

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор
ООО «Био-Рад Лаборатории»

Бровник Е.В.



« 03 » *января* 2010 г.

**Инструкция по применению изделия медицинского
назначения**

**«Реагенты для in vitro диагностики
вирусного гепатита С на анализаторах
серии ACCESS»**

2010

Access*

BIO-RAD

[HCV Ab PLUS] REF [34330]

Назначение

Анализ Access HCV Ab PLUS является иммуноферментной методикой определения антител к вирусу гепатита С в сыворотке или плазме крови человека с использованием системы иммуноферментного анализа (ИФА) Access.



Для использования в диагностике *In Vitro*

Все синтетические и коммерческие реагенты проходят через систему полного контроля качества, с момента получения сырья и до окончательного коммерческого использования продукта.

Каждая партия подвергается контролю качества и выпускается на рынок только при соответствии критериям приемлемости.

Сведения о продукции и контроле каждой партии хранятся в нашей компании.

Краткие сведения и пояснения

Вирус гепатита С (HCV) считается главной причиной посттрансфузионного гепатита ни-А - ни-В (NANBH), а также гепатита, передающегося нетрансфузионными парентеральными путями (у страдающих токсикоманиями, пациентов на гемодиализе, пациентов, перенесших трансплантацию)^{1,2,3,4,5,6,7}. 50-60% пациентов, инфицированных вирусом гепатита С, подвержены развитию хронического гепатита, также у них повышен риск развития цирроза или гепатоцеллюлярной карциномы^{8,9}.

Введение обязательного скрининга каждого образца донорской крови (на анти-HCV антитела) значительно снизило риск заражения через инфицированную кровь^{10,11}.

Анализ Access HCV Ab PLUS предназначен для выявления анти-HCV антител в сыворотке или плазме крови человека и, таким образом, вносит вклад в профилактику парентерального заражения. Он также полезен в диагностике HCV-инфекции. В обоих случаях результаты необходимо интерпретировать в совокупности с клиническими данными и иными серологическими маркерами.

Принципы процедуры

Анализ Access HCV Ab PLUS является непрямым ИФА. Пробу (сыворотку, плазму или контроль) добавляют в реакционную пробирку с парамагнитными частицами, покрытыми пептид-имитирующими иммунодоминантными эпитопами капсидного региона, и рекомбинантными белками (NS3 и NS4). Во время инкубации IgG и IgM, находящиеся в пробе, захватываются твердой фазой. После инкубации твердую фазу собирают магнитным полем, а несвязанные материалы удаляют серией промываний. На втором этапе конъюгат (козьи антитела против IgG человека, меченные щелочной фосфатазой) добавляют в реакционную пробирку. Вслед за инкубацией новая серия промываний удаляет излишек конъюгата. Добавляют хемилюминесцентный субстрат Lumi-Phos** 530, и фотоны, генерируемые ферментной реакцией, измеряют люминометром. Интенсивность излучаемого сигнала пропорциональна количеству имеющегося ферментного конъюгата и, соответственно, титру анти-HCV антител, находящихся в исследуемой сыворотке. Сравнивая пороговое значение, полученное при калибровке анализа, с сигналом от пробы, определяют наличие или отсутствие анти-HCV антител.

- Поставляется готовым к использованию.
- При данных условиях упаковка реагентов стабильна до окончания срока годности, указанного на ярлыке.
- При первой загрузке упаковки реагентов перемешайте содержимое, осторожно перевернув упаковку несколько раз, до полного перерастворения частиц.
- После первого использования храните ее загруженной в инструменте или в рефрижераторе (вертикально) и используйте ее в течение 28 дней.
- Признаками возможной порчи являются поврежденный эластомерный слой упаковки или значения контроля качества вне допустимого диапазона.

R1a:	Парамагнитные частицы, покрытые рекомбинантными белками (NS3/NS4), и пептид (Капсид), взвешенные в ТРИС-буфере, с < 0.1% азида натрия
R1b:	Разбавитель пробы с < 0.1% азида натрия
R1c:	Разбавитель конъюгата, с сурфактантом, < 0.1% азида натрия
R1d:	Конъюгат козьих антител против IgG человека с щелочной фосфатазой в ТРИС-буфере, с сурфактантом, < 0.1% азида натрия и < 0.1% ProClin ^{***} 300

**Предупреждения
и меры предосторожности**

- При первой загрузке в карусельный магазин встряхните упаковку до полного перерастворения частиц.
- Для использования в диагностике *in vitro*.
- Азид натрия может реагировать со свинцовыми или медными трубами водопровода, при этом образуются азиды металлов с повышенной взрывоопасностью. Для предотвращения скопления азидов при утилизации промывайте емкости большим количеством воды 12
- ProClin 300 является потенциальным сенсибилизатором кожи. Избегайте проливания или разбрызгивания данного реагента на кожу или одежду. В случае контакта с реагентом обильно промойте водой.

**Сбор и
подготовка
образцов**

1. В качестве образцов рекомендуются сыворотка или плазма (гепариновая, ЭДТА или цитратная).
2. Используйте следующие стандарты при работе с исследуемыми пробами крови:
 - Собирайте все пробы крови с соблюдением стандартных мер предосторожности при венепункции.
 - До центрифугирования пробы должны адекватно коагулировать минимум 1 час.
 - Храните пробирки все время закупоренными.
 - Центрифугируйте пробы 15 минут при минимум 1,500 g.
3. Используйте следующие стандарты при хранении проб крови^{13,14}:
 - В течение двух часов после центрифугирования перенесите по меньшей мере 500 мкл бесклеточной пробы в крепко закупоренную пробирку для хранения
 - Храните пробы при комнатной температуре не более 8 часов
 - Если анализ не завершен в течение 8 часов, охладите пробу при +2-10°C.
 - Если анализ не завершен в течение 48 часов, или при транспортировке проб, заморозьте пробу при -20°C
 - Размораживайте пробы только один раз, быстрое размораживание возможно путем нагревания в течение нескольких минут на водяной бане 40°C
 - После размораживания центрифугируйте пробу 15 минут при 3,000 g и перенесите ее в чашку для анализа с целью удалить взвешенные частицы или агрегаты фибрина, которые могут дать ложноположительные результаты.
4. Пробы с содержанием до 200 мг/л билирубина, до 90 г/л альбумина, липемические пробы с содержанием жиров, эквивалентным 36 г/л триолеина, и гемолизированные пробы с содержанием гемоглобина до 5 г/л не влияют на результаты теста.

**Поставляемые
материалы**

R1 Упаковки реагентов Access [HCV Ab PLUS]

Требуемые, но не поставляемые материалы	1. Контроли для калибровки Access HCV Ab PLUS. Отрицательная и положительная сыворотки для анти-HCV антител Каталожный № 34335 2. Материалы для контроля качества: Access HCV Ab PLUS QC Каталожный № 34319 – или иные коммерческие контрольные сыворотки 3. Субстрат Access Каталожный № 81906 4. Отмывочный буфер Access Каталожный № 81907
Примечания к процедуре	1. Обратитесь к руководству оператора и/или справочному руководству системы иммуноанализа Access для конкретного описания установки, запуска, принципов работы, характеристик производительности системы, инструкции по эксплуатации, процедур калибровки, операционных ограничений и мер предосторожности, технического обслуживания и диагностики неполадок. 2. Двадцать пять (25) мкл пробы используются при каждом измерении (в сумме с мертвым объемом). 3. Анализ инкубируют при 37°C в течение 55 минут
Процедура	1. Выберите экран «Запрос на тест» из главного меню. 2. Для каждой пробы назначьте позицию кюветы, введите данные о пробе и обозначьте тесты, которые необходимо провести. 3. Поместите пробирку с пробой пациента в кювету для пробы или перенесите пробу в чашку для проб и поместите ее в обозначенную позицию в кювете для пробы. 4. Нажмите клавишу запуска для начала работы. 5. Система укажет оператору выполнить необходимые калибровки. 6. Система подсчитывает результаты теста.
Сведения о калибровке	Для всех тестов требуется активная калибровочная кривая. Калибровочные данные для определения порога доступны в течение 28 дней. В последующем для анализа Access HCV Ab plus калибровку необходимо проводить каждые 28 дней, используя C0 и C1 из набора контролей Access HCV Ab Plus. Обратитесь к руководству оператора и справочному руководству за информацией по теории калибровки, конфигурации калибраторов, вводу запроса на тест калибратора и трактовке калибровочных данных.
Контроль качества	Проведение контроля качества рекомендуется по меньшей мере каждые 24 часа и при запуске системы до исследования проб пациентов. Используйте рекомендуемый продукт Access HCV Ab PLUS QC или контрольные сыворотки иного происхождения. Следуйте указаниям производителя по восстановлению и хранению. Каждая лаборатория должна установить среднее значение и диапазон допустимых значений для отслеживания аналитической эффективности теста. Результаты контрольных сывороток, не входящие в диапазон допустимых значений, могут указывать на недостоверные результаты теста. В таком случае проверьте все результаты тестов, полученные со времени прошлого приемлемого контроля качества теста для данного аналита. Обратитесь к руководству оператора для сведений по трактовке результатов контрольных сывороток.
Результаты	Результаты тестов пациентов обсчитываются автоматически системным программным обеспечением с использованием порогового значения [= среднее значение положительных контролей (RLU – относительные световые единицы) x 0.22], определяемого активной калибровкой. Результаты выдаются в виде "реактивна" или "нереактивна" в зависимости от их отношения с "порогом" (сигнал выше, равен, или ниже "порогового значения"). Любая проба с сигналом (в RLU) ниже порогового значения считается нереактивной с тестом Access HCV Ab Plus. Пробы с сигналом (в RLU), равным или превышающим пороговое значение, первично считаются реактивными с тестом Access HCV Ab Plus и перед окончательной интерпретацией должны быть протестированы заново в двух экземплярах.

В любом случае результаты, указывающие на отношение до 10% ниже порога, следует интерпретировать осторожно, рекомендуется протестировать заново соответствующие пробы в двух экземплярах перед окончательной интерпретацией. Результаты из рекомендуемой «серой зоны» (0.9-1.0) пользователю следует сохранить в программном обеспечении (обратитесь к руководству оператора для полной информации о «серой зоне» для проведения качественных анализов). Автоматически распознанный отличительный признак позволяет быстро выявить один результат, расположенный в «серой зоне». Результаты тестов пациентов можно просмотреть с использованием экрана «Результаты проб».

Обратитесь к руководству оператора для полных указаний по трактовке результатов. Если после повторного тестирования пробы сигналы (в RLU) в 2 экземплярах ниже порогового значения, первоначальный результат не воспроизведен, и проба считается «нереактивной» с тестом Access HCV Ab Plus.

Если после повторного тестирования сигнал (в RLU) одного из экземпляров равен или выше порогового значения, первоначальный результат воспроизведен, и проба считается «реактивной» с тестом Access HCV Ab Plus. Однако каждую пробу, у которой была воспроизведена реактивность, рекомендовано заново протестировать на второй линии ИФА-анализа и подтверждающим методом для гарантии ее положительного результата.

Ограничения процедуры

Анализ Access HCV Ab PLUS применяется исключительно для определения анти-HCV антител в сыворотке или плазме крови человека. Положительный результат анализа Access HCV Ab PLUS следует оценивать в совокупности с клиническими данными, и он должен быть подтвержден иными диагностическими тестами, включая подтверждающий метод (иммуоблоттинг), до его оценки как положительного на инфекцию (выборочно) [Место для дополнительного текста по отдельному анализу].

Особые характеристики производительности

Чувствительность

Чувствительность ACCESS HCV Ab PLUS оценивалась путем тестирования 511 положительных проб, убедительно подтвержденных документально, включая:

101 ПЦР-положительную сыворотку, собранную от хронических пациентов с HCV, состоящих на учете, 145 положительных проб от HCV-инфицированных пациентов, 77 HCV ДНК ПЦР-положительных проб плазмы, полученных от компании BBI, 122 генотипированных HCV-положительных пробы.

Составная панель производства компании SFTS 97 с 36 положительными пробами, 26 генотипированными и HCV ДНК ПЦР-положительными пробами; 10 положительных (ПЦР-отрицательных) проб по меньшей мере с 2 случаями реактивности антител к HCV.

Также были включены 30 положительных проб, обнаруженных в проспективных исследованиях специфичности.

Все указанные пробы репрезентативны по различным профилям серотипов (изолированная реактивность, 2 или 3 реактивности) и по наиболее широко распространенным генотипам HCV 1-4 плюс некоторым, более редким генотипам 4c/d и 5.

Все указанные пробы оказались положительными с ACCESS HCV Ab PLUS.

Значимой разницы в определении различных тестируемых генотипов HCV выявлено не было.

Чувствительность ACCESS HCV Ab PLUS оценивалась путем тестирования 74 сероконверсионных панелей.

Среди 29 протестированных коммерческих панелей Access HCV Ab Plus определил нарастание титра анти-HCV антител одновременно с тестом комплементарности RIBA 3.0 или чуть позже, с небольшой задержкой (несколько дней).

Среди 45 панелей, протестированных экспертами, тест Access HCV Ab plus был положителен с той же по времени пробой (т. е. положителен с той же кровью) в отличие от других более чувствительных тестов, использованных для сравнения. Только сероконверсии были ранее положительны с Access HCV Ab Plus.

Специфичность

Специфичность теста была оценена:

- как 99.83% на выборке из 5995 не отобранных проб доноров крови
- на выборке из 472 госпитализированных пациентов, 469 результатов оказались отрицательными, а 3, не определенные при помощи Chiron Riba HCV 3.0, оказались слабо положительными с ACCESS HCV Ab Plus.

Анализ 108 проб от пациентов с различными патологиями, не связанными с вирусом гепатита С (гепатиты А или В, герпес, вирус Эпштейна-Барр, ревматоидный фактор и пр.) не выявил значимой неспецифичной перекрестной реактивности.

Точность

Точность Access HCV Ab PLUS определялась анализом отрицательных и положительных проб. Воспроизводимость внутри анализа оценивалась тестированием 4 проб 30 раз в одной и той же серии, воспроизводимость между анализами оценивалась тестированием 4 проб в трех экземплярах, 2 раза в день в течение 5 дней. Результаты приведены в следующих таблицах:

Воспроизводимость внутри анализа

n = 30	Отрицательные 1	Отрицательные 2	Положительные 1	Положительные 2
Среднее значение (в RLU)	251824	1378166	10966900	12615243
Среднеквадратическое отклонение	10202	43987	320857	309281
C.V. (коэффициент вариации) %	4.05	3.19	2.93	2.45

C.V. (коэффициенты вариации) менее 5 %

Воспроизводимость между анализами

n = 30	Отрицательные 1	Отрицательные 2	Положительные 1	Положительные 2
Среднее значение коэффициентов (проба/порог)	0.07	1.34	3.18	4.42
Среднеквадратическое отклонение	0.01	0.09	0.21	0.39
C.V. (коэффициент вариации)	9.9	6.89	6.64	8.78

*Access является торговой маркой Beckman Coulter, Inc.

**Lumi-Phos 530 является торговой маркой Lumigen, Inc..

***ProClin 300 является торговой маркой Rohm and Haas Company или ее дочерних фирм или филиалов.

Калибраторы [HCV Ab PLUS] REF [34335]

Назначение

Калибраторы Access HCV Ab PLUS предназначены для использования с Access Ab PLUS с целью определения анти-HCV антител в сыворотке или плазме крови человека, с применением системы иммуноферментного анализа (ИФА) Access.



Для использования в диагностике *In Vitro*

Все синтетические и коммерческие реагенты проходят через систему полного контроля качества, с момента получения сырья и до окончательного коммерческого использования продукта.

Каждая партия подвергается контролю качества и выпускается на рынок только при соответствии критериям приемлемости.

Сведения о продукции и контроле каждой партии хранятся в нашей компании.

Краткие сведения и пояснения

Калибраторы Access HCV Ab PLUS применяются для обеспечения калибровки (определения порогового значения) для анализа Access HCV Ab PLUS. Сравнивая световую интенсивность, генерируемую пробой, с пороговым значением, можно определить наличие или отсутствие анти-HCV антител в пробе.

Информация о продукте

Калибраторы Access [HCV Ab PLUS]

Каталожный No. 34335: C0-C1, 1 мл в пробирке

- Поставляются готовыми к использованию
- Хранить при 2-10°C.
- Перед использованием смешайте содержимое, осторожно перевернув пробирку. Избегайте образования пены.
- Содержимое открытой пробирки сохранит стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыках пробирок, в случае хранения при + 2-10°C.
- Значения контроля качества вне допустимого диапазона являются признаком возможной порчи

C0:	Отрицательная (нереактивная) сыворотка человека на анти-HCV антитела с < 0.1% азиды натрия
C1:	Положительная (реактивная) сыворотка человека на анти-HCV антитела, инактивированная, с < 0.1% азиды натрия
Калибровочная карта:	1

Предупреждения и меры предосторожности

- Для использования в диагностике *in vitro*
- Полученный от человека материал, используемый в приготовлении реагентов, был проверен и признан нереактивным на поверхностный антиген гепатита В (HBs Ag), антитела к вирусу иммунодефицита человека (ВИЧ-1 и ВИЧ-2) и антитела к вирусу гепатита С (HCV), исключая положительный контроль C1, который положителен на анти-HCV антитела. Поскольку ни одна из известных методик тестирования не может обеспечить полной гарантии отсутствия инфекционных агентов, обращайтесь с реагентами и пробами пациентов как

- с возможными переносчиками инфекционных заболеваний.
- 3. Азид натрия может реагировать со свинцовыми или медными трубами водопровода, при этом образуются азиды металлов с повышенной взрывоопасностью. Для предотвращения скопления азидов при утилизации жидкостей промывайте емкости большим количеством воды ¹⁴
-

Процедура Для выполнения калибровочных процедур следуйте инструкциям в руководстве оператора и справочном руководстве системы иммуноанализа Access.

Сведения о калибровке Калибраторы Access HCV Ab PLUS имеются в двух формах: отрицательный калибровочный контроль C0 (приготовленный из пула отрицательной человеческой сыворотки) и положительный калибровочный контроль C1 (приготовленный из сыворотки человека, положительной на анти-HCV антитела), инактивированный.

Анализ Access HCV Ab PLUS требует наличия калибровочной кривой (определение порогового значения). Калибровочная кривая «активна» в автомате Access в течение 28 дней только для одной партии упаковки реагентов, идентифицируемой по единому штрих-коду. По окончании 28 дней или при установке новой партии упаковки реагентов в автомат кривая автоматически становится недействительной.

Калибровка анализа Access HCV Ab PLUS требует по меньшей мере 200 мкл (5 капель на чашку) каждого контроля (Пороговое значение = контроль C1 в RLU $\times$ 0.23); программируемая калибровка Access HCV Ab PLUS протестирует C0 и C1 в трех экземплярах.

*Access является торговой маркой Beckman Coulter, Inc.

**Lumi-Phos 530 является торговой маркой Lumigen, Inc..

[HCV Ab PLUS] QC

REF [34339]

Назначение

Access HCV Ab PLUS QC (Контроль Качества) предназначен для мониторинга производительности системы Access HCV Ab PLUS.

Для использования в диагностике *In Vitro*

IVD

Все синтетические и коммерческие реагенты проходят через систему полного контроля качества, с момента получения сырья и до окончательного коммерческого использования продукта.

Каждая партия подвергается контролю качества и выпускается на рынок только при соответствии критериям приемлемости.

Сведения о продукции и контроле каждой партии хранятся в нашей компании.

Краткие сведения и пояснения

Контроль Access HCV Ab PLUS QC предназначен для мониторинга системной производительности анализа Access HCV Ab PLUS, предназначенного для определения анти-HCV антител. Использование материалов контроля качества показано для выявления и потенциального разрешения критических ошибок тестирования, возникших из-за наборов для тестирования, персонала и оборудования, они являются интегральной частью должной лабораторной практической работы^{15,16,19,21,22}. Поставляются один отрицательный и один слабоположительный контрольные уровни для возможности мониторинга производительности в наиболее значимой зоне динамического диапазона данных анализов.

Информация о продукте

Access [HCV Ab PLUS] QC

Каталожный No. 34339: 2.5 мл в пробирке

- Поставляется готовым к использованию
- Перед использованием смешайте содержимое, осторожно перевернув пробирку. Избегайте образования пены.
- QC стабилен до окончания срока годности, указанного на ярлыках пробирок, в случае хранения при + 2-10°C.
- Содержимое открытых пробирок сохраняет стабильность в течение 30 дней при должном обращении и хранении.

QC 1:	Сыворотка человека с < 0.1% азиды натрия. Отрицательная (нереактивная) на анти-HCV антитела
QC 2:	Сыворотка человека с < 0.1% азиды натрия. Положительная (реактивная) на анти-HCV антитела, инактивированная
Карта значений QC:	1

Предупреждения и меры предосторожности

- Для использования в диагностике *in vitro*
- Полученный от человека материал, используемый в приготовлении реагентов, был проверен и признан нереактивным на поверхностный антиген гепатита В (HBs Ag), антитела к вирусу иммунодефицита человека (ВИЧ-1 и ВИЧ-2) и антитела к вирусу гепатита С (HCV), исключая контроли QC2, которые положительны на анти-HCV. Поскольку ни одна из известных методик тестирования не может обеспечить полной гарантии отсутствия инфекционных агентов, обращайтесь с реагентами и пробами пациентов как с возможными переносчиками инфекционных заболеваний.

- 3. Азид натрия может реагировать со свинцовыми или медными трубами водопровода, при этом образуются азиды металлов с повышенной взрывоопасностью. Для предотвращения скопления азидов при утилизации жидкостей промывайте емкости большим количеством воды ¹².

Процедура

С контролями Access HCV Ab PLUS QC необходимо обращаться так же, как с пробами от пациентов, и проводить процедуру в соответствии с инструкциями, указанными в наборе, сопровождающем используемый инструмент. Примечание: для системы иммуноанализа Access обратитесь к руководству оператора и справочному руководству системы иммуноанализа Access для информации по конфигурированию запроса на тест контролей QC пробы и толкованию контрольных данных. Для проведения контроля Access HCV Ab PLUS QC в системе иммуноанализа Access требуется минимум 150 мкл на чашку с пробой (3-4 капли) для каждого из 2 контролей (одно измерение).

Ограничения процедуры

Если у контроля имеются признаки микробного загрязнения или излишней мутности, утилизируйте пробирку.

Ожидаемые величины

Контрольные данные для анализа Access HCV Ab PLUS поставляются с каждой партией в виде "Карты данных QC", вкладываемой в упаковку. Индивидуальные средние уровни реактивности пользовательских лабораторий должны находиться в пределах соответствующего допустимого диапазона, однако каждая лаборатория должна определить свою собственную среднюю реактивность и допустимые диапазоны после сбора достаточного количества данных ¹⁸.

С учетом того, что специфические уровни реактивности могут разниться среди анализов различных производителей, различных процедур, различных номеров партий и различных лабораторий, каждая лаборатория должна определить специфический уровень реактивности и установить свой собственный диапазон приемлемых значений ^{18,19,20,21}. Допустимый диапазон может включать все значения в пределах $\pm$ SD (среднеквадратического отклонения) от среднего значения 20 точек данных из 20 измерений за период в 30 дней ²².

BIO-RAD ГАРАНТИРУЕТ РАБОТУ ДАННЫХ ПРОДУКТОВ СОГЛАСНО ОПИСАНИЮ НА ЯРЛЫКАХ И ПРИЛАГАЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЕ. BIO-RAD ОТРИЦАЕТ ЛЮБУЮ КОСВЕННУЮ ГАРАНТИЮ КОММЕРЧЕСКОГО КАЧЕСТВА ИЛИ СООТВЕТСТВИЯ ТРЕБОВАНИЯМ ДЛЯ ЛЮБОЙ ИНОЙ ЦЕЛИ. BIO-RAD НЕ НЕСЕТ ОТВЕТСТВЕННОСТЬ ЗА ЛЮБОЙ ВРЕД, ПОСЛЕДОВАВШИЙ ОТ ЛЮБОЙ СИТУАЦИИ, ВОЗНИКШЕЙ В СВЯЗИ С ВЫШЕУПОМЯНУТОЙ ПРЯМОЙ ГАРАНТИЕЙ.

*Access является торговой маркой Beckman Coulter, Inc.

**Lumi-Phos 530 является торговой маркой Lumigen, Inc..

Список литературы

См. французскую версию.