმინდოს ინსტრუქციის შესაბამისად. უნდა გამოიყენოთ ეჟექტური სადუზინფექციო სითხე. ამასთან ყველა სხვა დაზინძურებული მასალა უნდა გააუვნებელყოთ.

ბიოსაფრთხის გაჩენის შემთხვევაში მიმართეთ ბიოსაფრთხეზე პასუხისმგებელ პირს ვინც მიმართავს ბიოსაფრთხოების კომიტეტს საჭიროებისამებრ გადაწყვეტილების მისაღებად.

სათაური: აივ ინფექციის HIV Ag/Ab ELISA	
სოპ ნომერი: 2-05-003	ძალაში შესვლის თარიღი:



Attachment 2

Test principle and procedure

