

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор
ООО «Диапроцесс»



М.В. Лосев

201 7 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов
для иммуноферментного выявления суммарных антител к вирусу гепатита С

«ВГС-АТ»

по ТУ 9398-003-49073111-2016

НАЗНАЧЕНИЕ

Для диагностики «in vitro».

Набор реагентов для иммуноферментного выявления суммарных антител к вирусу гепатита С «ВГС-АТ» по ТУ 9398-003-49073111-2016 (далее по тексту – набор реагентов), предназначенный для качественного выявления суммарных антител к вирусу гепатита С (далее по тексту – ВГС) в сыворотке и плазме крови человека (далее по тексту – анализируемые образцы) методом непрямого двухстадийного твердофазного иммуноферментного анализа (далее по тексту – ИФА).

Рекомендуется использовать для скрининга (первичной лабораторной диагностики) ВГС.

Область применения – клиническая лабораторная диагностика.

ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

Гепатит С вызывается гепатотропным РНК-содержащим вирусом, относящимся к семейству Flaviviridae. Вирус представлен шестью генотипами.

От момента заражения до клинических проявлений проходит от 2 до 26 недель. В большинстве случаев никаких клинических проявлений болезни при первичном заражении не возникает и человек долгие годы не подозревает, что болен, но при этом является источником заражения.

Заражение ВГС преимущественно происходит при непосредственном попадании вируса в кровь (медицинские и немедицинские парентеральные манипуляции). Одним из основных факторов риска инфицирования ВГС является употребление инфекционных наркотиков. Риск заражения при половых контактах не превышает 5%. Вероятность заражения плода и новорожденного от матерей, инфицированных ВГС, составляет от 1 до 5%.

Симптомы гепатита С отражают, в основном, повреждения и нарушение функции печени. Наиболее общие симптомы развивающегося гепатита включают: слабость и утомляемость, потерю аппетита, тошноту, тяжесть или дискомфорт в животе, потемнение мочи, изменение цвета кала (становится светлым) и желтуху.

Несмотря на большое разнообразие лабораторных методов, основным тестом, повсеместно и широко применяемым для лабораторной диагностики гепатита С, остается выявление суммарных антител к белкам вируса (анти-ВГС) методом ИФА. Первыми, в период от 3 до 6 недель заболевания, начинают образовываться антитела класса IgM. Через 1,5-2 месяца начинается заметная выработка антител класса IgG, достигая максимума концентрации к 3-6 месяцу заболевания.

ПРЕДНАЗНАЧЕННЫЙ ПОЛЬЗОВАТЕЛЬ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

Только для профессионального использования.

Сотрудники клинико-диагностических лабораторий медицинских учреждений и лабораторий службы крови.

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ

1 Состав набора реагентов

Набор реагентов выпускают в виде комплекта 1 и комплекта 2.

Все комплекты предназначены для постановки анализа вручную и на анализаторе иммуноферментном «Элиза» (далее по тексту – анализатор «Элиза»).

Комплект 1 и комплект 2 отличаются по количеству компонентов, входящих в набор реагентов. Комплект 1 и комплект 2 предназначены для постановки анализа на 96 и 192 определения соответственно, включая контрольные образцы.

Каждый комплект включает в себя «Иммуносорбент», картридж с растворами реагентов и контролей, герметизированный пленкой, концентрат промывочного раствора и инструкцию по применению. Дополнительно в набор вкладывают клейкую пленку для картриджей.

Состав комплектов представлен в таблице 1.

Т а б л и ц а 1 – Состав комплектов

Наименование	комплект 1	комплект 2
	Кат. №	Кат. №
<i>Компоненты</i>		
«Иммуносорбент» – рекомбинантные антигены ВГС (core, NS3, NS4, NS5), сорбированные в лунках планшетов	1 шт.	2 шт.
«К1» – положительный контрольный образец, инактивированный – прозрачная синего цвета жидкость, допускается выпадение осадка. Консервант: натрия азид – 0,05%, мертиолят – 0,005%	1,5 мл	3 мл
«К2» – отрицательный контрольный образец, инактивированный – прозрачная желтого цвета жидкость, допускается выпадение осадка. Консервант: проклин-300 – 0,1%	1,5 мл	3 мл
«Р1» – разводящий буферный раствор для сывороток – прозрачная светло-желтого цвета жидкость, допускается выпадение осадка. Консервант: проклин-300 – 0,1%	7 мл	13 мл
«Р2» – раствор конъюгата – прозрачная светло-желтого цвета жидкость, допускается выпадение осадка. Консервант: мертиолят – 0,005%	13 мл	25 мл
«Р3» – раствор хромогена – прозрачная бесцветная жидкость, допускается наличие голубого оттенка, допускается выпадение осадка	13 мл	25 мл
«Р4» – 0,9 моль/л раствор кислоты серной – прозрачная бесцветная жидкость	7 мл	13 мл
«Концентрат промывочного раствора» - 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином – прозрачная бесцветная жидкость, допускается выпадение осадка	1 фл. (28 мл)	2 фл. (по 28 мл)
<i>Принадлежности</i>		
Клейкая пленка для картриджей	4 шт.	4 шт.
<i>Эксплуатационная документация</i>		
Инструкция по применению набора реагентов	1 шт.	1 шт.

2 Число анализируемых образцов биологического материала

Комплект 1 предназначен для 96 определений, комплект 2 предназначен для 192 определений, включая контрольные образцы.

3 Принцип метода

Метод определения основан на непрямом двухстадийном твердофазном иммуноферментном анализе.

На первой стадии ИФА анализируемый образец и «Р1» инкубируют в лунках, содержащих рекомбинантные антигены (core, NS3, NS4, NS5) ВГС, характерные для генотипов 1, 2 и 3.

При наличии в анализируемом образце специфических антител к ВГС происходит их связывание с антигеном на твердой фазе с образованием иммунных комплексов «антиген-антитело».

На второй стадии ИФА, после инкубации и удаления несвязанных компонентов анализируемого образца, в лунки добавляют раствор «Р2», который выявляет комплексы «антиген-антитело».

После инкубации и удаления несвязанного раствора конъюгата, связанный конъюгат выявляют, добавляя в лунки раствор «Р3».

Реакцию останавливают раствором «Р4».

Интенсивность окрашивания раствора в лунках измеряют с использованием спектрофотометра.

Общее содержание антител к ВГС в анализируемых образцах прямо пропорционально интенсивности окраски раствора.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

1 Чувствительность

Чувствительность набора реагентов определяли с использованием следующих материалов:

– положительных сывороток стандартной панели «Стандарт АТ(+/-) ВГС», аттестованной Отделом биологического и технологического контроля предприятия (далее по тексту - ОБТК) ООО «Диапроцесс». Чувствительность набора реагентов с образцами панели без ложноотрицательных результатов составила 100 %.

1.1 Диагностическая чувствительность

Диагностическую чувствительность набора реагентов определяли в ходе клинических исследований с использованием следующих материалов:

– массива сывороток крови в количестве 1112 образцов, содержащих антитела к ВГС. Значение диагностической чувствительности с доверительной вероятностью $C = 95\%$ составляет 99,8 %;

– массива плазмы крови человека с гепарином в количестве 1112 образцов, содержащих антитела к ВГС. Значение диагностической чувствительности с доверительной вероятностью $C = 95\%$ составляет 99,8 %;

– массива плазмы крови человека с ЭДТА в количестве 1112 образцов, содержащих антитела к ВГС. Значение диагностической чувствительности с доверительной вероятностью $C = 95\%$ составляет 99,8 %;

– массива плазмы крови человека с цитратом натрия в количестве 1112 образцов, содержащих антитела к ВГС. Значение диагностической чувствительности с доверительной вероятностью $C = 95\%$ составляет 99,8 %.

2 Специфичность

Специфичность набора реагентов определяли с использованием следующих материалов:

– отрицательных сывороток стандартной панели «Стандарт АТ(+/-) ВГС», аттестованной ОБТК ООО «Диапроцесс». Специфичность набора реагентов с образцами панели без ложноположительных результатов должна составила 100 %.

2.1 Диагностическая специфичность

Диагностическую специфичность набора реагентов определяли в ходе клинических исследований с использованием следующих материалов:

– массива сывороток крови человека в количестве 1792 образцов, не содержащих антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2, ВГС, *Treponema pallidum*, антигена р24 ВИЧ-1 и HBsAg. Значение диагностической специфичности с доверительной вероятностью $C = 95\%$ составляет 99,9%;

– массива плазмы крови человека с гепарином в количестве 1792 образцов, не содержащих антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2, ВГС, *Treponema pallidum*, антигена p24 ВИЧ-1 и HBsAg. Значение диагностической специфичности с доверительной вероятностью $C = 95\%$ составляет 99,9%;

– массива плазмы крови человека с ЭДТА в количестве 1792 образцов, не содержащих антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2, ВГС, *Treponema pallidum*, антигена p24 ВИЧ-1 и HBsAg. Значение диагностической специфичности с доверительной вероятностью $C = 95\%$ составляет 99,9%;

– массива плазмы крови человека с цитратом натрия в количестве 1792 образцов, не содержащих антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2, ВГС, *Treponema pallidum*, антигена p24 ВИЧ-1 и HBsAg. Значение диагностической специфичности с доверительной вероятностью $C = 95\%$ составляет 99,9%;

– массив сывороток крови в количестве 550 образцов, полученных от пациентов с различными патологиями и измененным иммунным статусом, не связанными с ВГС (беременность, аутоиммунные нарушения (в том числе ревматоидный артрит), а также вирусные или бактериальные инфекции (гепатит В, ВИЧ-инфекция, сифилис, краснуха, токсоплазмоз, эпидемический паротит, корь, ЦМВ, ВПГ, ВЭБ, хламидиоз). Значение диагностической специфичности с доверительной вероятностью $C = 95\%$ составляет 99,6%;

– массива плазмы крови человека с гепарином в количестве 550 образцов, полученных от пациентов с различными патологиями и измененным иммунным статусом, не связанными с ВГС (беременность, аутоиммунные нарушения (в том числе ревматоидный артрит), а также вирусные или бактериальные инфекции (гепатит В, ВИЧ-инфекция, сифилис, краснуха, токсоплазмоз, эпидемический паротит, корь, ЦМВ, ВПГ, ВЭБ, хламидиоз). Значение диагностической специфичности с доверительной вероятностью $C = 95\%$ составляет 99,6%;

– массива плазмы крови человека с ЭДТА в количестве 550 образцов, полученных от пациентов с различными патологиями и измененным иммунным статусом, не связанными с ВГС (беременность, аутоиммунные нарушения (в том числе ревматоидный артрит), а также вирусные или бактериальные инфекции (гепатит В, ВИЧ-инфекция, сифилис, краснуха, токсоплазмоз, эпидемический паротит, корь, ЦМВ, ВПГ, ВЭБ, хламидиоз)). Значение диагностической специфичности с доверительной вероятностью $C = 95\%$ составляет 99,6%;

– массива плазмы крови человека с цитратом натрия в количестве 550 образцов, полученных от пациентов с различными патологиями и измененным иммунным статусом, не связанными с ВГС (беременность, аутоиммунные нарушения (в том числе ревматоидный артрит), а также вирусные или бактериальные инфекции (гепатит В, ВИЧ-инфекция, сифилис, краснуха, токсоплазмоз, эпидемический паротит, корь, ЦМВ, ВПГ, ВЭБ, хламидиоз). Значение диагностической специфичности с доверительной вероятностью $C = 95\%$ составляет 99,6%.

2.2 Аналитическая специфичность

Аналитическую специфичность набора реагентов определяли с использованием рабочей панели сывороток «РП-АС АТ(+/-) ВГС», аттестованной ОБТК ООО «Диапроцесс». Специфичность набора реагентов с образцами панели без ложноположительных результатов составила 100 %.

3 Воспроизводимость

Внутрисерийная воспроизводимость набора реагентов была протестирована на сыворотках стандартной панели «Стандарт АТ(+/-) ВГС», поставленных в четырех повторях. Коэффициент вариации не превысил 8 %.

Межсерийная воспроизводимость набора реагентов была протестирована на сыворотках стандартной панели «Стандарт АТ(+/-) ВГС», поставленных в четырех повторях на 10 сериях набора реагентов. Коэффициент вариации не превысил 8 %.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ РЕАГЕНТОВ

Потенциальный риск применения набора реагентов – класс 3 в соответствии с Приказом МЗ РФ №4н от 06.06.2012 г «Об утверждении номенклатурной классификации медицинских изделий».

При работе с набором реагентов соблюдать требования ГОСТ Р 52905-2007 (ИСО 15190:2003) «Лаборатории медицинские. Требования безопасности», «Инструкции по мерам профилактики

распространения инфекционных заболеваний при работе в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» (Утв. МЗ СССР 17 января 1991 г.) и СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

Кислота серная, входящая в состав «Р4», обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.

«К1» содержит в качестве консервантов 0,05% азид натрия и 0,005% мертиолята, «К2» и «Р1» содержит в качестве консерванта 0,1 % проклина 300. «Р2» содержит в качестве консерванта 0,005 % мертиолята. Все реактивы, входящие в состав компонентов набора реагентов в используемых концентрациях, являются нетоксичными. При попадании данных растворов на кожу и слизистые промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.

Сыворотка крови человека, использованная для контрольных образцов, является инактивированной, однако контрольные образцы следует рассматривать как потенциально инфицированный биологический материал, а анализируемые образцы – инфицированный биологический материал (ГОСТ Р ЕН 13641-2010 «Устранение и снижение риска инфицирования, связанного с реагентами для диагностики in vitro»).

Сыворотка крови человека, использованная для получения «К2», проверена на отсутствие антител к ВИЧ-1, ВИЧ-2, ВГС, T.pallidum, антигена р24 ВИЧ-1 и HBsAg.

При работе с набором реагентов использовать средства индивидуальной защиты (халат, шапочку или косынку, кожаные тапочки, одноразовые перчатки), т.к. контрольные и анализируемые образцы следует рассматривать как потенциально инфицированные.

При работе с набором реагентов не допускать переливание растворов из одного контейнера в другой.

Все использованные материалы, инструменты и оборудование, рабочее место дезинфицировать в соответствии с требованиями СП 1.3.2322-08 и МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

Обеззараживание и/или обезвреживание и утилизацию всех анализируемых образцов, компонентов и отходов набора реагентов, несущих потенциальную биологическую опасность, производить в соответствии с разделом «Утилизация набора реагентов» настоящей инструкции по применению.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Для постановки на анализаторе «Элиза» необходимы следующие оборудование и материалы:

- анализатор иммуноферментный «Элиза», ООО «Диапроцесс»;
- холодильник, поддерживающий температуру от 2 до 8 °С и /или холодильник с морозильной камерой, поддерживающей температуру до минус 20 °С;
- одноразовые наконечники вместимостью до 300 мкл, ООО «Диапроцесс»;
- одноразовые наконечники вместимостью до 800 мкл, ООО «Диапроцесс»;
- вода очищенная.

При ручной постановке анализа необходимы следующие оборудование и материалы:

- спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерение оптической плотности (далее по тексту – ОП) в лунках планшетов при длине волны 450 нм и с возможностью съемки при длине волны от 620 до 700 нм;
- термостатирующий шейкер (с частотой вращения платформы 700 об/мин), поддерживающий температуру $(42 \pm 1) ^\circ\text{C}$;
- устройство для промывки планшетов и/или восьмиканальный полуавтоматический дозатор пипеточный со сменными наконечниками;
- одноканальные полуавтоматические дозаторы пипеточные с переменным или фиксированным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкостей от 10 до 1000 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов, погрешность измерения которых должна быть не более 3 %;

- холодильник, поддерживающий температуру от 2 до 8 °С и /или холодильник с морозильной камерой, поддерживающей температуру до минус 20 °С;
- вода очищенная.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Идентификацию и прослеживаемость анализируемых образцов (проб пациента) проводить в соответствии с системой менеджмента качества лаборатории.

Для ИФА использовать анализируемые образцы как свежеприготовленные, так и хранившиеся не более семи суток при температуре от 2 до 8 °С или не более шести месяцев при температуре минус 20 °С.

Подготовить анализируемые образцы, хранившиеся в холодильнике/морозильной камере, для анализа. Образцы, хранившиеся в морозильной камере разморозить. Каждый анализируемый образец, хранившийся в холодильнике/морозильной камере, прогреть до температуры от 17 до 27 °С и тщательно перемешать.

Объем анализируемого образца для ИФА должен быть:

- не менее 50 мкл при ручной постановке анализа;
- не менее 200 мкл при постановке на автоматическом анализаторе «Элиза».

Антикоагулянты (гепарин, ЭДТА, цитрат натрия) не влияют на результаты анализа.

Для исключения ложноположительных результатов анализируемые образцы готовить и хранить в условиях, исключающих возможность бактериального пророста. Необходимо осветлять анализируемые образцы, содержащие осадок и агрегаты, путем центрифугирования в течение 15 мин при частоте вращения 3000 об/мин. Не использовать анализируемые образцы с выраженным гемолизом, гиперлипидемией и бактериемией.

Избегать повторных циклов замораживания-оттаивания анализируемых образцов.

ПРИЧИНЫ СНИЖЕНИЯ ПРАВИЛЬНОСТИ И ВОСПРОИЗВОДИМОСТИ РЕЗУЛЬТАТОВ ИФА

Использование компонентов с истекшим сроком годности.

Использование компонентов из наборов реагентов разных серий.

Использование компонентов из наборов реагентов других производителей наборов реагентов.

Несоблюдение условий и сроков хранения вскрытых компонентов в случае постриповой постановки ИФА.

Несоблюдение условий забора крови и хранения анализируемых образцов, которые могут привести к разрушению анализируемого соединения или появлению в анализируемом образце веществ, искажающих результат ИФА.

Проведение анализа в неблагоприятных условиях окружающей среды - при температуре воздуха в лаборатории выше 25 °С и относительной влажности воздуха более 70 %.

Неправильное дозирование растворов, которое приводит как к росту, так и к снижению регистрируемой ОП.

Использование оборудования, не прошедшего регламентированного периодического технического обслуживания и/или эксплуатирующегося не в соответствии с инструкцией по применению на данное оборудование.

Неправильное использование устройства для промывки планшетов, приводящее к бактериальному или грибковому росту в емкости для промывочного раствора, соединительных шлангах и иглах.

Контакт раствора конъюгата и хромогена с металлическими предметами (результат ИФА чувствителен к присутствию ионов металлов).

Неполное заполнение и опорожнение лунок «Иммуносорбента» во время промывки, переполнение и перетекание жидкости в соседние лунки.

Высыхание лунок «Иммуносорбента» между отдельными операциями.

Использование для работы с компонентами, анализируемыми и контрольными образцами грязных наконечников.

Внесение анализируемых образцов одним наконечником.

Нарушение режима прогрева оборудования (спектрофотометра, термошейкера, анализатора «Элиза»)

Использование для дезинфекции посуды, оборудования, материалов и рабочих поверхностей неразрешенных и/или оказывающих влияния на результат ИФА дезсредств.

ПОДГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

Перед проведением ИФА все компоненты набора реагентов необходимо выдержать не менее 30 мин при температуре от 17 до 27 °С.

Приготовление промывочного раствора

Для приготовления промывочного раствора необходимо смешать один объем «Концентрата промывочного раствора» с 24 объемами воды очищенной.

При проведении ИФА на одном или нескольких стрипах «Иммуносорбента» мерными цилиндрами отобрать необходимые объемы «Концентрата промывочного раствора» и воды очищенной в соответствии с таблицей 2, перенести в чистую лабораторную посуду и тщательно перемешать.

Залить промывочный раствор в предназначенную для него емкость анализатора «Элиза» или устройства для промывки планшет.

Хранение: промывочный раствор в чистой плотно закрытой емкости в течение 7 суток при температуре от 17 до 27 °С, неиспользованный вскрытый «Концентрат промывочного раствора» в плотно закрытом флаконе в течение срока годности набора реагентов при температуре от 2 до 8 °С.

Т а б л и ц а 2 – Расход «Концентрата промывочного раствора» при приготовлении промывочного раствора для проведения ИФА

Объем, мл	Количество используемых стрипов, шт.											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
«Концентрат промывочного раствора»	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24
Вода очищенная	до 50	до 100	до 150	до 200	до 250	до 300	до 350	до 400	до 450	до 500	до 550	до 600

Все компоненты набора реагентов находящиеся в картридже готовы к использованию.

ПРОВЕДЕНИЕ ИФА

Постановка на анализаторе «Элиза»

1 Поместить анализируемые образцы в штативы для образцов. Следуя указаниям программного обеспечения анализатора «Элиза», загрузить штативы с анализируемыми образцами в анализатор «Элиза». Назначить всем образцам анализ «ВГС-АТ».

ВНИМАНИЕ! При проведении анализа в анализаторе «Элиза» для разнесения «K1» и «K2» используют по 2 лунки планшета.

2 Поместить указанное число наконечников в штативы для наконечников.

3 Поместить картридж с реагентами «ВГС-АТ» в позицию для размещения картриджей (в соответствии с указаниями программного обеспечения анализатора «Элиза»).

ВНИМАНИЕ! Запрещается самостоятельно прокалывать пленку в картриджах или иными способами нарушать герметичность картриджей.

4 Вскрыть пакет с «Иммуносорбентом», вынуть из пакета необходимое для проведения анализа число стрипов, указанное анализатором «Элиза», и закрепить на рамке.

ВНИМАНИЕ! Число используемых стрипов в одном анализе должно быть кратно 3. Если число используемых стрипов не кратно 3, необходимо дополнить рамку недостающим числом «пустых» стрипов, чтобы общее число стрипов стало 3, 6, 9 или 12.

Оставшиеся стрипы упаковать в пакет с вложенным в него влагопоглотителем, плотно закрыть замок пакета и поместить его в холодильник.

Закрепить рамку со стрипами в рамку-держатель и поместить ее в указанный анализатором «Элиза» инкубатор для разнесения образцов.

5 Запустить программу проведения анализа, которые включают в себя следующие стадии:

- промывка «Иммуносорбента» промывочным раствором;
- внесение в лунки «Иммуносорбента» «Р1»;
- внесение в лунки «Иммуносорбента» контрольных и анализируемых образцов;
- инкубация «Иммуносорбента» в термошейкере;
- промывка «Иммуносорбента» промывочным раствором;
- внесение в лунки «Иммуносорбента» «Р2»;
- инкубация «Иммуносорбента» в термошейкере;
- промывка «Иммуносорбента» промывочным раствором;
- внесение в лунки «Иммуносорбента» «Р3»;
- инкубация «Иммуносорбента» в термошейкере;
- внесение в лунки «Иммуносорбента» «Р4»;
- регистрация результатов анализа.

6 После окончания анализа анализатор «Элиза» должен выдать протокол результатов исследования.

Для ручной постановки анализа

Вскрыть пакет с «Иммуносорбентом», вынуть из пакета необходимое для проведения анализа число стрипов и закрепить их на рамке. Оставшиеся стрипы упаковать в пакет с вложенным в него влагопоглотителем, плотно закрыть замок пакета и поместить его в холодильник.

Промывка	С помощью устройства для промывки планшетов или дозатора пипеточного промыть лунки «Иммуносорбента» один раз промывочным раствором. Остатки раствора удалить, постукивая перевернутым «Иммуносорбентом» (лунками вниз) по сложенной в несколько раз фильтровальной бумаге
<i>ВНИМАНИЕ! На каждой операции промывки лунки «Иммуносорбента» должны быть заполнены не менее чем 380 мкл промывочного раствора. Следить за тем, чтобы отработанный раствор был полностью удален из лунок «Иммуносорбента» перед последующим заполнением новой порцией раствора</i>	
Внесение	Аккуратно проткнуть пленку над картриджем «Р1» и внести 50 мкл раствора «Р1» во все лунки
Внесение	Аккуратно проткнуть фольгу над картриджем «К1» и внести по 50 мкл в две лунки «Иммуносорбента»; Аккуратно проткнуть фольгу над картриджем «К2» и внести по 50 мкл в две лунки «Иммуносорбента»; Внести в остальные лунки - по 50 мкл анализируемых образцов
Инкубация	«Иммуносорбент» инкубировать при температуре 42 °С в термостатирующем шейкере с частотой вращения платформы 700 об/мин в течение 15 мин
Промывка	С помощью устройства для промывки планшетов или дозатора пипеточного промыть лунки «Иммуносорбента» один раз промывочным раствором. Остатки раствора удалить, постукивая перевернутым «Иммуносорбентом» (лунками вниз) по сложенной в несколько раз фильтровальной бумаге
Внесение	Аккуратно проткнуть пленку над картриджем «Р2» и внести по 100 мкл раствора «Р2» во все лунки
Инкубация	«Иммуносорбент» инкубировать при температуре 42 °С в термостатирующем шейкере с частотой вращения платформы 700 об/мин в течение 10 мин
Промывка	С помощью устройства для промывки планшетов или дозатора пипеточного промыть лунки «Иммуносорбента» четыре раза промывочным раствором. Остатки раствора удалить, постукивая

	перевернутым «Иммуносорбентом» (лунками вниз) по сложенной в несколько раз фильтровальной бумаге
Внесение	Аккуратно проткнуть пленку над картриджем «Р3» и внести по 100 мкл раствора «Р3» во все лунки
Инкубация	«Иммуносорбент» инкубировать при температуре 42 °С в термостатирующем шейкере с частотой вращения платформы 700 об/мин в течение 10 мин
Внесение	Аккуратно проткнуть пленку над картриджем «Р4» и добавить по 50 мкл раствора «Р4» во все лунки
Регистрация результатов анализа	Выполнить в соответствии с «Процедурой измерения и оценки результата» данного раздела

В случае неполного использования набора реагентов использованные картриджи разрешается хранить для дальнейшего использования при температуре от 2 до 8 °С не более двух недель. Для этого необходимо плотно заклеить картридж клеящей пленкой для картриджей в месте разгерметизации фольги картриджа.

Процедура измерения и оценка результата

Измерение ОП раствора в лунках на анализаторе «Элиза» или спектрофотометре проводить в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – в диапазоне от 620 до 700 нм.

1 Учет результатов анализа

Для интерпретации результатов рассчитывают значения:

- средней ОП отрицательных контрольных образцов по формуле

$$ОП(K2)_{ср.} = \frac{ОП(K2)_1 + ОП(K2)_2}{2} \quad (1)$$

- критической ОП по формуле

$$ОП_{крит.} = ОП(K2)_{ср.} + X, \quad (2)$$

где X – коэффициент, индивидуальный для каждой серии набора реагентов, указанный в приложении к инструкции;

- коэффициента позитивности по формуле

$$КП_{образца} = \frac{ОП_{образца}}{ОП_{крит.}} \quad (3)$$

- средней ОП положительных контрольных образцов по формуле

$$ОП(K1)_{ср.} = \frac{ОП(K1)_1 + ОП(K1)_2}{2} \quad (4)$$

2 Условия правильности работы набора реагентов

Результаты учитывать только в том случае, если:

- среднее значение ОП в лунках с «K1» ($ОП(K1)_{ср.}$) – более 1,000 о.е.;
- среднее значение ОП в лунках с «K2» ($ОП(K2)_{ср.}$) – менее 0,200 о.е.

3 Интерпретация результатов анализа

Образец расценивать как **отрицательный**, т.е. не содержащий антитела к ВГС, если $ОП_{образца}$ менее $ОП_{крит.}$ ($ОП_{образца} < ОП_{крит.}$) или если $КП_{образца}$ менее 1 ($КП_{образца} < 1$).

Образец расценивать как **положительный**, т.е. содержащий антитела к ВГС, если $ОП_{образца}$ равна или более $ОП_{крит.}$ ($ОП_{образца} \geq ОП_{крит.}$) или если $КП_{образца}$ равен или более 1 ($КП_{образца} \geq 1$).

При получении положительного результата дальнейшие действия выполнять в соответствии с СП 3.1.3112-13 «Профилактика вирусного гепатита С».

Для подтверждения положительных результатов ИФА необходимо использовать подтверждающие ИФА-тесты (Приказ Министерства Здравоохранения РФ от 21 октября 2002 года № 322 «О применении в практике здравоохранения иммуноферментных тест-систем для выявления поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg) и антител к вирусу гепатита С (анти-ВГС) в сыворотке крови человека»). Рекомендуется использовать подтверждающий набор реагентов производства ООО «Медико-биологический Союз».

Данный набор реагентов нельзя использовать для постановки диагноза ВГС.

4 Ограничения теста

В течение серонегативного периода (период от момента заражения до выработки антител, который колеблется от 2 до 26 недель, чаще составляя от 6 до 8 недель) результат ИФА может давать ложноотрицательный результат в сыворотке, плазме крови человека и препаратах крови, поэтому при подозрении на заражение ВГС рекомендуется в дальнейшем провести тест повторно.

Проведенный анализ может быть сомнительным у пациентов, страдающих различными иммунодефицитами, прошедших процедуру переливания крови, или получавших препараты крови в течение последних двух-трех месяцев.

УТИЛИЗАЦИЯ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

В процессе использования и утилизации наборов реагентов с истекшим сроком годности токсичные отходы не образуются.

Отходы, образующиеся в процессе использования набора реагентов относить к классу Б.

Наборы реагентов с истекшим сроком годности утилизировать как отходы класса Б.

Обращение (сбор, временное хранение, обеззараживание и/или обезвреживание и транспортирование) отходов, образующихся в процессе использования набора реагентов и утилизации наборов реагентов с истекшим сроком годности, проводить согласно СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

Для обеззараживания и/или обезвреживания отходов в соответствии с МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения» использовать зарегистрированные в РФ дезсредства и оборудование в соответствии с инструкциями по их применению.

Отходы утилизировать через организации, имеющие лицензию на этот вид деятельности.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

Срок годности набора реагентов «ВГС-АТ» - 12 месяцев.

Набор реагентов хранить в соответствии с СП 3.3.2.3332-16 «Условия транспортирования и хранения иммунобиологических лекарственных препаратов» при температуре от 2 до 8 °С в течение срока годности. Воздействие температуры не выше 27 °С в течение 10 суток.

Транспортирование наборов реагентов производить в соответствии с СП 3.3.2.3332-16 при температуре от 2 до 8 °С. Допускается транспортирование при температуре не выше 27 °С в течение 10 суток.

Замораживание наборов реагентов не допускается.

Разрешается хранить частично использованные картриджи с растворами реагентов и контролей плотно заклеенные клеящей пленкой для картриджей при температуре от 2 до 8 °С не более двух недель.

Разрешается хранить промывочный раствор в чистой плотно закрытой емкости в течение 7 суток при температуре от 17 до 27 °С, неиспользованный вскрытый «Концентрат промывочного раствора» в плотно закрытом флаконе в течение срока годности набора реагентов при температуре от 2 до 8 °С.

ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Производитель гарантирует соответствие выпускаемых наборов реагентов требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество набора реагентов гарантируются в течение всего срока годности.

Производитель отвечает за недостатки набора реагентов, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил применения, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

Производитель обязуется за свой счет заменить набор реагентов, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления набора реагентов производителем.

По вопросам, касающимся качества набора реагентов, обращаться на предприятие-изготовитель ООО «Диапроцесс» по адресу:

630090, г. Новосибирск, ул. Инженерная, 16;

тел. 8-(383)-214-46-60

e-mail: info@diaprocess.ru

Символы, применяемые для маркировки набора реагентов

Символ	Наименование символа	Символ	Наименование символа
ГОСТ Р ИСО 15223-1-2014			
	Использовать до		Не использовать повторно
	Дата изготовления		Обратитесь к инструкции по применению
	Код партии		Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению
	Номер по каталогу		Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Не допускать воздействия солнечного света		Не использовать при повреждённой упаковке
	Беречь от влаги	 	Содержимого достаточно для 96 и 192 тестов, соответственно
	Температурный диапазон		
	Биологический риск		
ГОСТ 31340-2013			
	H302: Вредно при проглатывании H315: При попадании на кожу вызывает раздражение H319: При попадании в глаза вызывает выраженное раздражение		

РАЗРАБОТАНО

Начальник производственного отдела

ООО «Диапроцесс»

СОГЛАСОВАНО

Генеральный директор

ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

Дата создания: 23.10.2017

А.В. Тронин

201 7 г.

И.К. Варнавичус

201 7 г.

Прошито пронумеровано скреплено
печатью на (11) листах
Генеральный директор
ООО «Диапроцесс» М.В.Лосев



ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 11 ЛИСТОВ

«23» 12 2017 год

Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичус И.К.

