НАУЧНО–ПРОИЗВОДСТВЕННОЕ ОБЪЕДИНЕНИЕ

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ

REF **С-2162** Σ **96**

REF **С-2163** Σ **192**

REF **С-2164** Σ **480**

И Н С Т Р У К Ц И Я
по применению набора реагентов «МилаЛаб-ИФА-АНТИ-HCV» Тест-система иммуноферментная для выявления антител к вирусу гепатита С, набор диагностический

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Содержание

I. Назначение…………………………………………………….. 3
II. Состав набора.…………………………...……………………....... 3
III. Аналитические и диагностические характеристики …………….. 5
IV. Меры предосторожности …………….. 5
V. Инструкции по безопасности ……………………………………… 6
VI. Необходимые материалы и оборудование, не поставляемые с набором реагентов…………………………………...................... 7
VII. Отбор и подготовка образцов ………………………………….. 8
VIII. Подготовка реагентов………………………………............... 8
IX. Проведение анализа ……………….. 9
X. Учет результатов……………………………………………..... 11
XI. Ограничения теста……………………................................... 12
XII. Срок годности. Условия хранения и транспортирования………….. 13
XIII. Объяснение символов……………….……………………….. 13
XIV. Список литературы …………....................................... 14
Приложение 1...……………………………………………………......... 15
Приложение 2...…………..……………………………………………......... 16
Приложение 3…………………………………………………………......... 18

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Набор реагентов выпускается в трех комплектах:
комплект № 1 рассчитан на проведение 96 (один разборный планшет) определений, включая контрольные, предназначен для ручной постановки с возможностью дробного (по одному стрипу) использования набора или для одновременной постановки 96 определений на автоматических анализаторах для иммуноферментного анализа открытого типа, возможна 3-кратная постановка на автоматических анализаторах (разборность 32 х 3).
комплект № 2 рассчитан на проведение 192 (два разборных планшета) определений, включая контрольные, предназначен для ручной постановки с возможностью дробного использования набора или для одновременной постановки 192 (96 х 2) определений на автоматических анализаторах для иммуноферментного анализа открытого типа;
комплект № 3 рассчитан на проведение 480 (пять разборных планшетов) определений, включая контрольные, предназначен для ручной постановки с возможностью дробного использования набора или для одновременной постановки 480 (96 х 5) определений на автоматических анализаторах для иммуноферментного анализа открытого типа.

I. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «МилаЛаб-ИФА-АНТИ-HCV» - тест-система иммуноферментная для выявления антител класса IgG и IgM к вирусу гепатита С в сыворотке (плазме) крови, иммуноглобулинах и других препаратах, приготовленных из сыворотки (плазмы) крови человека. Рекомендуется для первичной лабораторной диагностики гепатита С и обследования доноров крови.

II. СОСТАВ НАБОРА РЕАГЕНТОВ «МилаЛаб-ИФА-АНТИ-HCV»

Таблица 1

Характеристики реагентов	Форма выпуска		
	Комплект 1	Комплект 2	Комплект 3
Иммуносорбент - планшет полистироловый 96-луночный разборный, в лунках которого сорбированы: смесь рекомбинантных антигенов вируса гепатита С – core, NS3, NS4, NS5.	1 планшет	2 планшета	5 планшетов
Конъюгат готовый, жидкий – смесь коньюгатов антител к иммуноглобулинам IgG и IgM человека, конъюгированных с пероксидазой хрена. Прозрачная или опалесцирующая жидкость цвета от желтого до оранжевого.	1 флакон 14,0 мл	1 флакон 25,0 мл	3 флакона 25,0 мл или 1 флакон 60,0 мл
К+ (контрольный положительный образец), – сыворотка (плазма) крови человека, содержащая антитела к вирусу гепатита С, не содержащая HBsAg и антитела к ВИЧ -1,2, инактивированная. Прозрачная или слегка опалесцирующая малинового цвета жидкость. Готовый к применению реагент.	1 флакон 3,0 мл	1 флакон 3,0 мл	2 флакона по 3,0 мл или 1 флакон 5,0 мл

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

К- (контрольный отрицательный образец), – сыворотка (плазма) крови человека, не содержащая HBsAg, антитела к вирусу гепатита С и антитела к ВИЧ-1,2; инактивированная. Прозрачная или слегка опалесцирующая зеленого цвета жидкость. Готовый к применению реагент.	1 флакон 3,0 мл или 1 флакон 5,0 мл	2 флакона по 3,0 мл или 2 флакона по 5,0 мл	4 флакона по 3,0 мл или 2 флакона по 5,0 мл
БР (блок-раствор) – розового цвета жидкость. Допустимо образование осадка.	1 флакон 20,0 мл	1 флакон 20,0 мл	2 флакона по 20,0 мл
ПР (промывочный раствор) – концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т). Прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная или светло-жёлтого цвета жидкость. Допустимо образование осадка, полностью растворяющегося при температуре от 35 до 39 °С и встряхивании.	1 флакон 50,0 мл или 1 флакон 120,0 мл	2 флакона по 50,0 мл или 1 флакон 120,0 мл	4 флакона по 50,0 мл или 2 флакона по 120,0 мл
ТМБ-Субстратный раствор, готовый к применению. Прозрачная бесцветная жидкость. Возможно наличие окраски **или**	1 флакон 14,0 мл	1 флакон 25,0мл	3 флакона по 25,0 мл или 1 флакон 60,0 мл
СБ - субстратный буферный раствор, цитратный буфер, содержащий раствор перекиси водорода. Прозрачная бесцветная жидкость.	1 флакон 25,0 мл	1 флакон 25,0 мл	3 флакона по 25,0 мл или 2 флакона по 50,0 мл
Хромоген ТМБ – раствор, содержащий 3,3′,5,5′-тетраметилбензидин. Прозрачная бесцветная жидкость. Возможно наличие окраски.	1 флакон 2,5 мл	1 флакон 2,5 мл	3 флакона по 2,5 мл или 2 флакона по 3,5 мл
Стоп-реагент - раствор серной кислоты. Прозрачная бесцветная жидкость.	1 флакон 25,0 мл или 1 флакон 50,0 мл	2 флакона по 25,0 мл или 1 флакон 50,0 мл	4 флакона по 25,0 мл или 2 флакона по 50,0 мл
Крышка к полистироловым 96-луночным планшетам	1	2	5
или защитная пленка для ИФА планшетов	2	4	10
Пластиковая скрепка или полиэтиленовый пакет с замком Zip-Lock для закрывания пакета с иммуносорбентом.	1	2	3
Пластиковая ванночка для жидких реагентов	2	4	10
Одноразовые наконечники	16	32	80

Набор комплектуется готовыми реагентами или концентрированными растворами. Имеется цветовая кодировка реагентов. Реагенты помещают в коробку картонную, куда вкладывают инструкцию по применению.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

III. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

(см. Приложение 2 к данной инструкции).

IV. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 3 (Приказ Министерства здравоохранения РФ № 4Н от 06 июня 2012 г.).

4.2. Достоверность результатов зависит от правильного выполнения следующих правил лабораторной практики:

- Постановку ИФА следует проводить в помещении с температурой от 18 до 24 °С.
- Нельзя использовать реагенты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме:

– неспецифических компонентов (ПР (концентрат ×25), СБ) которые взаимозаменяемы во всех тест-системах производства ООО «НПО «Диагностические системы»;

– стоп-реагента, который может быть взаимозаменяемым в зависимости от молярности раствора;

– за более детальной информацией относительно других реагентов обратитесь в нашу службу поддержки пользователей по телефону бесплатной линии 8-800-555-0300 (доб. 7647, 7655) или по E-mail: info@npods.ru.

- Нельзя использовать реагенты после истечения срока годности, указанного на упаковке.
- Перед использованием все реагенты выдержать при температуре от 18 до 24 °С в течение 30 мин.
- Рабочие растворы готовить осторожно, исключая какое-либо загрязнение.
- Нельзя проводить тест в присутствии реактивных паров (кислота, щелочь, альдегиды) или пыли, которые могут повлиять на ферментативную активность конъюгатов.
- Лабораторная посуда должна быть тщательно промыта; предпочтительно применение материалов одноразового использования.
- Перед использованием пластиковые ванночки для жидких реагентов ополоснуть водой дистиллированной. Посуду для работы с субстратной смесью (ванночки, флаконы и т.д.) в случае повторного использования необходимо сразу после работы промыть водой дистиллированной, затем 70% раствором этилового спирта и ополоснуть водой дистиллированной.
- Иммуносорбент допускается хранить в промежутках между отдельными операциями не более 10 мин (нельзя допускать высыхания лунок планшета).
- Ферментативная реакция особо чувствительна к ионам металлов. Нельзя допускать контакта металлических предметов с растворами конъюгатов или субстратов.
- Необходимо использовать новый наконечник для каждого образца или реагента.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

• Промывка лунок - важный этап в данной процедуре: необходимо соблюдать рекомендованное количество циклов промывки и убедиться, что лунки полностью заполняются. Не допускать остатка жидкости в лунках после промывки. Неправильно проведенный этап промывки может привести к неточным результатам.

• Нельзя использовать одну и ту же емкость для приготовления конъюгата и растворов.

• Необходимо использовать только валидированные пипетки и оборудование.

• Нельзя изменять процедуру проведения анализа.

• Необходимо использовать дистиллированную воду.

• Нельзя подвергать реагенты воздействию тепла или света во время инкубации и хранения.

V. ИНСТРУКЦИИ ПО БЕЗОПАСНОСТИ

• Все реагенты набора предназначены для диагностики “in vitro”.

• Сыворотки (плазмы) крови человека, используемые при приготовлении отрицательного контрольного образца были протестированы и определены нереактивными в отношении поверхностного антигена гепатита В (HBsAg), антигена р24 ВИЧ-1 и антител к гепатиту С и ВИЧ-1,2.

• Сыворотки (плазмы) крови человека, используемые при приготовлении положительного контрольного образца были протестированы и определены нереактивными в отношении поверхностного антигена гепатита В (HBsAg), антигена р24 ВИЧ-1 и антител к ВИЧ-1,2.

• При работе с реагентами набора (К-, К+) и исследуемыми образцами нужно обращаться как с потенциально опасными материалами, т.к. ни один известный метод тестирования не может гарантировать отсутствие инфекционных агентов.

• В помещении с иммунодиагностическими материалами нельзя употреблять пищу, пить, курить, применять косметику.

• Нельзя пипетировать ртом.

• При работе с исследуемыми образцами необходимо обращаться как с потенциально опасными материалами, т.к. ни один известный метод тестирования не может гарантировать отсутствие инфекционных агентов.

• При работе с набором реагентов и исследуемыми образцами необходимо использовать спецодежду и одноразовые перчатки, тщательно промывать руки после работы с ними.

• Необходимо избегать расплескивания образцов или растворов, содержащих образцы. При расплескивании немедленно дезинфицировать поверхность 3% раствором хлорамина Б.

• Необходимо избегать контакта субстратного буфера, хромогена, стоп-реагента с кожей и слизистыми.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

• После проведения ферментативной реакции необходимо нейтрализовать и/или автоклавировать растворы, отходы или любые жидкости, содержащие биологические образцы до сброса в канализацию. Твердые отходы (использованные планшеты, наконечники к дозаторам, флаконы, лабораторная посуда, одноразовые перчатки и т.д.) должны быть обеззаражены автоклавированием в течение часа при температуре от 124 до 128 °С под давлением 1,5 кГ/см^2 (0,15 МПа). Допустимо обеззараживание твердых отходов способом погружения в 3% раствор хлорамина Б (длительность дезинфекции не менее 1 часа) или другого разрешенного к промышленному выпуску и применению в РФ дезинфицирующего средства. Жидкие отходы (промывочные воды) следует обеззараживать добавлением сухого хлорамина Б из расчета 30 г/л (длительность дезинфекции – не менее 2 ч) или кипячением в течение 30 мин, или автоклавированием в течение 1 ч под давлением 1,5 кГ/см^2 (0,15 МПа) при температуре от 124 до 128 °С. Инструменты и оборудование до и после работы необходимо протирать 2 раза 70% этиловым спиртом.

• При утилизации и уничтожении все реагенты и материалы, являющиеся отходами, должны быть обработаны в соответствии с действующими нормативами (СанПиН 2.1.7.2790-10, СП 1.3.2322-08).

VI. НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ, НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ С НАБОРОМ РЕАГЕНТОВ

• Автоматические или полуавтоматические, регулируемые или предварительно устанавливаемые одноканальные или многоканальные пипетки с изменяемым объемом для отбора жидкостей.

• Одноразовые наконечники для пипеток переменного объема.

• Инкубатор микропланшетный или термостатируемый шейкер (37,0 ± 1,0) °С.

• Устройство для промывания планшетов (вошер).

• Градуированные цилиндры: 25 мл, 100 мл, 1000 мл.

• Дистиллированная или деионизированная вода.

• Микропланшетный ридер с возможностью измерения оптической плотности (ОП) при фильтрах 405 нм, 450 нм и 620-680 нм.

• Для постановки ИФА в автоматическом режиме - любая модель ИФА-анализаторов открытого типа (например, автоматический анализатор типа «TECAN Freedom EVOlyzer» производства фирмы «TECAN», Швейцария).

• За более детальной информацией обратитесь в нашу службу поддержки пользователей по телефону бесплатной линии 8-800-555-0300 (доб. 7647, 7655) или по E-mail: info@npods.ru.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

VII. ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Сбор образцов крови должен проводиться в соответствии с надлежащей практикой методом венопункции. В качестве исследуемых образцов могут быть использованы сыворотка (плазма) крови человека, иммуноглобулины и другие препараты, приготовленные из сыворотки (плазмы) крови человека. Для исключения ложных результатов нельзя подвергать исследуемые образцы термоинактивированию, необходимо отбирать и хранить их в условиях, предотвращающих бактериальный рост. Образцы можно хранить в соответствии с требованиями существующих нормативных документов. Сыворотку от эритроцитов или плазму от сгустка следует отделить как можно быстрее, чтобы избежать гемолиза. Гемолиз может повлиять на рабочие характеристики теста. Исследование образцов с выраженным бактериальным ростом, гемолизом и гиперлипидемией не допускается, т. к. может дать неправильный результат. Образцы сыворотки (плазмы) крови, содержащие агрегаты или осадок, необходимо осветлять центрифугированием.

Лиофильно высушенные препараты крови перед исследованием в тест-системе разводить в соответствии с инструкцией по применению данного препарата. Жидкие препараты крови использовать неразведенными, за исключением препаратов крови, содержащих иммуноглобулины. Препараты крови, содержащие иммуноглобулины, необходимо предварительно разводить в 50 раз рабочим ПР.

VIII. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

1. Реагенты готовые к применению:

- **Иммуносорбент.** Каждый планшет, состоящий из 12 стрипов, упакован в фольгированный пакет. Вскрыть фольгированный пакет и вынуть планшет. Взять необходимое количество стрипов. Неиспользованные стрипы без рамки поместить обратно в фольгированный пакет (не удаляя силикагель!) и тщательно герметизировать. Для этого край пакета следует свернуть 2-3 раза и закрепить, надев сверху скрепку для фольгированного пакета или поместить фольгированный пакет со стрипами в полиэтиленовый пакет с замком Zip-Lock.
- **К-** - контрольный отрицательный образец
- **К+** - контрольный положительный образец
- **Конъюгат**
- **БР** - блок-раствор для рабочего разведения сывороток
- **Стоп-реагент,** 0,2 моль/л
- **ТМБ – Субстратный раствор** *(при комплектации набора готовым ТМБ-Субстратным раствором)*

2. Реагенты, требующие предварительного приготовления

- **Рабочий промывочный раствор (ПР).** Содержимое флакона с концентратом (х 25) промывочного раствора тщательно перемешать. Для приготовления рабочего промывочного раствора необходимый объем концентрата (х25) промывочного раствора развести соответствующим объемом воды дистиллированной (см. табл. 2 и 3). Полученный раствор тщательно перемешать. Рабочий промывочный раствор, подготовленный к использованию, хранить в чистой плотно закрытой емкости в течение 14 сут. при температуре от 18 до 24 °С или 28 сут. при температуре от 2 до 8 °С.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

• **Субстратная смесь (СС).** Готовить перед использованием. Необходимый объем ТМБ развести соответствующим объемом СБ (см. табл. 2 и 3), тщательно перемешать до полного растворения. Допустимо хранение СС не более 10 ч в защищённом от света месте при температуре от 18 до 24 °С в чистых флаконах или специальной емкости, предназначенной для постановки ИФА на автоматических анализаторах для иммуноферментного анализа открытого типа.

3. Хранение неиспользованных реагентов.

После вскрытия флаконов и пакета с иммуносорбентом, оставшиеся неиспользованными реагенты хранить в течение срока годности тест-системы.

IX. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Примечание: Перед использованием все реагенты набора выдержать в течение 30 мин при температуре от 18 до 24 °С.

Необходимые объемы реагентов в зависимости от количества используемых стрипов или планшета представлены в таблице 2:

Таблица 2

Расход реагентов набора в зависимости от количества используемых стрипов при ручной постановке ИФА

Количество используемых стрипов	Рабочий промывочный раствор (ПР)		СС	
	ПР (х 25) (мл)	Вода дистиллированная (мл)	ТМБ (мл)	СБ (мл)
1	3,0	72,0	0,1	1,0
2	6,0	144,0	0,2	2,0
3	9,0	216,0	0,3	3,0
4	12,0	288,0	0,4	4,0
5	15,0	360,0	0,5	5,0
6	18,0	432,0	0,6	6,0
7	21,0	504,0	0,7	7,0
8	24,0	576,0	0,8	8,0
9	27,0	648,0	0,9	9,0
10	30,0	720,0	1,0	10,0
11	33,0	792,0	1,1	11,0
12	40,0	960,0	1,2	12,0

1. Во все лунки планшета внести по 60 мкл блок-раствора (БР). Внесение в лунки планшетов блок-раствора осуществлять непосредственно перед добавлением контрольных и исследуемых образцов. В зависимости от количества используемых стрипов рекомендуется внести в лунки 40 мкл контрольных образцов следующим образом:

1 стрип - 1 лунка К+ и 2 лунки К-

2 стрипа - 2 лунки К+ и 2 лунки К-

3 стрипа и более - 2 лунки К+ и 3 лунки К-

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

В зависимости от используемой автоматизированной системы возможно изменять порядок внесения и расположение контрольных образцов на планшете.

В остальные лунки внести по 40 мкл исследуемых образцов. При использовании термостата (процедура 2) после внесения образцов содержимое лунок тщательно перемешать осторожным постукиванием по краям планшета. При внесении образцов цвет содержимого лунок должен измениться с розового на желтый. Исключение составляют некоторые образцы, имеющие pH близкий к нейтральному, при внесении которых цвет БР не изменится.

Внимание! Возможны две альтернативные процедуры инкубации планшета (процедура 1 – термошейкер, процедура 2 – термостат). Очень важно, чтобы каждый этап постановки реакции осуществлялся по одной и той же процедуре. Сочетание процедур инкубации не допускается.

2. Планшет инкубировать 30 мин в термошейкере при 500 об/мин и температуре (37,0 ± 1,0) °С (процедура 1), либо 60 мин в инкубаторе микропланшетном при температуре (37,0 ± 1,0) °С (процедура 2).

3. По истечении указанного времени содержимое лунок удалить в ёмкость для сбора инфицированного материала (аккуратно, с помощью вошера или многоканальной пипетки) и планшет промыть 4 раза рабочим ПР, заливая его до краев лунок (не менее 400 мкл в лунку), выдерживая 40 с и удаляя промывочный раствор в ёмкость для сбора инфицированного материала. Рекомендуется использование автоматического микропланшетного вошера. Недостаточная промывка может неблагоприятно повлиять на точность анализа.

4. Во все лунки планшета внести по 100 мкл готового конъюгата и инкубировать в течение 20 мин в термошейкере при 500 об/мин при температуре (37,0 ± 1,0) °С (процедура 1), либо 20 мин в инкубаторе микропланшетном при температуре (37,0 ± 1,0) °С (процедура 2) после чего планшет промыть 4 раза рабочим ПР, как указано в п.3.

5. Во все лунки планшета внести по 100 мкл СС или ТМБ – Субстратного раствора (в зависимости от комплектации) и выдержать 20 мин при температуре от 18 до 24 °С в защищённом от света месте или 15 мин при температуре (37,0 ± 1,0) °С в защищённом от света месте.

6. Реакцию остановить добавлением в лунки по 150 мкл Стоп-реагента и через 2-3 минуты провести учет результатов.

Далее см. раздел **X.**

Схема проведения ИФА приведена в Приложении 3.

7. Проведение анализа в автоматическом режиме на анализаторе открытого типа «TECAN Freedom EVOlyzer» производства фирмы «TECAN», Швейцария (возможна постановка на других ИФА-анализаторах открытого типа).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Таблица 3

Расход реагентов набора в зависимости от количества используемых стрипов или на целый планшет при постановке ИФА на автоматических анализаторах для иммуноферментного анализа открытого типа

Количество используемых стрипов	**Рабочий промывочный раствор**		**Субстратная смесь**	
	ПР (конц. х 25) (мл)	Вода дистиллированная (мл)	ТМБ (мл)	СБ (мл)
4 (только для комплекта № 1)	16,0	384,0	0,65	6,5
8 (только для комплекта № 1)	32,0	768,0	1,2	12,0
12 (целый планшет)	40,0	960,0	1,2	12,0

7.1. Задать программу проведения ИФА и включить анализатор.

7.2. Приготовленный рабочий промывочный раствор залить в предназначенную для него емкость, остальные рабочие растворы и реагенты поместить в специальные контейнеры или емкости, контрольные образцы К+ и К- – во флаконах, исследуемые образцы – во флаконах или пробирках в объеме не менее 300 мкл установить в соответствующие штативы анализатора. В анализатор поместить необходимое количество планшетов. Далее постановку проводить в соответствии с инструкцией по применению ИФА-анализатора и программой проведения ИФА.

7.3. По окончании анализа прибор выдает протокол по результатам исследования, в котором дается характеристика каждого исследуемого образца и контрольных образцов К+ и К-.

7.4. Далее учет результатов проводить аналогично п. IX.

8. Спектрофотометрический контроль внесения сывороток и реагентов при постановке тест-системы «МилаЛаб-ИФА-АНТИ-HCV» на автоматических ИФА-анализаторах:

8.1. Контроль внесения образцов сывороток рекомендуется проводить при двух длинах волн 450 и 620 нм, критерий: ОП > 0,180.

8.2. Контроль внесения конъюгата рекомендуется проводить при двух длинах волн 450 и 620 нм, критерий: ОП > 0,350

8.3. Контроль внесения СС рекомендуется проводить при длине волны 540 нм, критерий: ОП > 0,040.

X. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов провести спектрофотометрически при двух длинах волн – 450 нм и при референс-длине волны в диапазоне от 620 до 680 нм с настройкой прибора по «воздуху». Допустим учёт результатов при одной длине волны – 450 нм.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Наличие определяемых антител к вирусу гепатита С оценивается сравнением оптической плотности (ОП), измеряемой для каждого образца, с расчетной величиной ОП критической.

Результаты анализа учитывать, если среднее значение ОП с К- (ОП К-ср) не более 0,2*, значение ОП в лунках с К+ - не менее 1,5.

ОП крит. рассчитывать по формуле:

ОП крит. = ОП К- ср + А (А=0,300),

где А – коэффициент, определяемый методом статистической обработки результатов постановки ИФА на предприятии-изготовителе.

***** Значения ОП К- и исследуемых образцов сывороток ниже 0,00 *(со знаком «-»)* при расчетах ОПкрит. и анализе результатов считать равными нулю.

Исследуемые образцы расценивать как положительные, если ОП ≥ ОПкрит.

Исследуемые образцы расценивать как отрицательные, если ОП < ОПкрит.

Положительно реагирующие образцы необходимо исследовать повторно в данном тесте не менее чем в двух лунках. Если хотя бы один из повторных анализов даёт положительный результат – образец считать положительным. При отрицательных результатах повторного исследования образец считать отрицательным. Все положительные образцы должны быть исследованы в подтверждающих ИФА-тестах (предпочтительно “ДС-ИФА-АНТИ-HCV-СПЕКТР-GM”), в иммуноблотинге или в ПЦР.

XI. ОГРАНИЧЕНИЯ ТЕСТА

- Необходимо внимательно прочитать инструкцию по применению до проведения теста и чётко ее соблюдать, обратив особое внимание на этапы внесения образцов и реагентов, отмывки планшета и на время стадий инкубации.
- Для анализа следует использовать только неразведенные образцы сыворотки или плазмы.
- Заключение о положительной реактивности образцов к вирусу гепатита С не должно быть основано на единственном положительном результате тестирования. Все положительные образцы должны быть проверены в подтверждающих тестах – ИФА, иммуноблотинге или ПЦР.
- Отрицательные результаты могут быть получены, если количество антител к вирусу гепатита С в образце ниже уровня чувствительности теста или если они отсутствуют на той стадии болезни, в которой образец был отобран. Отрицательный результат при скрининге не исключает возможность процесса и инфицирования вирусом гепатита С.
- Различия в результатах тестирования различными тестами образцов от пациентов, зараженных вирусом гепатита С, могут быть вызваны отличиями в иммунологических реакциях в зависимости от вида используемых антигенов.
- Изменчивость вируса гепатита С не позволяет исключить возможность ложноотрицательных результатов. Ни один из известных методов тестирования не может дать полную гарантию, что вирус гепатита С отсутствует.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

XII. СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Срок годности указан на упаковке набора. Набор с истекшим сроком годности использованию не подлежит.

Хранение – в сухом, защищенном от света месте при температуре от 2 до 8 °С.

Транспортирование – при температуре от 2 до 8 °С. Допустимо транспортирование от 9 до 20 °С и не более 10 суток. Замораживание не допускается.

Рекламации на специфические и физические свойства набора направлять в адрес предприятия-изготовителя – ООО «Научно-производственное объединение «Диагностические системы» 603093 Россия, г. Нижний Новгород, ул. Яблоневая, д. 22, тел./факс: (831) 434-86-83 или тел.: (831) 434-97-12. E-mail: info@npods.ru, www.npods.ru.

Для проведения расследования и получения объективных выводов по заявленной рекламации необходимо предоставление:

1. рекламационного набора,
2. всех образцов кроводач пациента,
3. протоколов исследований с использованием других методов с указанием серии, сроков годности.
4. протоколов исследований с использованием референтных тестов с указанием серии, сроков годности.

XIII. ОБЪЯСНЕНИЕ СИМВОЛОВ

IVD	Только для лабораторного использования (in vitro diagnostic)
	Производитель
REF	Каталожный номер
Σ	Количество определений
LOT	Номер партии (серии)
+2°C +8°C	Температурные пределы хранения
EXP.	Срок годности дата/месяц/год
	Использовать инструкцию по применению
Xi	Содержит раздражающее вещество

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Дополнительная информация в соответствии с ГОСТ Р 51088-2013

- «Набор предназначен для профессионального использования в клинической лабораторной диагностике специально обученным персоналом. При работе с набором реагентов следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования к безопасности»».
- «Реагенты набора не содержат вредных веществ в опасных концентрациях, за исключением реагентов, обозначенных символом «Внимание». При попадании на кожу или слизистые немедленно промыть большим количеством воды».
- Расшифровка символов по ГОСТ Р 15223-1-2014 «Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации. Часть 1. Общие требования».

 – Дата изготовления (YYYY-MM), символ 5.1.3;

 – Срок годности (дата истечения срока годности в формате YYYY-MM-DD), символ 5.1.4 (взамен символа  EXP.);

 – Не допускать воздействия солнечного света, символ 5.3.2;

 – Беречь от влаги, символ 5.3.4;

 – Внимание, символ 5.4.4;

 – Содержит раздражающее вещество (символ исключен).

XIV. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

См. Приложение 1 к данной инструкции.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Приложение 1

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Соринсон С.Н. Вирусные гепатиты. Санкт-Петербург, 1998.-С.201-245
2. Кузина Л.У., Ястребова О.Н. и др. Сравнительная оценка результатов определения антител к вирусу гепатита С при использовании различных иммуноферментных тест-систем и подтверждающих тестов// Вопросы вирусологии.-2004. №6-С.41-44.
3. Пат.№2262704. Российская Федерация. Набор антигенов для определения антител к вирусу гепатита С «ДС-HCV-антигены»/ Бурков А.Н. и др. – Заявлено 06.10.2004. - № 2004129264. – Зарегист. 20.10.2005.
4. Colin C., Lanoir D., Tauzet S. et.al. Sensibility and apecificity of third-generation hepatitis C virus antibody detection assays: an analysis of literature// J.Viral Hepatitis. – 2001.-V.8-p.87-95.
5. Ulanova T.I., Puzyrev V.F., Kulikova L.V., Bochkova G.B., Golubeva I.F., Obriadina A.P., Burkov A.N. A new anti-HCV EIA based on recombinant antigens derived from different sequences variants of hepatitis C virus//15-th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases/ - Copengagen, Denmark, 2005.-P.203.
6. Bochkova G.B., Puzyrev V.F., Obriadina A.P., Burkov A.N., Ulanova T.I. The evaluation of the ELISA kit “EIA-anti-HCV” with new recombinant antigens.// 20-th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases/ - Vienna, 2010.-P.118.
7. Bochkova G.B., Fomina S., Puzyrev V.F., Obriadina A.P., Burkov A.N., Ulanova. T.I. The evaluation of the ELISA kit “DS-EIA-anti-HCV- SPECTR-GM” as supplemental assay for confirmation of anti-HCV screening positive results //21-th European Congress of Clinical Microbiology and Infection Diseases. – Milan, May 7-10, 2011. – P.2235.
8. Evaluation of MONOLISA HCV Ag-Ab ULTRA. MiDAS, London 2006:1-19.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Приложение 2

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диагностическая чувствительность

Диагностическая чувствительность набора реагентов «МилаЛаб-ИФА-АНТИ-HCV» оценивалась при тестировании**:**

1. 439 образцов сывороток крови от пациентов, инфицированных вирусом гепатита С. Все образцы, содержащие антитела к вирусу гепатита С, определялись как позитивные. Чувствительность (95% CI): 439/439=100% (99,13% - 100%).

2. 14 коммерческих сероконверсионных панелей (BBI, Inc.; Zeptometrix, США). Полученные данные представлены в таблице 1 (указано количество образцов в панели, определяемых как положительные, из общего количества образцов сероконверсионной панели).

3. Стандартной панели сывороток, содержащих и не содержащих антитела к вирусу гепатита С, «ДС-Стандартной панели-HCV» (ООО «НПО «Диагностические системы», Россия) и ее аналога. Чувствительность набора на панелях составила 100%.

Все положительные образцы были подтверждены с помощью тест-системы «ДС-ИФА-АНТИ-HCV-СПЕКТР-GM».

Таблица 1

Диагностическая чувствительность тест-систем при исследовании сероконверсионных панелей

№ п/п	Панель	Количество положительных результатов по сравнению с количеством протестированных образцов		
		«МилаЛаб-ИФА-АНТИ-HCV»	«Monolisa Anti-HCV Plus»[1]	«Abbott AxSYM HCV v.3.0» [2]
1	BBI PHV 906	5/7	5/7	не тестировалась
2	BBI PHV 911	3/4*	2/4*	не тестировалась
3	ZMC HCV 9046	4/5	4/5	не тестировалась
4	ZMC HCV 9047	4/10	3/10	не тестировалась
5	ZMC HCV 10057	2/7	2/7	не тестировалась
6	ZMC HCV 10058	7/7	7/7	не тестировалась
7	ZMC HCV 10062	2/8	2/8	не тестировалась
8	ZMC HCV 10071	6/7	4/7	не тестировалась
9	ZMC HCV 10185	4/5	4/5	не тестировалась
		37/60	**33/60**	**-**
10	ZMC HCV 6222	1/8	не тестировалась	1/8
11	ZMC HCV 6227	2/7	не тестировалась	2/7
12	ZMC HCV 9041	4/8	не тестировалась	4/8
13	ZMC HCV 9044	2/6	не тестировалась	2/6
14	ZMC HCV 9058	1/5	не тестировалась	0/5
Итого		**10/34**	**-**	**9/34**

* образец №1 в панели отсутствует.

[1] Результаты НПО «Диагностические системы»

[2] Результаты LS Medizin Service, April 2007

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Специфичность

Специфичность набора реагентов «МилаЛаб-ИФА-АНТИ-HCV» определялась при исследовании сывороток доноров крови (n=5031). Специфичность (95% CI): 5014/5031=99,66% (99,46% - 99,79%).

Дополнительно были протестированы 579 образцов сывороток крови:

- 372 образца сывороток крови от беременных женщин и больных с инфекционными заболеваниями;
- 207 образцов сывороток крови от клинических пациентов с различными неинфекционными заболеваниями.

Специфичность на этой выборке (95% CI): 576/579=99,48% (98,49% - 99,82%).

Специфичность набора реагентов, определённая по Стандартной панели сывороток, содержащих и не содержащих антитела к вирусу гепатита С, «ДС-Стандартная панель-анти-HCV» (Россия), и ее аналогу, составила 100%.

Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2

Исследуемые категории	Количество образцов	Количество повторно реактивных образцов	Специфичность	Доверительный интервал, (95% CI)
Здоровые доноры	5031	17	99,66%	99,46% - 99,79%
Беременные женщины и больные с инфекционными заболеваниями	372	1	99,73%	98,49% - 99,95%
Клинические пациенты с различными неинфекционными заболеваниями	207	2	99,03%	96,58% - 99,74%
Итого	5610	20	99,64%	99,45% - 99,77%

Точность

Внутриплашечная воспроизводимость была оценена при тестировании 3 положительных образцов в 25 повторах в рамках одной серии. Коэффициент вариации составил не более 8%.

Внутрисерийная воспроизводимость анализа была оценена при тестировании 3 положительных образцов в 25 повторах на наборах реагентов одной и той же серии. Коэффициент вариации составил не более 10%.

Межсерийная воспроизводимость анализа была оценена при тестировании 3 положительных образцов в 25 повторах на наборах реагентов 3-х серий. Коэффициент вариации составил не более 12%.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СХЕМА АНАЛИЗА

1	**Внести**	По 60 мкл БР во все лунки
2	**Внести**	По 40 мкл исследуемых образцов сывороток и по 40 мкл К+ и К-
3	**Инкубировать**	**Процедура 1:** 30 мин, (37 °С ± 1,0), шейкер **Процедура 2:** 60 мин, (37 °С ± 1,0), термостат
4	**Промыть планшет**	4 раза, не менее 400 мкл рабочего промывочного раствора
5	**Внести**	По 100 мкл конъюгата во все лунки
6	**Инкубировать**	**Процедура 1:** 20 мин, (37 °С ± 1,0), шейкер **Процедура 2:** 20 мин, (37 °С ± 1,0), термостат
7	**Промыть планшет**	4 раза, не менее 400 мкл рабочего промывочного раствора
8	**Внести**	По 100 мкл СС или ТМБ-Субстратного раствора (в зависимости от комплектации)
9	**Инкубировать**	20 мин, 18-24 °С в темноте или 15 мин, (37 °С ± 1,0) в темноте
10	**Внести**	По 150 мкл стоп-реагента
11	**Учет результатов**	450 нм/620-680 нм или 450 нм

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru