

СОГЛАСОВАНО

**Заместитель генерального директора
по научной и образовательной деятельности
ФГБУ «НМХЦ им. Н.И. Пирогова» Минздрава
России**



**ИНСТРУКЦИЯ
по применению**

**«Набор реагентов
для выявления антител к вирусу гепатита С
методом иммуноферментного анализа»
(«ИФА-АНТИ-НСV 2.0»)**



НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННОЕ ОБЪЕДИНЕНИЕ
ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ



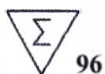
УТВЕРЖДАЮ

Заместитель генерального директора
ООО «НПО «Диагностические системы»

О.Н. Шлюндин

« 30 » 06 2021 г.

REF



96

REF



192

REF



480

**ИНСТРУКЦИЯ
по применению**

**«Набор реагентов
для выявления антител к вирусу гепатита С
методом иммуноферментного анализа»
(«ИФА-АНТИ-HCV 2.0»)**

СОДЕРЖАНИЕ

I.	НАЗНАЧЕНИЕ	3
II.	ПРИНЦИП ТЕСТА.....	3
III.	СОСТАВ НАБОРА РЕАГЕНТОВ.....	4
IV.	ЭФФЕКТИВНОСТЬ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ	5
V.	МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	7
VI.	УТИЛИЗАЦИЯ И УНИЧТОЖЕНИЕ.....	8
VII.	НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ, НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ С НАБОРОМ РЕАГЕНТОВ	8
VIII.	ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ.....	9
IX.	ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ.....	9
X.	ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА.....	10
XI.	УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ	12
XII.	ОГРАНИЧЕНИЯ ТЕСТА.....	12
XIII.	СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ.....	13
XIV.	ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ И РЕМОНТ	13
XV.	ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА.....	13
XVI.	ОБЪЯСНЕНИЕ ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СИМВОЛОВ	14
	Приложение.....	15

Набор реагентов выпускается в трех комплектах¹:

комплект 1 рассчитан на проведение 96 определений (один разборный планшет), включая контрольные, предназначен как для ручной постановки, так и для постановки на ИФА-анализаторах открытого типа с возможностью дробного использования (до 12 независимых постановок).

комплект 2 рассчитан на проведение 192 определений (два разборных планшета), включая контрольные, предназначен как для ручной постановки, так и для постановки на ИФА-анализаторах открытого типа с возможностью дробного использования (до 5 независимых постановок).

комплект 3 рассчитан на проведение 480 определений (пять разборных планшетов), включая контрольные, предназначен как для ручной постановки, так и для постановки на ИФА-анализаторах открытого типа с возможностью дробного использования (до 15 независимых постановок).

¹*Все комплекты набора реагентов эквивалентны по назначению, свойствам и функциональным характеристикам.*

I. НАЗНАЧЕНИЕ

«Набор реагентов для выявления антител к вирусу гепатита С методом иммуноферментного анализа» («ИФА-АНТИ-НСV 2.0») предназначен для качественного выявления общих антител к вирусу гепатита С в сыворотке или плазме крови человека методом иммуноферментного анализа.

Рекомендуется для клинической лабораторной диагностики гепатита С и скрининга потенциально инфекционных образцов с целью предотвращения их дальнейшего использования в качестве донорского материала.

Предназначен для профессионального использования специально обученным персоналом.

Гепатит С представляет собой инфекционное заболевание, поражающее печень, которое вызывает вирус гепатита С (ВГС). Часто заболевание протекает бессимптомно, но при его возникновении хроническая инфекция может привести к рубцеванию печени (фиброз) и в дальнейшем перейти в позднюю стадию поражения печени (цирроз), которая, как правило, наступает спустя многие годы. В некоторых случаях цирроз приводит к печеночной недостаточности или другим осложнениям, включая рак печени. Вирус гепатита С – это РНК-содержащий вирус, который относится к семейству *Flaviviridae*. Иммуноферментные тест-системы третьего поколения, предназначенные для обнаружения антител к ВГС, используются для скрининга крови доноров.

II. ПРИНЦИП ТЕСТА

Метод определения основан на непрямом твердофазном иммуноферментном анализе.

В лунки полистиролового планшета сорбируются рекомбинантные антигены, представляющие иммунодоминантные регионы структурных (core) и неструктурных белков ВГС (NS3, NS4, NS5).

На первой стадии анализа антитела, специфичные к core-антигену, белкам NS3, NS4, NS5 вируса гепатита С, которые присутствуют в образце, связываются с рекомбинантными антигенами, сорбированными в лунках планшета, и одновременно с биотинилированным рекомбинантным антигеном, аналогичным структурному белку (core) ВГС (конъюгат-1). Не связавшиеся компоненты удаляются промывкой.

На второй стадии антитела к иммуноглобулинам G и M человека и стрептавидин, меченные пероксидазой хрена, связываются с иммуноглобулинами G, M человека и core-антигеном, меченым биотином, захваченными на поверхности планшета на первой стадии. Не связавшиеся компоненты удаляются промывкой. При добавлении субстратной смеси (ТМБ+СБ) в лунки планшета происходит окрашивание раствора в синий цвет. Реакцию останавливают добавлением в раствор стоп-реагента. При этом синий цвет раствора меняется на желтый. Интенсивность окрашивания прямо пропорциональна концентрации антител к ВГС в образце. Учет результатов можно проводить при длине волны 450 нм или 450/620-680 нм.

III. СОСТАВ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

Характеристики реагентов		Форма выпуска		
		комплект 1 $\nabla \Sigma$ 96	комплект 2 $\nabla \Sigma$ 192	комплект 3 $\nabla \Sigma$ 480
Иммуносорбент	Планшет полистироловый 96-луночный разборный до стрипов (или до лунок), в лунках которого засорбированы рекомбинантные антигены, представляющие иммунодоминантные регионы структурных (core) и неструктурных белков вируса гепатита С (NS3, NS4, NS5). Готов к применению.	1 планшет	2 планшета	5 планшето
Конъюгат-1	Биотинилированный рекомбинантный антиген, аналогичный структурному белку (core) вируса гепатита С. Готов к применению. Красного цвета жидкость, допустимо образование аморфного осадка, полностью растворяющегося при аккуратном перемешивании. Содержит 0,10% ProClin 300*.	1 флакон 9,0 мл	1 флакон 14,0 мл	2 флакона по 18,0 мл
Конъюгат-2	Концентрат (x11). Смесь антител к иммуноглобулинам G и M человека и стрептавидина, меченных пероксидазой хрена. Прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная или светло-жёлтая жидкость.	1 флакон 2,5 мл	1 флакон 2,5 мл	3 флакона по 2,5 мл
РРК-2	Раствор для разведения Конъюгата-2. Готов к применению. Прозрачная или слегка опалесцирующая жёлтого цвета жидкость, допустимо образование аморфного осадка, при встряхивании распадающегося и приводящего к помутнению раствора. Содержит 0,10% ProClin 300*.	1 флакон 25,0 мл	1 флакон 25,0 мл	3 флакона по 25,0 мл
К+	Контрольный положительный образец, инактивированный. Готов к применению. Прозрачная или слегка опалесцирующая малинового цвета жидкость. Содержит 0,20% азида натрия*.	1 флакон 1,2 мл	1 флакон 1,2 мл	1 флакон 1,2 мл
К-	Контрольный отрицательный образец, инактивированный. Готов к применению. Прозрачная или слегка опалесцирующая зелёного цвета жидкость. Содержит 0,20% азида натрия*.	1 флакон 2,5 мл	1 флакон 2,5 мл	2 флакона по 2,5 мл или 1 флакон 5,0 мл
ПР	Промывочный раствор. Концентрат (x25) фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т). Прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная или светло-жёлтого цвета жидкость, допустимо образование осадка, полностью растворяющегося при температуре от 35 до 39 °С и встряхивании.	1 флакон 50,0 мл	1 флакон 120,0 мл	2 флакона по 120,0 мл
Стоп-реагент	Раствор серной кислоты (0,2М). Готов к применению. Прозрачная бесцветная жидкость.	1 флакон 25,0 мл	2 флакона по 25,0 мл или 1 флакон 50,0 мл	2 флакона по 50,0 мл или 4 флакона по 25,0 мл
СБ	Субстратный буферный раствор – цитратный буфер, содержащий раствор перекиси водорода. Готов к применению. Прозрачная бесцветная жидкость.	1 флакон 25,0 мл	1 флакон 25,0 мл или 1 флакон 50,0 мл	2 флакона по 50,0 мл или 3 флакона по 25,0 мл
ТМБ	Концентрат (x11). Раствор, содержащий 3,3',5,5'-тетраметилбензидин. Прозрачная бесцветная жидкость, возможно наличие окраски.	1 флакон 2,5 мл	1 флакон 2,5 мл	2 флакона по 3,5 мл или 3 флакона по 2,5 мл
Плётка защитная для ИФА-планшетов		2 шт.	4 шт.	10 шт.
Наконечники одноразовые		16 шт.	32 шт.	80 шт.
Ванночка пластиковая для жидких реагентов		2 шт.	4 шт.	10 шт.
Пакет полиэтиленовый с замком Zip-Lock		1 шт.	2 шт.	5 шт.
Инструкция по применению		1 шт.	1 шт.	1 шт.

* указано содержание вредных веществ в опасных концентрациях для реагентов, обозначенных символом «Внимание».

Набор комплектуется готовыми реагентами и концентрированными растворами. Имеется маркировка посредством штрих-кодов, а также цветовая кодировка для ряда реагентов. Цветовая кодировка реагентов – условное обозначение цвета/окраски жидких реагентов: Конъюгат-1 – красный, Конъюгат-2 – светло-жёлтый, К+ – малиновый, К- – зелёный.

Набор упакован в потребительскую упаковку (коробку картонную). Паспорт на серию входит в комплект сопроводительной документации на продукцию.

IV. ЭФФЕКТИВНОСТЬ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

4.1. Аналитическая эффективность

4.1.1. Аналитическая специфичность

- Интерференты эндогенной природы: наличие в образцах неконъюгированного билирубина в концентрации до 400 мг/л, гемоглобина до 10,0 г/л, липидов (триглицеридов) до 30,0 г/л, биотина до 3500 нг/мл не влияет на эффективность набора реагентов «ИФА-АНТИ-HCV 2.0». Повышенное содержание билирубина, гемоглобина и липидов в образцах может привести к ложноположительным результатам, повышенное содержание биотина – к ложноотрицательному результату.
- Интерференты экзогенной природы: наличие в образцах ацетилсалициловой кислоты в концентрации до 3,0 мг/дл, гепарина до 3300 Ед/л, парацетамола до 15,6 мг/дл не влияет на эффективность набора реагентов «ИФА-АНТИ-HCV 2.0».

4.1.2. Воспроизводимость и повторяемость

Исследование воспроизводимости внутри планшета (повторяемости), воспроизводимости между днями, внутри лаборатории, между лабораториями (приборами) и операторами, между сериями и между планшетами одной серии проводили по CLSI EP05-A3 «Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline-Third Edition» (по схеме 20-2-2 и по схеме 3-5-5). Коэффициент вариации не превышал 15%.

4.2. Клиническая эффективность

4.2.1. Диагностическая чувствительность

Диагностическая чувствительность набора реагентов «ИФА-АНТИ-HCV 2.0» оценивалась при тестировании 531 образца сыворотки (плазмы) крови пациентов, инфицированных вирусом гепатита С, включая:

- 288 образцов сыворотки (плазмы) крови, содержащих антитела к ВГС. Чувствительность составила 100,00% (95% CI: 98,68% – 100,00%);
- 126 образцов плазмы крови, содержащих антитела к ВГС разных генотипов (1, 2, 3, 4, 5, 6). Чувствительность составила 100,00% (95% CI: 97,04% – 100,00%).
- 92 образца сыворотки (плазмы) крови, содержащие антитела различного спектра к ВГС. Чувствительность составила 100,00% (95% CI: 95,99% – 100,00%).
- 25 свежееотобранных образцов плазмы крови, содержащих антитела к ВГС. Чувствительность составила 100,00% (95% CI: 86,68% – 100,00%).

Диагностическая чувствительность по 531 исследованному образцу составила 100,00% (95% CI: 99,28% – 100,00%).

4.2.2. Дополнительно диагностическая чувствительность исследовалась при тестировании 32 коммерческих сероконверсионных панелей (ZeptoMetrix и SeraCare, США). Из 258 образцов исследуемых панелей были выявлены как положительные:

- 69 образцов при тестировании в «ИФА-АНТИ-HCV 2.0»;
- 66 образцов при тестировании доступным коммерческим тестом третьего поколения.

При сравнении «ИФА-АНТИ-HCV 2.0» и доступного коммерческого теста третьего поколения по выявлению сероконверсии были получены следующие результаты:

- в 9 панелях сероконверсия была выявлена раньше набором реагентов «ИФА-АНТИ-HCV 2.0»;
- в 9 панелях сероконверсия была выявлена раньше доступным коммерческим тестом третьего поколения;
- в 14 панелях сероконверсия была выявлена одновременно обоими медицинскими изделиями.

Панели	«ИФА-АНТИ-HCV 2.0»	Доступный коммерческий тест 3 ^{го} поколения	генотип
	Количество позитивных образцов/ Общее количество образцов		
ZMC HCV 6215	0/4	1/4	1a
ZMC HCV 6216	1/7	0/7	nd
ZMC HCV 6222	1/8	1/8	1a
ZMC HCV 6224	0/6	2/6	nd
ZMC HCV 6225	0/19	0/19	nd
ZMC HCV 6226	3/12	3/12	nd
ZMC HCV 6227	2/7	2/7	1a
ZMC HCV 6228	4/12	3/12	1a
ZMC HCV 6229	3/8	2/8	1b
ZMC HCV 9041	4/8	4/8	1a
ZMC HCV 9044	2/6	2/6	1a
ZMC HCV 9045	2/8	1/8	1a
ZMC HCV 9046	4/5	4/5	nd
ZMC HCV 9047	4/10	3/10	1a
ZMC HCV 9050	2/13	0/13	nd
ZMC HCV 9054	1/10	2/10	3a
ZMC HCV 9055	0/11	1/11	3a
ZMC HCV 9058	1/5	1/5	1a
ZMC HCV 10013	0/10	2/10	1a
ZMC HCV 10017	0/16	1/16	nd
ZMC HCV 10057	2/7	2/7	1a
ZMC HCV 10062	1/8	2/8	1a
ZMC HCV 10071	6/7	3/7	nd
ZMC HCV 10165	4/9	4/9	nd
PHV 911(M)	2/4	3/4	1a
PHV 912	1/3	1/3	2b/3
PHV 913	2/4	1/4	2b
PHV 915	3/4	0/4	2b
PHV 919	3/7	3/7	1a
PHV 920(M)	7/9	7/9	1a
PHV 922	4/6	5/6	3a
PHV 926	0/5	0/5	3a
Всего	69/258	66/258	-

4.2.3. Дополнительно чувствительность оценивалась при исследовании образцов из набора реагентов «ДС-Стандартная панель-анти-HCV» (ООО «НПО «Диагностические системы», Россия). Чувствительность составила 100%.

4.2.4. Диагностическая специфичность

Диагностическая специфичность набора реагентов «ИФА-АНТИ-HCV 2.0» оценивалась при исследовании:

- 5100 образцов сыворотки (плазмы) крови доноров случайной выборки и составила 99,82% (95% CI: 99,66% – 99,91%);

– 587 образцов сыворотки (плазмы) крови госпитальных пациентов с неинфекционными заболеваниями (неврологические, ревматологические, терапевтические, онкологические и хирургические) и составила 99,47% (95% CI: 98,46% – 99,82%);

– 570 потенциально перекрёстно-реагирующих образцов сыворотки (плазмы) крови, включающих:

- 318 образцов сыворотки крови беременных женщин. Специфичность составила 100,00% (95% CI: 98,78% – 100,00%);
- 225 образцов сыворотки (плазмы) крови пациентов с инфекционными заболеваниями (гепатит В, ВИЧ-инфекция, герпесвирусная инфекция, цитомегаловирусная инфекция, хламидиоз). Специфичность составила 99,55% (95% CI: 97,50% – 99,92%);
- 16 образцов сыворотки (плазмы) крови, содержащих антитела к *E.coli*. Специфичность составила 100,00% (95% CI: 80,64% – 100,00%);
- 11 образцов сыворотки (плазмы) крови, содержащих НАМА и RF+. Специфичность составила 100,00% (95% CI: 74,12% – 100,00%).

4.2.5. Дополнительно специфичность оценивалась при тестировании образцов из набора реагентов «ДС-Стандартная панель-анти-HCV» (ООО «НПО «Диагностические системы», Россия). Специфичность составила 100%.

4.3. Хук-эффект

Для оценки хук-эффекта высоких концентраций, который может приводить к получению ложноотрицательных результатов тестирования, были исследованы образцы сыворотки крови с высоким титром антител к ВГС в неразведенном виде и в разведении 1/10. В результате тестирования не выявлено увеличение ОП группы образцов в разведении 1/10 по сравнению с неразведенными образцами, следовательно, хук-эффект не наблюдался.

4.4. Эквивалентность образцов сыворотки и плазмы крови человека

Дополнительными исследованиями коллекции положительных (n=25) и отрицательных (n=25) парных образцов сыворотки и плазмы, содержащих антикоагулянты (ЭДТА, гепарин, цитрат натрия), была показана их эквивалентность, что позволяет отнести показатели диагностической чувствительности и специфичности к обоим видам исследуемых проб.

4.5. Устойчивость (робастность)

Набор реагентов «ИФА-АНТИ-HCV 2.0» продемонстрировал хорошую устойчивость к некоторым нарушениям выполнения методики анализа. Исключением является увеличение времени инкубации, уменьшение циклов промывки (менее 4), увеличение температуры инкубации в термостате до 40°C.

V. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

5.1. Нестерильное медицинское изделие для диагностики *in vitro*. Потенциальный риск применения набора – класс 3 (Приказ Минздрава России от 06.06.2012 г. N 4н).

5.2. Набор предназначен для профессионального использования в клинической лабораторной диагностике специально обученным персоналом. При работе с набором реагентов следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования к безопасности».

5.3. Реагенты набора не горючие. Внешняя упаковка не является самовоспламеняемой, взрывоопасной.

5.4. Реагенты набора не содержат вредных веществ в опасных концентрациях, за исключением реагентов, обозначенных символом «Внимание». При использовании по назначению

вероятность негативного воздействия на организм человека незначительна. Растворы в представленных объемах и концентрациях не опасны при вдыхании.

Меры первой помощи (при необходимости): При попадании на кожу/в глаза – промыть большим количеством воды. Загрязненную одежду снять. При необходимости обратиться за медицинской помощью.

- 5.5. Контрольный образец К- приготовлен с использованием инаktivированной плазмы крови человека, не содержащей HBsAg, антиген p24 ВИЧ-1, антитела к ВИЧ-1, 2 и HCV.
- 5.6. Контрольный образец К+, приготовлен с использованием инаktivированной плазмы крови человека, содержащей антитела к HCV и не содержащей HBsAg, антиген p24 ВИЧ-1, антитела к ВИЧ-1, 2.
- 5.7. При работе с реагентами набора (К+ и К-) и исследуемыми образцами нужно обращаться как с потенциально опасными материалами, т.к. ни один метод тестирования не может гарантировать отсутствие инфекционных агентов.
- 5.8. Отдельные реагенты набора приготовлены с использованием биологического материала животного происхождения.
- 5.9. Паспорт безопасности для набора реагентов может быть представлен по запросу клиента.
- 5.10. Для получения надежных результатов необходимо:
 - обеспечить установленные условия хранения набора;
 - строго соблюдать требования Инструкции по применению набора реагентов.
- 5.11. Не использовать МИ:
 - при повреждении целостности упаковки реагентов;
 - при несоответствии внешнего вида реагентов (см. п. III Состав набора реагентов);
 - при повреждении маркировки.

VI. УТИЛИЗАЦИЯ И УНИЧТОЖЕНИЕ

- 6.1. Изделия в процессе хранения и транспортирования не выделяют вредных веществ, загрязняющих окружающую среду. Отходы, образующиеся в результате применения набора реагентов по назначению, установленному производителем, а также не использованные изделия (истекший срок годности, поврежденная потребительская упаковка/маркировка, поврежденная упаковка/маркировка реагентов и т.д.) относятся к медицинским отходам класса «А», «Б» и «Г» в соответствии со ст. 49 Федерального закона от 21.11.2011 г. N 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации».
- 6.2. Медицинские отходы подлежат сбору, обезвреживанию, размещению, хранению, транспортировке, учету и утилизации в соответствии с действующими правилами и нормативами (СанПиН 2.1.3684-21, СП 1.3.2322-08, МУ 287-113).

VII. НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ, НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ С НАБОРОМ РЕАГЕНТОВ

- Вода дистиллированная (деионизированная).
- Дозаторы пипеточные переменного объема для отбора жидкостей.
- Наконечники одноразовые для дозаторов пипеточных.
- Инкубатор микропланшетный (термостат) или термостатируемый шейкер (термошейкер) ($37,0 \pm 1,0$) °C.
- Устройство для промывания планшетов (вошер).
- Планшетный спектрофотометр (ИФА-ридер) с фильтрами 450 нм и 620-680 нм.
- Для постановки ИФА в автоматическом режиме – любая модель ИФА-анализаторов открытого типа.
- Бумага фильтровальная лабораторная.
- Средства измерения времени (часы, таймер).

VIII. ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Сбор образцов крови человека проводить в соответствии с текущей практикой методом венепункции. Для анализа использовать только нативные (неразведенные) образцы сыворотки крови человека или плазмы крови человека с различными антикоагулянтами (ЭДТА, гепарин, цитрат натрия). Во избежание гемолиза нужно как можно быстрее отделить плазму от эритроцитов или сыворотку от сгустка. Образцы, содержащие агрегаты или осадок, осветлять центрифугированием. Во избежание осаждения фибрина плазму размораживать в течение нескольких минут при температуре $(39,0 \pm 1,0) ^\circ\text{C}$ на водяной бане. Недопустимо проведение термоинактивации ввиду возможности получения ложного результата.

Образцы с выраженным гемолизом, гиперлипидемией (сильная опалесценция) и бактериальным ростом анализировать нельзя.

Образцы хранить/транспортировать в соответствии с требованиями существующих нормативных документов. Длительное хранение допустимо при температуре не выше минус $20 ^\circ\text{C}$ (замораживание/оттаивание не более 3 раз).

IX. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

9.1. Общие требования и рекомендации:

- Нельзя использовать реагенты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме:
 - неспецифических реагентов (**ПР, СБ**), которые взаимозаменяемы во всех наборах реагентов производства ООО «НПО «Диагностические системы»;
 - **Стоп-реагента**, который может быть взаимозаменяемым в зависимости от молярности раствора.
- Другие реагенты также могут быть взаимозаменяемыми для постановки в большинстве наборов-реагентов ООО «НПО «Диагностические системы». За более детальной информацией относительно других реагентов обратитесь в службу поддержки пользователей по телефону бесплатной линии 8-800-555-0300 (доб. 7626, 7655) или по E-mail: info@npods.ru; help-ds@npods.ru.
- Рабочие растворы готовить осторожно, исключая какое-либо загрязнение. Использовать одноразовую или химически чистую лабораторную посуду для приготовления реагентов. Не допускать контакта металлических предметов с реагентами.
- Каждая лунка Иммуносорбента предназначена для однократного использования.
- Не подвергать реагенты и рабочие растворы воздействию высоких температур или прямого солнечного света.
- Перед использованием флаконы с жидкими реагентами перемешать, не допуская вспенивания.

9.2. Реагенты, готовые к использованию:

- **Иммуносорбент.** Планшет, состоящий из 12 стрипов и рамки, упакован в фольгированный пакет. Вскрыть фольгированный пакет, отступив 1 см от края пакета, и взять необходимое количество стрипов.
- **K-, K+, Конъюгат-1, Стоп-реагент (0,2M).**

9.3. Реагенты, требующие предварительного приготовления:

- **Рабочий ПР.** Необходимый объем концентрата ПР ($\times 25$) развести в 25 раз соответствующим объемом воды дистиллированной или деионизированной и тщательно перемешать.

• **Рабочий Конъюгат-2:** Необходимый объём концентрата Конъюгата-2 ($\times 11$) развести в 11 раз соответствующим объёмом РРК-2, осторожно перемешать, не допуская вспенивания. Возможно, приготовление рабочего раствора непосредственно во флаконе с РРК-2. Для этого нужно отобрать дозатором пипеточным концентрат Конъюгата-2 (2,5 мл), перенести во флакон с РРК-2 (25,0 мл) и тщательно перемешать, не допуская вспенивания.

Раствор рабочего Конъюгата-2 перед использованием выдержать не менее 10 мин при комнатной температуре.

• **Субстратная смесь (СС):** Необходимый объём концентрата ТМБ ($\times 11$) развести в 11 раз соответствующим объёмом СБ и тщательно перемешать. Возможно приготовление СС непосредственно во флаконе с СБ. Для этого нужно отобрать дозатором пипеточным необходимый объём ТМБ (2,5 мл или 5,0 мл), перенести в соответствующий флакон с СБ (25,0 мл или 50,0 мл) и тщательно перемешать.

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

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

Х. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

10.1. Общие требования и рекомендации:

- Использовать валидированные дозаторы и оборудование.
- Использовать новый наконечник для каждого образца.
- Перед использованием набор реагентов выдержать не менее 30 мин при комнатной температуре.
- Перед использованием ванночки пластиковые для жидких реагентов ополоснуть водой дистиллированной (деионизированной).
- Не использовать одну и ту же ванночку пластиковую для внесения конъюгатов и Субстратной смеси.
- Избегать распыливания образцов или содержащих их растворов.
- Не допускать высыхания лунок Иммуносорбента между отдельными операциями.
- Соблюдать требования к промывке (рекомендованное количество циклов, объём раствора при наполнении, временные интервалы, эффективность отсасывания).
- Многоцветные флаконы (ванночки) для ИФА-анализаторов сразу после работы ополоснуть водой дистиллированной (деионизированной). Затем промыть 70% раствором этилового спирта и снова ополоснуть водой дистиллированной (деионизированной).
- Плёнки для заклеивания лунок Иммуносорбента являются одноразовыми и повторному использованию после снятия не подлежат.
- Возможны две альтернативные процедуры постановки. Важно, чтобы каждый этап постановки осуществлялся по одной и той же процедуре. Сочетание процедур не допускается!

10.2. Проведение ИФА при ручной постановке:

Этап	Процедура постановки	
	Процедура 1 термостат, (37,0 ± 1,0) °C	Процедура 2 термошейкер (500 об/мин), (37,0 ± 1,0) °C
1	Внести в лунки Иммуносорбента по 60 мкл раствора Конъюгата-1 непосредственно перед добавлением контрольных и исследуемых образцов.	
2	Внести в лунки Иммуносорбента по 40 мкл К+, К-. 1 стрип – 1 лунка К+, 2 лунки К-; 2 стрипа и более – 1 лунка К+, 3 лунки К-. <i>Тщательно перемешать пипетированием (для процедуры 1).</i> В остальные лунки внести по 40 мкл неразведённых исследуемых образцов. <i>Тщательно перемешать пипетированием (для процедуры 1).</i> При этом цвет раствора Конъюгата-1 должен измениться с красного на жёлтый. Степень изменения цвета у различных образцов может отличаться. Время внесения образцов не должно превышать 15 мин.	
3	Планшет накрыть защитной плёнкой и выдержать	
	60 мин	45 мин
4	С помощью промывочного устройства удалить содержимое лунок в ёмкость с дезинфицирующим раствором и промыть планшет 4 раза рабочим раствором ПР. Для этого осторожно внести рабочий ПР в лунки планшета до краёв (не менее 350 мкл в лунку), затем удалить в ёмкость с дезинфицирующим раствором. При необходимости удалить остатки влаги путем отстукивания по сложенной в несколько слоёв фильтровальной бумаге. <i>Рекомендуется использовать автоматический микропланшетный вошер. Недостаточная промывка может неблагоприятно повлиять на точность анализа.</i>	
5	Во все лунки внести по 100 мкл раствора рабочего Конъюгата-2.	
6	Планшет накрыть защитной плёнкой и выдержать	
	30 мин	20 мин
7	С помощью промывочного устройства удалить содержимое лунок и промыть планшет 4 раза рабочим ПР, как описано в п. 4.	
8	Во все лунки планшета внести по 100 мкл СС.	
9	Планшет выдержать 20 мин в защищённом от света месте при комнатной температуре (18-25) °C.	
10	Реакцию остановить добавлением во все лунки по 150 мкл Стоп-реагента и через 2-3 минуты измерить ОП при длине волны 450/620-680 нм. Допустимо измерять ОП при одной длине волны - 450 нм. Измерение проводить в течение 10 минут.	

Схема проведения ИФА приведена в Приложении.

10.3. Проведение ИФА в автоматическом режиме:

Для постановки в автоматическом режиме рекомендуется использовать валидированный протокол, предоставленный производителем. При самостоятельном создании протокола, он должен соответствовать п. X «Проведение анализа», и должны выполняться все требования, описанные в п. V «Меры предосторожности».

При приготовлении рабочих растворов реагентов для автоматической постановки необходимо учитывать «мёртвый» объём флаконов или ёмкостей, используемых для загрузки рабочих растворов в ИФА-анализатор.

При постановке набора на ИФА-анализаторе допускается дробное использование комплекта 1 не более чем в 12 постановках, комплекта 2 – не более чем в пяти постановках, комплекта 3 – не более чем в 15 постановках.

Валидированные протоколы постановки набора и таблицы разведения рабочих растворов реагентов для разных моделей ИФА-анализаторов можно получить от производителя по запросу (см. п. XV).

10.4. Спектрофотометрический контроль внесения исследуемых образцов и реагентов при постановке на ИФА-анализаторах:

Контроль внесения Конъюгата-1 и исследуемых образцов рекомендуется проводить при длине волны 450 нм, критерий: ОП > 0,400.

Контроль внесения рабочего Конъюгата-2 рекомендуется проводить при длине волны 450 нм, критерий: ОП > 0,300.

Контроль внесения СС рекомендуется проводить при длине волны 492 нм, критерий: ОП > 0,040.

Критерии спектрофотометрического контроля при необходимости уточнить у производителя набора реагентов.

Спектрофотометрический контроль не позволяет проверить точность дозирования реагентов. Он показывает только наличие Конъюгата-1 и исследуемого образца, раствора рабочего Конъюгата-2, СС в лунках планшета.

XI. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ

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

Реакцию учитывать, если значение оптической плотности (ОП) в лунке с К+ – не менее 2,000, а среднее значение ОП в лунках с К- – не более 0,200*.

ОПкрит. рассчитать по формуле:

$$\text{ОПкрит.} = \text{ОПср.К-} + A,$$

где A – коэффициент, определяемый производителем методом статистической обработки результатов постановки ИФА, величину которого указывают для каждой серии в инструкции по применению и в паспорте на серию.

* Значение ОП К- и исследуемых образцов меньше 0,000 (со знаком «-») при расчетах ОП крит. и анализе результатов считать равными нулю.

Исследуемые образцы расценивать как положительные: если ОП ≥ ОПкрит.

Исследуемые образцы расценивать как отрицательные: если ОП < ОПкрит.

Возможен учет результатов по коэффициенту позитивности (КП) по формуле:

$$\text{КП} = \text{ОП} / \text{ОПкрит.}$$

Исследуемые образцы расценивать как положительные: если КП ≥ 1,0.

Исследуемые образцы расценивать как отрицательные: если КП < 1,0.

XII. ОГРАНИЧЕНИЯ ТЕСТА

- Результаты, полученные в этом или любом другом диагностическом тесте, должны быть использованы и интерпретированы только в контексте всей клинической картины.

- Заключение о наличии антител к вирусу гепатита С не должно быть основано на единственном реактивном результате исследования. Все первично положительные образцы должны быть протестированы повторно и, в случае повторного положительного результата, должны быть исследованы в подтверждающих тестах.

- Отрицательные результаты могут быть получены, если количество антител к вирусу гепатита С в образце ниже уровня чувствительности теста, или если они отсутствуют на той стадии болезни, в которой образец был отобран.

- Ложноположительные результаты могут быть получены при использовании любого теста. Ложноположительные результаты могут быть вызваны неспецифическим взаимодействием.

- Изменчивость вируса гепатита С не позволяет исключить возможность ложноотрицательных результатов. Ни один из известных методов тестирования не может дать полную гарантию отсутствия вируса гепатита С.

- Расхождение результатов при тестировании одних и тех же образцов в разных тестах может быть связано с первичной структурой используемых рекомбинантных антигенов.

ХIII. СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

13.1	Срок годности набора реагентов 18 месяцев. Наборы с истекшим сроком годности использованию не подлежат.		
13.2	Условия хранения набора реагентов Хранить наборы при температуре от 2 до 8 °С в сухом, защищенном от света месте с использованием оборудования и помещений, обеспечивающих заданные условия, в соответствии с установленными правилами. Замораживание не допускается. Наборы, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, использованию не подлежат.		
13.3	Условия транспортирования набора реагентов Транспортировать наборы следует крытым транспортом, с соблюдением температурного режима, установленного изготовителем, в соответствии с установленными правилами перевозок. Наборы, транспортированные с нарушением температурного режима, использованию не подлежат. Наборы реагентов транспортировать при температуре от 2 до 8 °С.		
	Допускается транспортирование: при температуре от 9 до 25 °С	не более 10 сут	
13.4	Условия и сроки хранения рабочих растворов (хранить в чистых флаконах или специальной ёмкости, предназначенной для постановки на ИФА-анализаторах, в защищённом от света месте)		
	Рабочий ПР	при температуре от 2 до 8 °С	не более 28 сут
		при температуре от 18 до 25 °С	не более 14 сут
	Рабочий Конъюгат-2	при температуре от 18 до 25 °С	не более 12 ч
	СС	при температуре от 18 до 25 °С	не более 10 ч
13.5	Условия и сроки хранения неиспользованных реагентов набора после вскрытия Хранить в сухом, защищённом от света месте при температуре от 2 до 8 °С. Замораживание не допускается.		
	Иммуносорбент	После вскрытия неиспользованные стрипы без рамки поместить в фольгированный пакет (не удаляя силикагель!) и тщательно герметизировать. Для этого край пакета следует свернуть 2-3 раза и поместить фольгированный пакет со стрипами в полиэтиленовый пакет с замком Zip-Lock.	в течение срока годности набора реагентов
	Конъюгат-1, Конъюгат-2, РРК-2, К+, К-, ПР, Стоп-реагент, ТМБ, СБ	Флаконы плотно закрыть винтовыми крышками и хранить в упаковке производителя.	в течение срока годности набора реагентов

ХIV. ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ И РЕМОНТ

Набор реагентов «ИФА-АНТИ-НСV 2.0» техническому обслуживанию и ремонту не подлежит.

ХV. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

- Производитель (изготовитель): Общество с ограниченной ответственностью «Научно-производственное объединение «Диагностические системы» (ООО «НПО «Диагностические системы»), 603157, Россия, г. Нижний Новгород, ул. Коминтерна, 47. Почтовый адрес: 603093, Россия, г. Нижний Новгород, ул. Яблонева, 22.
- Производитель гарантирует соответствие выпускаемого продукта требованиям нормативной и технической документации.
Безопасность и качество набора реагентов гарантируются в течение всего установленного срока годности.
- Гарантии производителя не распространяются при нарушении условий хранения и транспортирования, а также в случае несоблюдения инструкции по применению.
- Рекламации на специфические и физические свойства набора направлять в адрес производителя:

ООО «НПО «Диагностические системы»

603093, Россия, г. Нижний Новгород, ул. Яблонева, 22

Тел./факс: (831) 434-86-83, 8-800-555-0300

E-mail: info@npods.ru, www.npods.ru.

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

- 1) рекламационного набора;
- 2) всех образцов кроводач пациента;
- 3) протоколов исследований с использованием других тест-систем с указанием производителя, серии, сроков годности.

XVI. ОБЪЯСНЕНИЕ ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СИМВОЛОВ

	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>		
	Изготовитель/производитель		Обратитесь к инструкции по применению
	Номер по каталогу		Температурный диапазон
	Содержимого достаточно для проведения <i>n</i> -количества тестов (количество определений)		Не допускать воздействия солнечного света
	Код партии (номер серии)		Беречь от влаги
	Дата изготовления (YYYY-MM)		Внимание
	Срок годности (дата истечения срока годности в формате YYYY-MM-DD)		Верх
	Не использовать при повреждении упаковки		Хрупкое, обращаться осторожно

Директор по производству

ООО «НПО «Диагностические системы», к.б.н.



В.К. Пименов

Краткая схема

(допускается использование как формы записи)

REF:		Серия:	
Годен до:		Дата проведения:	
Этапы проведения анализа			Отметка о выполнении
Выдержать набор реагентов		не менее 30 мин, (18-25) °C	☐
Внести Конъюгат-1		по 60 мкл в каждую лунку	☐
Внести К+ К-		по 40 мкл, перемешать пипетированием (для процедуры 1)	☐
Внести Исследуемые образцы		по 40 мкл, перемешать пипетированием (для процедуры 1)	☐
Накрыть плёнкой и инкубировать (выбрать процедуру 1 или 2)		1) (37,0±1,0) °C, 60 мин	☐
		2) 500 об/мин, (37,0±1,0) °C, 45 мин	☐
Приготовить Рабочий ПР		1 часть ПР (x25) + 24 части H ₂ O	☐
Промыть Рабочим ПР		не менее 350 мкл 4 раза	☐
Приготовить Рабочий Конъюгат-2		1 часть Конъюгат-2 (x11) + 10 частей РРК-2	☐
Внести Рабочий Конъюгат-2		по 100 мкл во все лунки	☐
Накрыть плёнкой и инкубировать (согласно выбранной процедуре 1 или 2)		1) (37,0±1,0) °C, 30 мин	☐
		2) 500 об/мин, (37,0±1,0) °C, 20 мин	☐
Промыть Рабочим ПР		4 раза не менее 350 мкл	☐
Приготовить Субстратную смесь (СС)		1 часть ТМБ (x11) + 10 частей СБ	☐
Внести СС		по 100 мкл во все лунки	☐
Инкубировать		(18-25) °C, в темноте, 20 мин	☐
Внести Стоп-реагент		по 150 мкл во все лунки	☐
Измерить ОП (через 2-3 мин)		при 450/620-680 нм или 450 нм	☐
Рассчитать ОП _{крит.}			☐
Постановку осуществлять по одной и той же процедуре. Сочетание процедур не допускается!			
Выполнил (ФИО)		(подпись)	
Проверил (ФИО)		(подпись)	

Прошнуровано, пронумеровано и скреплено печатью

16 (Шестнадцать) листов(а)

цифрами
Заместитель генерального директора

Шлюндин О.Н.

личная подпись



Прошнуровано, пронумеровано и скреплено печатью

16 (Шестнадцать) листов(а)
цифрами прописью

Заместитель генерального директора по
научной и образовательной деятельности

Пуллин А.А.

личная подпись

