

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

ООО «НИАМЕДИК ПЛЮС»

В.Г. Нестеренко

«3» *февраль* 2011г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

«Наборы реагентов in vitro для выявления антител к вирусу гепатита С в индивидуальных сыворотках и плазме крови человека при диагностике вирусного гепатита С методом иммуноферментного анализа «Murex anti-HCV».

НАЗВАНИЕ И НАЗНАЧЕНИЕ

Наборы реагентов in vitro для выявления антител к вирусу гепатита С в индивидуальных сыворотках и плазме крови человека при диагностике вирусного гепатита С методом иммуноферментного анализа «Murex anti-HCV» – представляют собой наборы реагентов для одновременного определения ядерного антигена и антител к вирусу гепатита С (HCV) в сыворотке и плазме крови человека методом иммуноферментного анализа. Позволяют осуществлять раннюю диагностику вирусного гепатита С в рамках скрининга образцов крови и в клинических лабораториях.

РЕЗЮМЕ И ОПИСАНИЕ ТЕСТА

Наборы рассчитаны на проведение 96 или 480 определений, включая контрольные образцы. Комплектация набора позволяет провести 12 или 60 независимых исследований. В комплект входят все необходимые реактивы, за исключением стоп-реагента.

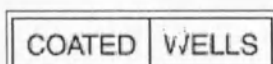
Сыворотка крови человека, содержащая антитела к вирусу гепатита С (К+) и нормальная сыворотка крови человека (К-) протестированы на отсутствие HBs Ag, антител к вирусам иммунодефицита человека 1 и 2 типов и подвергнуты инаktivации.

При проведении теста разведенные пробы инкубируют в микролунках, поверхность которых покрыта высокоочищенными антигенами, соответствующими зонам core, NS3, NS4, NS5 вируса гепатита С, что обеспечивает высокую чувствительность диагностического теста. Во время первой стадии инкубации антитела к HCV, содержащиеся в образце, связываются с иммобилизованными антигенами. После отмывания, цель которого заключается в удалении несвязавшегося материала, захваченные

анти-НСV антитела инкубируются с конъюгатом. Во время второй стадии инкубации конъюгат связывается с антителами к НCV, иммобилизованными на первой стадии, при этом образуется комплекс: антиген - антитело человека - конъюгат. После удаления избытка конъюгата связанный фермент выявляется добавлением раствора, содержащего ТМБ и перекись водорода. В тех лунках, где присутствуют предположительно анти-НСV-положительные образцы, развивается *синее окрашивание*. Ферментативную реакцию останавливают серной кислотой, что приводит к появлению *оранжевого окрашивания*, интенсивность которого измеряется фотометрическим методом. Количество связанного конъюгата и, соответственно, интенсивность окрашивания в лунках находятся в прямой зависимости от концентрации антител в образце.

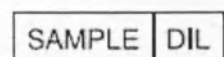
РЕАГЕНТЫ

ОПИСАНИЕ, ПОДГОТОВКА К ИСПОЛЬЗОВАНИЮ И УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ



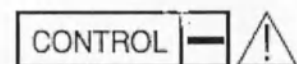
1. Планшеты

1 планшет или 5 планшетов, каждый планшет содержит 96 лунок, с сорбированными очищенными антигенами НCV. Дайте ячейкам достичь комнатной температуры (18-30°C) перед извлечением их из упаковки. Соблюдайте осторожность при вскрытии пакета из фольги вблизи скрепляющей полоски. Если вы не собираетесь использовать всю плашку, поместите неиспользованные лунки в пакет из фольги с десикантом, тщательно закройте его с помощью скрепляющей полоски и поместите в холодильник (2-8°C) на срок до 6 месяцев.



2. Буфер для разведения образцов

1 флакон 20 мл или 1 флакон 100мл, содержащих буфер с бычьим белком. Консерванты: Bronidox ®, 0,05% и азид натрия 0,1%.



3. Отрицательный контроль (К-)

1 флакон, содержащий 0,8 мл сыворотки крови человека с бычьими белками в буфере. Консервант: Bronidox ®, 0,05%.

CONTROL	+	⚠
---------	---	---

4. Анти-НСV положительный контроль (K+)

1 флакон, содержащий 0,6 мл инаktivированной сыворотки крови человека, состоящий из антител к НCV с бычьими белками в буфере.

Консервант: Bronidox ®, 0,05%.

CONJUGATE	DIL
-----------	-----

5. Буфер для разведения конъюгата

1 флакон или 3 флакона, содержащих 20 мл буфера с бычьим белком и неорганической солью. Консервант: Bronidox ®, 0,05%.

CONJUGATE

6. Конъюгат

1 флакон или 3 флакона, каждый из которых содержит достаточно сублимированных хреном меченных пероксидазой мышинных моноклональных антител для человеческого IgG в буфере с бычьим белком для выполнения 192 тестов. Оставьте флакон на 15 минут, иногда взбалтывая содержимое, для обеспечения полного растворения. Буфер для разведения конъюгата должен достичь комнатной температуры. После разведения, хранить от 2 до 8 ° С не более семи дней или замороженным (-15 ° С или ниже), в аликвот на срок до шести месяцев. Восстановленный конъюгат можно заморозить/разморозить до четырех раз.

SUBSTRATE	DIL
-----------	-----

7. Буфер для разведения субстрата

1 флакон, содержащий 35 мл бесцветного раствора тринатриевой соли цитрата и перекиси водорода.

SUBSTRATE	CONC
-----------	------

8. Концентрат субстрата

1 флакон, содержащий 35 мл раствора 3,3',5,5'-тетраметилбензидина (ТМБ) и стабилизаторы, оранжевого цвета.

Приготовление раствора субстрата

В соответствии с указанным в таблице 1, приготовьте раствор субстрата в чистом пластиковом сосуде, добавив бесцветный разбавитель субстрата к равному количеству оранжевого концентрата субстрата.

Очень важно соблюдать этот порядок смешивания и следить, чтобы все используемые пипетки были чистыми.

Таблица 1

Необходимый объем концентрата субстрата и разбавителя субстрата

Кол-во ячеек												Кол-во планшетов			
8	16	24	32	40	48	56	64	72	80	96		1	2	3	4
Концентрат субстрата (мл)															
1,0	1,5	2,0	2,5	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	4,5	6,0		6	12	18	22
Разбавитель субстрата (мл)															
1,0	1,5	2,0	2,5	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	4,5	6,0		6	12	18	22

Кроме того, раствор субстрата можно приготовить, перелив все содержимое флакона с буфером для разведения субстрата во флакон с концентратом субстрата. При этом цвет раствора меняется с оранжевого на желтый. При использовании автоматических систем может потребоваться дополнительное количество реагента. Не допускайте попадания прямых солнечных лучей. Раствор субстрата до использования должен быть желтым; если он имеет зеленый цвет, его необходимо выбросить и приготовить свежий раствор.

Приготовленный раствор субстрата из этого набора и растворы из других наборов Murex, в которых используется концентрат субстрата оранжевого цвета, могут быть взаимозаменяемы. Проверьте, чтобы раствор субстрата был приготовлен из разбавителя субстрата и концентрата субстрата из одного набора.

Приготовленный раствор субстрата сохраняет стабильность в течение 2 суток при хранении в холодильнике (2-8°C) или при 15-25°C; при выпадении кристаллов раствор необходимо выбросить.

WASH	FLUID
------	-------

9. Отмывающий буфер

1 флакон или 2 флакона, содержащий 125 мл 20-кратного концентрата Глицин/борат отмывающего буфера (Tween/физ. раствор). Консервант: Bronidox®, 0,2%.

Разведите отмывающий буфер дистиллированной или деионизированной водой в соотношении 1:20 для получения необходимого количества раствора, или разведите все содержимое одного флакона промывочной жидкости до 2500 мл. Разведенный отмывающий буфер содержит консервант Bronidox® в концентрации 0,01%.

Отмывающий буфер из этого набора и отмывающий буфер с Tween/физ. раствором из других наборов Murex могут быть взаимозаменяемы.

Рабочее количество отмывающего буфера храните при температуре 18-30°C в закрытом сосуде, при этих условиях она сохраняет свои свойства в течение 1 месяца.

ПРИМЕЧАНИЕ: Концентраты раствора субстрата и отмывающего буфера нельзя использовать по истечении срока годности, напечатанного на этикетке.

СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

96 определений	480 определений
Подготовка образцов. Для анализа используют образцы сывороток или плазмы. Следует убедиться в том, что образцы сыворотки для анализа отбираются из полностью свернувшейся естественным образом крови. Перед постановкой образцы следует осветлить центрифугированием. Хранить образцы при 2-8 °С в течение 7 дней. Образцы не проанализированные в течение этого времени следует отделить от сгустка или осадка клеток и хранить при температуре -15 °С или ниже. <u>Не допускать многократного замораживания и оттаивания!</u> Можно анализировать образцы плазмы, взятые в присутствии ЭДТА, цитрата натрия или гепарина. Подготовка растворов и реагентов. Раствор 1. Рабочий раствор конъюгата. Во флакон 6 с конъюгатом влить буферный раствор для разведения конъюгата (флакон 5). Флакон закрыть и выдержать не менее 15 мин, периодически встряхивая. Раствор можно хранить при 2-8 °С не более 7 дней, в замороженном состоянии при температуре -15 °С или ниже не более 6 месяцев. Раствор конъюгата можно замораживать и оттаивать не более 4 раз. <i>Раствор конъюгата имеет коричневый цвет.</i> Раствор 2. Рабочий раствор субстрата. Смешать в равных объемах концентрат субстрата из флакона 8 и буфер для разведения субстрата из флакона 7, добавляя последний к концентрату субстрата. Количество концентрата субстрата достаточно для постановки минимум 96 анализов. <u>Следить за чистотой посуды и пипеток, а также соблюдать требуемую последовательность в ходе смешивания. Предохранять растворы от прямого воздействия яркого света!</u> <i>Рабочий раствор субстрата имеет розовый цвет.</i> Хранить раствор можно в течение 2 дней при температуре 2-8 °С. Если рабочий раствор субстрата перед использованием приобретает фиолетовый цвет, или если при хранении раствора образовались кристаллы, его использовать нельзя. Раствор 3. Отмывающий буфер. Содержимое флакона 9 вылить в емкость с дистиллированной водой. Тщательно перемешать и довести объем до 2500 мл. Раствор хранить в закрытой посуде при температуре 18-30 °С в течение 1 месяца. В отмывающем буфере при хранении может развиваться желтая окраска. Это не влияет на результат проведения теста при условии, если тщательно удалять раствор из лунок. Раствор 4. Стоп-реагент, 0,5 – 2 М серная кислота. Добавить от 3 до 11 мл концентрированной серной кислоты к 80 мл дистиллированной воды, перемешать и довести объем до 100 мл.	Подготовка образцов. Для анализа используют образцы сывороток или плазмы. Следует убедиться в том, что образцы сыворотки для анализа отбираются из полностью свернувшейся естественным образом крови. Перед постановкой образцы следует осветлить центрифугированием. Хранить образцы при 2-8 °С в течение 7 дней. Образцы не проанализированные в течение этого времени следует отделить от сгустка или осадка клеток и хранить при температуре -15 °С или ниже. <u>Не допускать многократного замораживания и оттаивания!</u> Можно анализировать образцы плазмы, взятые в присутствии ЭДТА, цитрата натрия или гепарина. Подготовка растворов и реагентов. Раствор 1. Рабочий раствор конъюгата. Во флакон 6 с конъюгатом влить буферный раствор для разведения конъюгата (флакон 5). Флакон закрыть и выдержать не менее 15 мин, периодически встряхивая. Раствор можно хранить при 2-8 °С не более 7 дней, в замороженном состоянии при температуре -15 °С или ниже не более 6 месяцев. Раствор конъюгата можно замораживать и оттаивать не более 4 раз. <i>Раствор конъюгата имеет коричневый цвет.</i> Раствор 2. Рабочий раствор субстрата. Смешать в равных объемах концентрат субстрата из флакона 8 и буфер для разведения субстрата из флакона 7, добавляя последний к концентрату субстрата. Количество концентрата субстрата достаточно для постановки минимум 96 анализов. <u>Следить за чистотой посуды и пипеток, а также соблюдать требуемую последовательность в ходе смешивания. Предохранять растворы от прямого воздействия яркого света!</u> <i>Рабочий раствор субстрата имеет розовый цвет.</i> Хранить раствор можно в течение 2 дней при температуре 15-25 °С или 2-8 °С, однако раствор необходимо выбросить если образовались кристаллы. Приготовленный рабочий раствор субстрата взаимозаменяем с аналогичным буфером других серий Мюрекс анти-HCV. Раствор 3. Отмывающий буфер. Содержимое флакона 9 вылить в емкость с дистиллированной водой. Тщательно перемешать и довести объем до 2500 мл. Раствор хранить в закрытой посуде при температуре 18-30 °С в течение 1 месяца. В отмывающем буфере при хранении может развиваться желтая окраска. Это не влияет на результат проведения теста при условии, если тщательно удалять (отмывать) раствор из лунок. Приготовленный отмывающий буфер взаимозаменяем с аналогичным буфером других серий Мюрекс анти-HCV. Раствор 4. Стоп-реагент, 2 М серная кислота. Добавить от 3 до 11 мл концентрированной серной

	кислоты чда к 0,5 - 80 мл дистиллированной воды, перемешать и довести объем до 100 мл.
--	--

ПРОВЕДЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА.

1. Внести в каждую лунку по 180 мкл буфера для разведения образцов.
2. Добавить в лунки по 20 мкл исследуемых образцов. Первый ряд лунок желательно использовать для контрольных образцов. Внести по 20 мкл отрицательного контроля в лунки A1-C1 и 20 мкл положительного контроля в лунку D1. Образцы тщательно перемешать с буферным раствором.
Буфер для разведения образцов имеет зеленовато-коричневый цвет. При внесении образцов цвет раствора в лунках меняется на сине-зеленый.
3. Накрыть планшет крышкой и инкубировать во влажной камере 1 час при 37-38 °С. Влажной камерой может служить чистый полиэтиленовый пакет, в который вложен смоченный водой кусок фильтровальной бумаги или ткани.
4. Отмывание планшета.
 - **Автоматическим вошером.** Провести 5 циклов, используя раствор отмывающего буфера. Следить за тем, чтобы объем наполнения составлял 500 мкл на лунку, а продолжительность одного цикла отмывания достигала примерно 30 сек. В конечном цикле по возможности использовать "двойной аспирационный" этап для максимального осушения лунок.
 - **Отмывание вручную.** Удалить жидкость из первого ряда полностью. Заполнить лунки отмывающим буфером. Повторить эту процедуру для каждого ряда лунок, следя за тем, чтобы отмывающий буфер находился в лунках рядов в течение 30 сек. Повторить отмывание выбранного количества стрипов 5 раз. После заключительной отмывки перевернуть стрипы и "выбить" их досуха на фильтровальную бумагу.
5. Добавить в каждую лунку по 100 мкл рабочего раствора конъюгата.
6. Закрыть планшет крышкой и инкубировать во влажной камере 30 мин при 37-38 °С (см. п.3).
7. Отмыть планшет (см. п.4).
8. Внести в каждую лунку по 100 мкл раствора субстрата.
9. Закрыть планшет крышкой и инкубировать 30 мин при 37-38 °С. *В лунках с реактивными образцами появляется синее окрашивание.*
10. Добавить в каждую лунку по 50 мкл стоп-реагента. *При этом цвет лунок с положительными образцами переходит в оранжевый, а цвет лунок с отрицательными образцами остается розовым.*

УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. В течение 15 мин после остановки реакции измерить с помощью ридера величину оптической плотности (ОП) в каждой лунке при длине волны 450 нм. При наличии ридера, имеющего двухволновый режим

измерения, использовать 620 нм / 690 нм в качестве вспомогательной волны. Прибор бланкировать по воздуху. Подсчитать среднюю величину ОП для трех параллельных лунок с отрицательной контрольной сывороткой. Подсчитать критическую величину: добавить 0,600 к среднему значению ОП отрицательного контроля.

$ОП_{крит.} = ср\ ОП_{(К-)} + 0.600$

2. Среднее значение $ОП_{(К-)}$ должно быть меньше 0.250 $ОП_{(К+)}$ должна быть больше значения $ОП_{(К-)}$ на 0.800. Если $ОП_{(К-)}$ и $ОП_{(К+)}$ не удовлетворяют этим показателям, результаты учитывать нельзя и анализ необходимо повторить.

3. Если значение ОП образца $< ОП_{(К-)} + 0.300$ образец считается отрицательным.

Образцы, ОП которых превышает значение $ОП_{крит.}$, рассматриваются как первоначально положительные. Такие образцы должны быть перетестированы в двух повторах с использованием исходного материала. Образцы, которые остаются положительными, по крайней мере, в одном из двух повторов, рассматривают как повторно положительные и считают, что они содержат антитела к антигенам HCV.

Образцы со значением ОП $> ОП_{(К-)} + 0.300$, но $< ОП_{крит.}$ или $< ОП_{(К-)} + 0.600$ (серая зона), рассматриваются как погранично положительные. Погранично положительные образцы должны быть перетестированы повторно. Если погранично положительный результат повторяется, или если получены противоречивые результаты, необходимо тестировать образцы с использованием тест-системы другого производителя или в подтверждающем тесте:

- если при использовании тест-системы другого производителя или в подтверждающем тесте получен положительный результат, то считается, что сыворотка содержит антитела к HCV антигенам;
- если значение ОП образца остается в серой зоне, или, если получены противоречивые результаты, то донор или больной, чья кровь исследовалась, в дальнейшем нуждается в наблюдении врача.

Рекомендации:

- Перед началом анализа все реактивы и пробы выдержать некоторое время при комнатной температуре 18-25 °С.
- Если планшет не используется полностью в одном опыте, оставшиеся стрипы следует хранить в прилагаемом полиэтиленовом пакете с защелкой при температуре 2-8 °С.
- Очень важно обеспечить тщательное смешивание в лунках контрольных и исследуемых проб с буфером. Адекватное смешивание достигается с помощью автоматической пипетки путем насасывания и выпуска жидкости не менее 4 раз или с помощью шейкера.
- Нельзя допускать подсыхания лунок в процессе работы.
- Решающим фактором при проведении ИФА является правильное

отмывание. При использовании автоматического вошера следить за тем, чтобы объем наполнения составлял 500 мкл на лунку, а продолжительность одного цикла отмывания достигала 30 секунд. После заключительного отмывания проследить за максимальным осушением лунок.

СРОК ГОДНОСТИ, УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Срок годности тест-системы 12 месяцев. Набор с истекшим сроком годности хранению не подлежит.

Наборы реагентов хранят при температуре $2 - 8^{\circ}\text{C}$ и относительной влажности не более 60%. Транспортирование осуществляют всеми видами крытого транспорта при температуре не выше 10°C в условиях, исключающих замораживание.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

IVD

Только для диагностики in vitro.

Только для профессионального использования.

Следуйте рекомендациям производителя и информации на этикетках по использованию потенциально опасных компонентов.

ПРАВИЛА БЕЗОПАСНОСТИ



ВНИМАНИЕ: В этом продукте содержатся компоненты, полученные от человека.

Образцы сыворотки крови человека, использовавшиеся производителем, были протестированы на наличие аналитов, перечисленных в **таблице 2**.

Таблица 2

Компонент	Реактивен на	Не реактивен на
Отрицательный контроль	H/P	HBsAg, антитела к ВИЧ (типов 1 и 2) и HCV
Положительный на антитела контроль	HCV	HBsAg, антитела к ВИЧ (типов 1 и 2)

Все реактивные образцы сыворотки перед приготовлением из них реагентов набора были инактивированы. Однако все материалы человеческого

происхождения должны считаться потенциально инфицированными. С ними рекомендуется обращаться с соблюдением правил работы в лабораториях. Буфер для разведения конъюгата содержит 0,1%-ный ProClin® 300 и, согласно директивам Европейского экономического сообщества (ЕЭС), относится к раздражающим веществам (Xi). Ниже приводятся пояснения к значкам «риск» (R) и «меры предосторожности» (S).

Xi R43 При попадании на кожу



может приводить к
сенсibilизации.

S24 Не допускайте попадания
на кожу.

S35 Материал и контейнер, в
котором он хранился,
должны утилизироваться с
соблюдением правил
безопасности.

S37 Используйте защитные
перчатки.

S46 При попадании внутрь
следует немедленно
обратиться к врачу и
показать ему контейнер или
этикетку.

Концентрат субстрата содержит лимонную кислоту и, согласно директивам Европейского экономического сообщества (ЕЭС), относится к едким веществам (C). Ниже приводятся пояснения к значкам «риск» (R) и «меры предосторожности» (S).

C R35 Вызывает тяжелые ожоги.



S26 При попадании в глаза
немедленно промойте их
большим количеством воды
и обратитесь к врачу.

S35 Материал и контейнер, в
котором он хранился,
должны утилизироваться с
соблюдением правил
безопасности.

S36/37/39 Используйте
защитную одежду, перчатки
и защитные средства для
глаз и лица.

S45 При несчастных случаях или появлении плохого самочувствия следует немедленно обратиться к врачу (по возможности показав ему этикетку).

Информация для европейских распространителей: Данные по безопасности продуктов, не относящихся к классу опасных в соответствии с Европейскими директивами 1999/45/ЕС, предоставляются по требованию профессиональных пользователей.

1. Потенциально контаминированные материалы необходимо утилизировать с соблюдением местных правил безопасности.
2. Капли пролитых потенциально инфицированных материалов нужно немедленно промокнуть впитывающей бумажной салфеткой и до продолжения работы протереть зону загрязнения 1,0%-ным раствором гипохлорита натрия. Следы кислотосодержащих жидкостей нельзя обрабатывать гипохлоритом натрия, пока зона загрязнения не вытерта насухо. Материалы, использованные для вытирания пролитой жидкости, в том числе перчатки, следует утилизировать с соблюдением правил для потенциально биологически опасных материалов. Материалы со следами гипохлорита натрия нельзя автоклавировать.
3. Нейтрализованные кислоты и другие жидкие отходы обеззараживают путем добавления гипохлорита натрия в конечной концентрации, равной как минимум 1,0%. Для эффективного обеззараживания может потребоваться обработка 1,0%-ным раствором гипохлорита натрия в течение 30 минут.
4. Не пипетируйте ртом. При работе с образцами и проведении анализа используйте одноразовые перчатки и защитные средства для глаз. После завершения работы тщательно мойте руки.
5. Серная кислота, необходимая для приготовления стоп-раствора, и соляная кислота, используемая для промывания стеклянной посуды, являются едкими веществами. При обращении с ними соблюдайте соответствующие меры безопасности. При попадании этих кислот на кожу или в глаза, тщательно промойте их водой.
6. При попадании реагентов на кожу или в глаза, немедленно промойте их большим количеством воды.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ВО ВРЕМЯ АНАЛИЗА

1. Не используйте реагенты с истекшим сроком годности. Не допускайте бактериального загрязнения реагентов, что может приводить к уменьшению срока годности продукта и получению ошибочных результатов анализа.

2. Не отступайте от порядка **Процедуры анализа** и не используйте реагенты других производителей или из других наборов, если не указано, что они являются взаимозаменяемыми. Не уменьшайте рекомендуемое время инкубации.
3. Все реагенты и образцы перед использованием должны иметь комнатную температуру. Сразу после применения верните их в рекомендуемые для хранения условия.
4. Стекланную посуду, в которую наливали реагенты, необходимо тщательно промыть соляной кислотой (2М), а затем дистиллированной или деионизированной водой высокого качества.
5. Не используйте для хранения реагентов и образцов саморазмораживающуюся морозильную камеру.
6. Не допускайте воздействия на реагенты яркого света или паров соляной кислоты в процессе хранения или инкубации.
7. Во время процедуры анализа не допускайте высыхания ячеек.
8. Не допускайте перекрестной контаминации реагентов. Пипетка для переноса раствора субстрата в анализах Murex должна быть надписана. Кроме того, должны быть надписаны пипетки для переноса конъюгата.
9. Не трогайте и не допускайте попадания брызг на край ячейки с конъюгатом. Не выдувайте содержимое из пипетки, рекомендуется использовать обратное пипетирование.
10. Перед началом анализа проверьте, чтобы дно плашки было чистым и сухим, а на поверхности жидкости не было пузырьков.
11. Не допускайте попадания в микроячейки порошка с одноразовых перчаток.
12. При работе с автоматическими анализаторами для планшетов, не обязательно использовать крышки для планшетов и высушивать ячейки.
13. Не позволяйте жидкостям из автоматического анализатора попадать в образцы и реагенты.
14. Проверьте, чтобы при запуске анализа были соблюдены температурные условия, указанные в протоколе анализа.
15. Не используйте CO₂-инкубатор.
16. Не храните стоп-раствор в неглубокой посуде или переливайте его обратно во флакон сразу после использования.

СБОР, ТРАНСПОРТИРОВКА И ХРАНЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

СБОР ОБРАЗЦОВ

Для анализа можно использовать образцы сыворотки крови или плазмы крови с ЭДТА или цитратом. Проверьте, чтобы в образцах сыворотки свертывание было полным. При наличии любых видимых взвешенных частиц, удалите их путем центрифугирования.

ТРАНСПОРТИРОВКА И ХРАНЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Образцы следует хранить при температуре 2-8°C. Если анализ не будет проведен в течение 72 часов, образцы нужно отделить от сгустков и форменных элементов и хранить замороженными (при температуре -15°C или более низкой). Неоднократного замораживания и размораживания образцов необходимо избегать. Это особенно важно в отношении образцов, содержащих только антиген, их 5-кратное замораживание и размораживание может привести к снижению интенсивности сигнала до 25%. После размораживания перед анализом образцы нужно тщательно перемешать.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВХОДЯЩИЕ В НАБОР

1. **Стоп-раствор (серная кислота, от 0,5М до 2М)**, добавьте от 3 (0,5М) до 11 (2М) мл концентрированной серной кислоты аналитической чистоты (18,0М) к 80 мл дистиллированной или деионизированной воды, а затем, добавив еще воды, доведите общее количество до 100 мл. Кроме того, можно использовать следующий реагент: серная кислота, 1N.
2. **Свежая дистиллированная или деионизированная вода высокого качества** необходима для разведения отмывающего буфера, для приготовления стоп-раствора и использования в автоматических промывателях.
3. **Одно- и многоканальные микропипетки** необходимых объемов.
4. **Инкубатор**, поддерживающий температурный режим в соответствии с протоколом анализа.
5. **Нагревательный блок**. Для использования в инкубаторах. Лучше всего держать нагревательный блок в инкубаторе, в котором он применяется. Если же это невозможно, помещайте блок в инкубатор как минимум за 4 часа до начала анализа.
6. **Аппаратура**
 - а) автоматическая система для промывания планшетов.
 - б) регистрирующая система для оценки результата анализа в планшетах. или
 - с) полностью автоматический анализатор для планшетов.Перед использованием всей аппаратуры должна быть проверена правильность ее работы. Полную информацию о рекомендуемых системах, протоколах программного обеспечения и процедурах проверки можно получить у местного представителя.
7. **Одноразовые ванночки для реагентов.**
8. **Гипохлорит натрия** для обеззараживания.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

Перед началом анализа внимательно прочитайте раздел **Меры предосторожности во время анализа.**

Визуально контролируйте внесение различных компонентов в ячейки по соответствующим цветам жидкости.

Разбавитель образца зеленого цвета. При смешивании его с образцом или контролем цвет разбавителя становится синим. Степень изменения цвета в различных образцах может отличаться, но изменения должно наблюдаться.

Восстановленный конъюгат имеет красный цвет.

Раствор субстрата первично имеет желтый цвет, в ячейках с реактивными образцами становится сине-зеленым. После добавления стоп-раствора в ячейках с реактивными образцами цвет из сине-зеленого становится оранжевым, в то время как в ячейках с нереактивными образцами цвет становится розовым.

Добавление образца или реагента можно проконтролировать с помощью регистрирующей системы для оценки результата анализа в микроплашках следующим образом: Смешивание разбавителя с образцом оценивается при 570 или 620 нм с длиной волны сравнения 690 нм, добавление конъюгата при 490 нм с длиной волны сравнения 690 нм, раствора субстрата при 450 нм (без сравнения).

ПОЛУАВТОМАТИЧЕСКИЕ АНАЛИЗАТОРЫ

Этап	Используйте ячейки в количестве, необходимом для анализа.	
1		
Этап	Приготовьте отмывающий буфер, восстановите конъюгат.	
2		
Этап	Внесите 50 мкл Буфер для разведения образцов в каждую ячейку.	50 мкл
3		
Этап	Добавьте по 50 мкл образца или контроля в ячейки.	50 мкл
4		
	При каждом запуске в ячейках A1 и B1 анализируйте отрицательный контроль, в ячейке C1 — положительный на антитела контроль, в ячейке D1 — положительный на антиген контроль. Вносите контроли в соответствующие ячейки после внесения образцов. Используйте белый фон для визуального контроля за внесением образцов.	
Этап	Закройте ячейки крышкой и инкубируйте в течение 60 минут при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$.	60 мин
5		
Этап	После завершения инкубации промойте планшет, как описано в разделе «Процедуры промывания». После завершения промывания переверните планшет и дайте остаткам отмывающего буфера стечь на впитывающую бумагу.	
6		
Этап	Сразу после промывания планшета в каждую ячейку добавьте 120 мкл конъюгата .	120 мкл
7		
Этап	Закройте ячейки крышкой и инкубируйте в течение 60 минут при температуре $15-28^\circ\text{C}$.	60 мин
8		
Этап	Приготовьте раствор субстрата.	
9		
Этап	После завершения инкубации промойте планшет, как описано в разделе «Процедуры промывания». После завершения промывания переверните планшет и дайте остаткам отмывающего буфера стечь на впитывающую	
10		

	бумагу.	
Этап 11	Сразу после промывания планшета в каждую ячейку добавьте 80 мкл раствора субстрата.	80 мкл
Этап 12	Закройте ячейки крышкой и инкубируйте в течение 30 минут при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$. Не допускайте попадания прямых солнечных лучей.	30 мин
Этап 13	Добавьте 50 мкл стоп-раствора.	50 мкл
Этап 14	В течение 15 минут анализируйте оптическую плотность при 450 нм, в качестве длины волны сравнения, если возможно, используйте 620-690 нм. Проведите холостую пробу по воздуху (без плашки).	450 нм

ПРОЦЕДУРЫ ПРОМЫВАНИЯ

Протоколы процедур промывания и верификации работы системы для промывания и анализатора можно получить у вашего торгового представителя.

Рекомендуется следовать следующим протоколам:

Протокол автоматического промывания

Проведите 5 циклов промывания с помощью промывочной жидкости рабочей концентрации. По возможности убедитесь, что:

- (i) Общий объем жидкости в каждой ячейке составляет 500 мкл, при использовании аппаратуры, предоставляемой Abbott. При использовании другой аппаратуры проверьте, чтобы ячейка была полностью наполнена.
- (ii) Уровень наполнения установлен так, чтобы ячейка полностью наполнялась, но не переполнялась.
- (iii) Для проведения одного полного цикла аспирации/промывания/замачивания требуется приблизительно 30 секунд.
- (iv) В ячейке не осталось жидкости (по возможности дважды повторяйте этап аспирации в последнем цикле).
- (v) После завершения промывания переверните плашку и дайте остаткам отмывающего буфера стечь на впитывающую бумагу.

ПРИМЕЧАНИЕ: Во время процедуры анализа не допускайте высыхания ячеек.

Во избежание засорения и появления ржавчины в конце каждого теста промывайте промывочное устройство дистиллированной водой.

ПОЛНОСТЬЮ АВТОМАТИЗИРОВАННЫЕ АНАЛИЗАТОРЫ ДЛЯ МИКРОПЛАШЕК

Полную информацию об установленных протоколах работы со многими автоматическими анализаторами можно получить у вашего торгового представителя. Для работы с остальными анализаторами, для которых не разработано установленных протоколов, рекомендуется следовать приведенным ниже рекомендациям.

- i. Не устанавливайте программу на меньшее время, чем указано в процедуре.
- ii. Продолжительность первой и второй инкубации программируют на 60-70 минут (65 ± 5 минут).
Продолжительность последней инкубации программируют на 30-35 минут ($32,5 \pm 2,5$).
- iii. Ячейки с разбавителем образца перед проведением этапа 4 можно оставлять при температуре 18-30°C на период до 60 минут.

РЕЗУЛЬТАТЫ

РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Расчет и интерпретация результатов анализа в каждой ячейке проводится отдельно.

Для расчета и интерпретации результатов анализа можно использовать рекомендуемое программное обеспечение.

Отрицательный контроль

Рассчитайте среднее для отрицательных контролей значение оптической плотности.

Если в одной из ячеек с отрицательным контролем значение оптической плотности превышает 0,25, сбросьте значение и рассчитайте пороговое значение на основе значения второго отрицательного контроля.

Если значения обоих отрицательных контролей превышают 0,25, запуск является недействительным.

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

1. Необходимо соблюдать рекомендации, приведенные в разделах **Процедура анализа и Интерпретация результатов.**
2. Методика предназначена для анализа отдельно взятых (не объединенных) образцов сыворотки крови или плазмы крови с ЭДТА или цитратом. Возможность использования анализа Murex anti-HCV для других целей не исследовалась.
3. Отрицательный результат анализа антигена/антител не исключает возможность инфекции.
4. При использовании любых иммуноферментных анализов возможно получение однократно реактивных результатов.
5. Самые частые причины получения ошибочных результатов анализа:
 - а) Внесение неправильного количества образца, конъюгата или субстрата в ячейки.
 - б) Попадание конъюгата в субстрат.
 - в) Попадание конъюгата из других анализах.
 - г) Полное или неполное засорение промывочных зондов.
 - д) Недостаточная аспирация, приводящая к тому, что в ячейке остается небольшое количество промывочной жидкости.

- е) Отсутствие проверки того, чтобы дно ячейки было чистым и сухим, а на поверхности жидкости в ячейке перед считыванием результата в плашке отсутствовали пузырьки воздуха.
 - ж) Неправильно выбрана длина волны для анализа или длина волны сравнения.
6. Использование образцов с выраженным гемолизом или значимой микробной контаминацией, сыворотки с неполным свертыванием крови, а также плазмы с фибрином может привести к получению неправильных результатов анализа.
7. Возможность анализа с помощью этой методики образцов трупной крови не оценивалась.

Гарантии изготовителя.

Предприятие-изготовитель DiaSorin South Africa (PTY) Ltd., 22 Kyalami Blvd Kyalami Business Park 1684 Kyalami, South Africa, гарантирует соответствие качества наборов реагентов требованиям настоящего нормативного документа при соблюдении требований к транспортированию, хранению и применению Наборов реагентов, установленных настоящим нормативным документом и Инструкцией по применению.

Уполномоченный представитель в РФ: ООО "НИАРМЕДИК ПЛЮС", 125047, г. Москва, ул.4-ая Тверская-Ямская, дом 2/11,строение 2. Телефон: (495) 741-49-89, Факс: (499) 193 43 50.

БИБЛИОГРАФИЯ

Choo, Q.L., Kuo, G., et al (1989). Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A non-B viral hepatitis genome. *Science* 244, 359.

2. Miller, R.H. and Purcell, R.H. (1990). Hepatitis C virus shares amino acid sequence similarity with pestiviruses and flaviviruses as well as two plant virus supergroups. *Proc Natl Acad Sci* 87, 2057.

3. Weiner, A.J., Brauer, M.J. et al (1991). Variable and hypervariable domains are found in the regions of HCV corresponding to the flavivirus envelope and NS1 proteins and the pestivirus envelope glycoproteins. *Virology* 180, 842.

4. Jove, J., Sanchez-Tapias, J.M. et al. (1990). Post-transfusional vs. sporadic non-A, non-B chronic hepatitis. A clinicopathological and evolutive study. *Liver*, 8, 42.

5. Hopf, U., Muller, B. et al (1990). Long term follow up of post transfusion and sporadic chronic hepatitis non-A, non-B and frequency of circulating antibodies to hepatitis C virus (HCV). *Hepatology*, 10, 69.

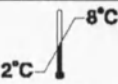
6. Conroy-Cantilena, C. (1997). Hepatitis C virus diagnostics: technology,

clinical applications and impacts. *Trends Biotech* 15, 71.

7. **Botte, C. Janot, C.** (1996). Epidemiology of HCV infection in the general population and in blood transfusion. *Nephrol Dial Transplant* 11 (Suppl 4), 19.

8. **Courouce, A.M.** (1998). Development of screening and confirmation tests for antibodies to Hepatitis C virus. Reesink, H.W. (ed) Hepatitis C virus – *Curr Stud Hematol Blood Transfus.* 62, 64, Basel, Karger.

9. **Centres for Disease Control.** (1985). Recommendations for preventing transmission of infection with human T-lymphotropic virus type III / lymphadenopathy-associated virus in the workplace. *MMWR*, 34, No. 45, 681.

Условные обозначения на упаковке изделия	
	Номер в каталоге
	Номер лота
	Дата окончания срока годности
	Предприятие-изготовитель
	Для in vitro диагностики
	Температурные условия хранения от 2 до 8 °C
	ВНИМАНИЕ: Обратитесь к сопроводительным документам
	Обратитесь к инструкции по применению