



Citiți cu atenție instrucțiunile de utilizare înainte de testare. Urmăriți instrucțiunile și nu le modificați. Rezultatele eronate pot fi evitate și performanța optimă a setului AiD™ anti-HCV ELISA poate fi obținută doar urmând instrucțiunile cu deosebită strictețe.

DESTINAȚIA

Setul AiD™ anti-HCV ELISA este un test enzimatic de imunoabsorbție (ELISA) destinat determinării calitative a anticorpilor virusului hepatitei C (HCV) în ser sau plasmă umană. Se recomandă pentru screeningul donatorilor de sânge și la diagnosticarea pacienților ce au tângentă cu infecția hepatitei virale C.

SUMAR

Virusul hepatitei C (HCV) este un înveliș viral ARN (9.5 kb) monocatenar catenă cu sens pozitiv, ce aparține familiei Flaviviridae. Au fost descoperiți șase genotipuri majore și o serie de subtipuri de HCV. Fiind izolat în 1989, acum HCV este recunoscut ca fiind cauza primordială a hepatitei non-A, non-B în ce privește transfuzia. Boala este caracterizată de forme acute și cronice, deși mai mult de 50% din indivizii infectați dezvoltă hepatite severe, cronice cu amenințarea vieții cu ciroză hepatică și carcinom hepatocelular. Odată cu introducerea screeningului, în 1990, a donatorilor de sânge pentru anti-HCV, frecvența infectării în rândul primitorilor de transfuzii, a fost redus considerabil.

- Teste ELISA HCV de generația întâi, la care s-a folosit proteine recombinante complementare pentru regiunea NS4 (c100-3) a genomului HCV în calitate de antigene, a arătat o sensibilitate și specificitate limitată.
- Testele de generația a doua, care a includ antigene recombinante / sintetice din regiunea Core (c22) și regiunile nestructurale NS3 (c33c, c100-3) și NS4 (c100-3, c200), a rezultat cu o îmbunătățire remarcabilă a sensibilității și specificității.
- Testele de generația a treia, pe lângă regiunile NS3 (c200), NS4 (c200) și Core (c22), a inclus și antigene din regiunea NS5 a genomului viral. A treia producție a îmbunătățit sensibilitatea și a micșorat timpul dintre infectarea cu HCV și apariția anticorpilor detectabili (fereastră imunologică) la 60 zile.

Setul AiD™ anti-HCV ELISA se bazează pe principiul ELISA antigen dublu – „sandwich”. Inovația metodei de testare a anticorpilor HCV permite determinarea precoce a anticorpilor IgM

și IgA, pe lângă anticorpii IgG, determinarea cărora este rolul principal în determinarea testelor de generațiile precedente. Mai mult ca atât, metoda permite minimalizarea reacției nespecifice, prezentate de alte metode, astfel folosirea acestora crește specificitatea la determinare.

PRINCIPIUL DE TESTARE

Prezentul este un set de testare imunoenzimatic cu incubare în doi pași, ce folosește stripuri ai microgodeurilor de polistiren, acoperite anterior cu antigenele HCV recombinante, exprimate în E.coli (Core recombinat și NS3/4/5 recombinat). Adăugați probele de ser sau plasmă ale pacientului împreună cu antigenele HCV biotin-conjugate. Pe durata primului pas de incubare, anticorpii specifici HCV, dacă aceștia sunt prezenți, vor fi capturați în interiorul godeurilor conform principiului „sandwich” antigen dublu, un complex alcătuit din pelicula de acoperire și antigenele HCV biotin-conjugate. După aceasta spălați microgodeurile pentru a înlătura proteinele serologice nelegate. Pe durata celui de-al doilea pas de incubare, anticorpii HCV capturați sunt determinați prin adăugarea peroxidazei de hrean (HRP-Conjugat). Spălați microgodeurile pentru a înlătura proteinele serologice nelegate și adăugați soluțiile de cromogen în godeuri. În godeurile pozitive față de anticorpii HCV, cromogenele incolore vor fi hidrolizate de conjugatul legat HRP formând un produs de culoare albastră. Culoarea albastră se transformă în galben după ce reacția a fost oprită cu acidul sulfuric. Cantitatea intensității culorii poate fi măsurată și este direct proporțională cu cantitatea anticorpilor capturați în godeuri, și respectiv cu probele. Godeurile ce conțin probe negative față de anti-HCV rămân incolore.

COMPONENTELE

IVD DOAR pentru diagnosticare IN VITRO

Acest set conține reagenți suficienți pentru testarea a maximum de 91 probe la o testare.

UUU | PLATE
Cod 5 (1x96 godeuri)
8x12/12x8-godeuri per placă

CONTROL | -
Cod 8 (1x1ml per fiolă)
Conserv. 0.1%ProClin™ 300

CONTROL | +
Cod 7 (1x1ml per fiolă)
Conserv. 0.1%ProClin™ 300

HRP | CON
Cod 6 (1x6ml per fiolă)
Conserv. 0.1%ProClin™ 300

PLACĂ CU MICROGODEURI: Stripuri blanc ale microgodeurilor fixate pe un suport alb de stripuri. Placa este sigilată în punga de aluminiu cu desicant. Fiecare godeu conține antigene HCV recombinante. Stripurile godeurilor pot fi detașate pentru a se folosi separat. Depozitați godeurile sau stripurile nefolosite la 2~8°C într-o pungă de plastic împreună cu desicantul și sigilați-o. Odată ce ați deschis ambalajul, stripurile godeurilor mai sunt valabile încă 4 săptămâini, fiind păstrate împreună cu desicantul la 2~8°C.

CONTROL NEGATIV: Lichid de culoare albastră în fiolă cu capac verde filetat.

Soluție tampon protein-stabilizată testată, fiind nereactivă față de anticorpii HCV. Gata de utilizare la furnizare. Odată deschis, stabil timp de o lună la 2-8°C.

CONTROL POZITIV: Lichid de culoare roșie în fiolă cu capac roșu filetat. Soluție tampon protein-stabilizată testată pozitiv față de anticorpii HCV. Gata de utilizare la furnizare. Odată deschis, stabil timp de o lună la 2-8°C.

HRP-CONJUGAT: Lichid de culoare roșie în fiolă albă cu capac roșu filetat. Peroxidază de hrean conjugat cu avidină. Gata de utilizare la furnizare. Odată deschis, stabil timp de o lună la

BIOTIN | CON
Cod 10 (1x6ml per fiolă)
Conserv. 0.1%ProClin™ 300

WASH | BUF | 20X
Cod 1 (1x50ml per flacon)
DILUAȚI ÎNAINTE DE FOLOSIRE!
detergent Tween-20

CHROM | SOL | A
Cod 2 (1x6ml per fiolă)

CHROM | SOL | B
Cod 3 (1x6ml per fiolă)

STOP | SOL
Cod 4 (1x6ml per fiolă)

- **PUNGĂ DE PLASTIC CU SIGILIU:** Pentru păstrarea stripurilor nefolosite. 1 unitate
- **INSTRUCȚIUNE DE UTILIZARE** 1 copie
- **ACOPERĂMÂNT LAMINAT AL PLĂCII** (pelicula de acoperire) 3 unități

Pentru acoperirea plăcilor în timpul incubăției și prevenirii plăcii de evaporare sau contaminare.

MATERIALE NECESARE DAR NEAPROVIZIONATE

Apă proaspăt distilată sau deionizată; cronometru și mănuși de unică folosință; recipiente pentru deșeuri corespunzătoare pentru materiale potențial contaminate; sistem de dozare și/sau pipetare, vârfuri de pipetă de unică folosință; șervețel absorbant sau uscat; incubare uscată sau la baie de apă, 37±1°C; cititor pentru placa cu microgodeuri, cu o lungime de undă 450nm sau dublă 450nm/630nm; sistem de aspirare/spălare al microgodeurilor.

RECOLTAREA PROBELOR, TRANSPORTAREA ȘI DEPOZITAREA

1. **Recoltarea probelor:** Nu este necesară o pregătire specială a pacientului. Recoltați proba conform procedurilor normale a practicii de laborator. Pentru această testare pot fi folosite probe proaspete de ser sau plasmă. Sângele recoltat prin venipunctură trebuie lăsat să se coaguleze natural și complet - serul/plasma trebuie separate de cheaguri cât mai curând posibil, pentru a evita hemoliza RBC. Asigurați-vă ca probele de ser să fie limpezi și să nu fie contaminate cu microorganisme. Orice particule suspendate vizibile în probă trebuie înlăturate prin centrifugarea la 3000 RPM timp de 20 minute la temperatura camerei, sau prin folosirea filtrelor.
2. Probele de plasmă recoltate în EDTA, citrat de sodiu sau heparină pot fi supuse testării, **însă nu și probele intens icterice, lipemice sau hemolizate**, pe cât acestea pot oferi

2-8°C. 10

BIOTINĂ-CONJUGATĂ: Lichid de culoare albastră în fiolă cu capac albastru filetat.

Antigene HCV biotinilate diluate în soluție tampon protein-stabilizată testată. Gata de utilizare la furnizare. Odată deschis, stabil timp de o lună la 2-8°C.

SOLUȚIE TAMPON DE SPĂLARE: Lichid incolor în flacon incolor cu capac alb filetat. Soluție tampon ce conține surfactant.

Înainte de utilizare, concentratul trebuie diluat **1 la 20** cu apă distilată sau deionizată. Odată diluată, soluția e stabilă 1 săptămână la temperatura camerei sau 2 săptămâni la 2-8°C.

SOLUȚIE DE CROMOGEN A: Lichid incolor în fiolă albă cu capac verde filetat. Soluție peroxid de uree. Gata de utilizare la furnizare.

Odată deschis, stabil timp de o lună la 2-8°C.

SOLUȚIE DE CROMOGEN B: Lichid incolor în fiolă neagră cu capac negru filetat. Soluție TMB (Tetrametilbenzidina dizolvată în acid citric). Gata de utilizare la furnizare. Odată deschis e stabil timp de o lună la 2-8°C.

SOLUȚIE DE STOPARE: Lichid incolor în fiolă albă cu capac alb filetat. Soluție diluată de acid sulfuric (0.5M H₂SO₄). Gata de utilizare la furnizare. Odată deschis e stabil timp de o lună la 2-8°C.

rezultate eronate. **Nu încălziți probele inactive**, aceasta poate duce la deteriorarea analitului țintă. Nu folosiți în nici un caz probele cu contaminarea vizibilă de microbi.

3. Setul AiD™ anti-HCV ELISA este destinat DOAR testării probelor individuale de ser sau plasmă. Nu-l folosiți pentru testarea probelor de salivă, urină, probă combinată de sânge sau alte fluide de la cadavre.
4. **Transportarea și depozitarea:** Depozitați probele la 2-8°C. Probele care nu necesită testare în decurs de 1 săptămână, trebuie depozitate congelate (-20°C sau mai puțin). Evitați ciclurile de congelare-decongelare repetată. Pentru transportare, probele trebuiesc ambalate și etichetate conform reglementărilor locale și internaționale în vigoare despre transportul probelor clinice și agenților etiologici.

DEPOZITARE ȘI STABILITATE

Compozenții setului vor rămâne stabili până la termenul de valabilitate indicat pe etichetă și ambalaj, fiind păstrați la 2-8°C; nu congelați. Pentru a asigura o performanță maximă a setului AiD™ anti-HCV ELISA, protejați reagenții de contaminare cu microorganisme sau substanțe chimice pe durata de depozitare.

PRECAUȚII ȘI SIGURANȚĂ

DOAR PENTRU UZ PROFESIONAL

Setul ELISA este o metodă cu sensibilitate la timp și temperatură. Pentru a evita rezultate incorecte, **urmați cu strictețe pașii procedurii de testare și nu îi schimbați.**

1. Nu schimbați reagenții din diferite loturi și nu folosiți reagenți din alte seturi comerciale disponibile. Componentele setului corespund în exactitate, asigurând o performanță optimă pe durata testării.
2. Asigurați-vă ca toți reagenții să corespundă termenului de valabilitate indicat pe cutia setului și sunt din același lot. Nu folosiți niciodată reagenți cu termenul de valabilitate expirat.
3. **ATENȚIE – PAS CRITIC:** Lăsați reagenții și probele să revină la temperatura camerei (18-30°C) înainte de a fi folosite. Amestecați cu grijă reagentul înainte de utilizare și imediat după aceasta depozitați-l la temperatura de 2-8°C.
4. Folosiți doar volum de ajuns de probă, după cum e indicat în pașii procedurii de testare. Eșuarea poate cauza sensibilitate slabă a testării.
5. Nu atingeți fundul exterior al godeurilor; urmele degetelor sau zgârieturile pot interfera citirii microplăcii. La citirea rezultatelor asigurați-vă ca fundul plăcii să fie uscat și să nu existe bule de aer în godeuri.
6. Nu permiteți niciodată godeurilor microplăcii să se usuce după efectuarea pașilor de spălare. Treceți imediat la următorul pas. Evitați formarea bulelor de aer la adăugarea reagentului.
7. Evitați întreruperile de lungă durată între pașii de testare. Asigurați-vă să fie aceleași condiții de lucru pentru toate godeurile.
8. Calibrați frecvent pipeta pentru a asigura exactitatea de pipetare a probelor/reagenților. Folosiți de fiecare dată vârfuri de pipete de unică folosință pentru fiecare probă și reagenți, pentru a evita contaminarea încrucișată.
9. Asigurați-vă ca temperatura în interiorul incubatorului să fie de 37°C.
10. La adăugarea probelor, evitați atingerea fundului godeurilor cu vârful pipetei.

11. La citirea rezultatelor cu cititorul plăcii, se recomandă determinarea absorbției la 450nm sau la 450nm cu referință la 630nm.
12. Activitatea enzimatică a HRP-conjugat poate fi afectată de praf, soluțiile chimice reactive și substanțe ca hipoclorit de sodiu, acizi, substanțe alcaline, etc. Nu efectuați testul în prezența substanțelor de acest gen.
13. La folosirea sistemului complet automat de procesare al microplăcii, nu acoperiți plăcile cu acoperământul plăcii. Înlăturarea reziduurilor rămase în placă după spălare prin lovirea ușoară a acesteia, de asemenea poate fi omisă.
14. Toate probele de origine umană trebuie considerate ca și fiind potențial infecțioase. Urmarea cu strictețe a reglementărilor GLP (Buna Practică de Laborator) asigură siguranța personală.
15. **ATENȚIE:** Materialele de origine umană puteau fi folosite la pregătirea controalelor negative din set. Aceste materiale au fost testate cu seturile de testare la performanțele acceptate și au fost găsite a fi negative pentru anticorpii HIV 1/2, HCV, TP și HBsAg. Cu toate acestea, nu există vreo metodă analitică care să asigure lipsa completă a agenților patogeni în probe sau reagenți. Prin urmare, lucrați reagenții și probele cu precauție, ca și fiind capabile de a transmite boli infecțioase. Au fost folosite derivate serice de la bovine pentru stabilizarea controalelor pozitive și negative. Albumina serică bovină (BSA) și ser fetal de vițel (FCS) sunt derivate de la animale din zone geografice cu BSE/TSE (encefalopatii spongiforme bovine/ transmisibile) neatestate.
16. Niciodată nu mâncați, beți, fumați sau aplicați produse cosmetice în laboratorul de testare. Nu pipetați soluțiile cu gura.
17. Soluțiile chimice trebuie tratate și aruncate doar în conformitate cu reglementările GLP (Buna Practică de Laborator) și cele locale în vigoare.
18. Vârfurile de pipete, fiolele, stripurile și recipientele probelor trebuie colectate și autoclavate nu mai puțin de 2 ore la 121°C, sau tratate cu soluție hipoclorit de sodiu de 10% timp de 30 min pentru a le decontamina înaintea pașilor ulteriori de folosire. NICIODATĂ nu supuneți soluțiile ce conțin hipoclorit de sodiu autoclavării. Fișa tehnică de securitate a materialelor (MSDS) este disponibilă la cerere.
19. Unii reagenți pot cauza toxicitate, iritare, arsuri, sau pot avea efecte cancerogene în calitate de materiale neprelucrate. Contactul cu pielea și mucoasele trebuie evitat, dar nu și limitat cu următorii reagenți: soluție de stopare, soluțiile de cromogen și soluțiile tampon de spălare.
20. Soluția de stopare 0.5M H₂SO₄ este un acid. Folosiți-o cu grijă sporită. Ștergeți imediat picăturile de soluție vărsată sau spălați cu apă dacă aceasta a intrat în contact cu pielea sau ochii.
21. ProClin™ 300 de 0.1% folosit în calitate de conservant, poate cauza sensibilitatea pielii. Ștergeți imediat picăturile de soluție vărsată sau spălați cu apă dacă aceasta a intrat în contact cu pielea sau ochii.

INDICATOARELE DE INSTABILITATE SAU DETERIORARE A REAGENȚILOR: Valorile controalelor pozitive sau negative, care nu se încadrează în diapazonul controlului de calitate specificat, indică la posibila deteriorare a reagenților și/sau operatorului, sau erorilor echipamentului. În astfel de cazuri, rezultatele trebuie considerate nevalide și probele trebuie retestate. În cazuri constante a rezultatelor eronate, menționate în rubrica din motivul

deteriorării sau instabilității reagenților, înlocuiți imediat reagenții cu unii noi, sau contactați suportul tehnic pentru asistența ulterioară.



ProClin™ 300
Expresii S: S26-28-
36/37/39-45-60-61
Expresii R: 43



Nu mâncați și
nu beți în laborator.



Purtați haine protectoare.
Purtați protecție pentru ochi.



Atenție:
Pericol biologic!

PROCEDURILE DE TESTARE

Pregătirea reagenților: Aduceți reagenții la temperatura camerei (**18-30°C**). Verificați soluția tampon de spălare de formarea cristalelor de săruri. Dacă acestea s-au format, resolubilizați prin încălzirea la 37°C până la dizolvarea cristalelor. Diluați soluția tampon concentrat de spălare (20X) conform instrucțiunilor de spălare. Folosiți apă distilată sau deionizată și doar recipiente curate la diluarea soluției tampon. Ceilalți reagenți sunt **GATA DE UTILIZARE LA FURNIZARE**.

Pasul 1 Pregătirea: Marcați trei godeuri ca fiind controale Negative (**ex. B1, C1, D1**), două ca fiind controale Pozitive (**ex. E1, F1**) și un Blanc (**ex. A1**, nu trebuie adăugate în godeurile blanc nici probele, nici HRP-conjugat sau BIOTINA-Conjugată). În cazul în care rezultatul va fi determinat folosind cititorul plăcii cu lungime de undă dublă, cerința folosirii godeurilor blanc poate fi omisă. Folosiți doar numărul de stripuri necesare pentru testare.

Pasul 2 Adăugarea Reagentului BIOTINA-Conjugată: Adăugați **50μl** de Reagent BIOTINĂ-Conjugată în fiecare godeu cu excepția celui blanc.

Pasul 3 Adăugarea probei: Adăugați **50μl de control Pozitiv, control Negativ și Probe** în godeurile respective, cu excepția celui blanc. **Notă: Folosiți un vârf de pipetă separat pentru fiecare Probă, control Pozitiv și Negativ, pentru a evita contaminarea încrucișată.** Amestecați lovind ușor placa.

Pasul 4 Incubarea: Acoperiți placa cu pelicula de acoperire și incubați timp de **30 minute la 37°C**.

Pasul 5 Spălarea: Înlăturați și aruncați pelicula de acoperire a plăcii. Spălați fiecare godeu de **5 ori** cu soluție tampon de spălare diluată. Lăsați de fiecare dată microgodeurile să se usuce timp de **30-60 sec**. După ultimul ciclu de spălare, întoarceți placa cu fundul în sus pe hârtie de filtru sau șervețel curat și loviți ușor pentru a înlătura orice lichide rămase.

Pasul 6 Adăugarea conjugatului HRP: Adăugați **100μl** HRP-conjugat în fiecare godeu cu excepția celui blanc și amestecați lovind ușor placa.

Pasul 7 Incubarea: Acoperiți placa și incubați timp de **30 minute la 37°C**.

Pasul 8 Spălarea: La finalizarea incubării, înlăturați și aruncați pelicula de acoperire a plăcii. Spălați fiecare godeu de **5 ori** cu soluție tampon de spălare diluată. Lăsați de fiecare dată microgodeurile să se usuce timp de **30-60 sec**. După ultimul ciclu de

spălare, întoarceți placa cu fundul în sus pe hârtia de filtru sau un șervețel curat și laviți ușor pentru a îndalura orice lichide rămase.

Pasul 9 Colorarea: Adăugați **50 µl** soluție de cromogen A și **50 µl** soluție de cromogen B în fiecare godeu, inclusiv cel blank. Incubați placa la **37°C timp de 15 min evitând lumina**. Reacția enzimatică dintre soluțiile de cromogen și HRP-conjugat vor produce o culoare albastră pentru godeurile cu controlul pozitiv și pentru probele pozitive față de anticorpii HCV.

Pasul 10 Reacție de stopare: Adăugați **50 µl** soluție de stopare în fiecare godeu manual sau folosind o pipetă multicanal și amestecați cu grijă. Se va forma un galben intens în godeurile cu control pozitiv și cele cu probe pozitive față de anticorpii HCV.

Pasul 11 Măsurarea absorbției: Calibrați cititorul plăcii cu godeul blank și citiți absorbția la **450 nm**. Dacă este folosit aparatul cu sistemul de filtrare dublu, setați lungimea de undă de referință la **630 nm**. Calculați valoarea Cut-off și evaluați rezultatele. (Notă: citiți absorbția în decurs de **10 minute** după stoparea reacției).

INSTRUCȚIUNI SPECIALE PENTRU SPĂLARE

1. Este esențială o procedură reușită de spălare pentru a obține datele analitice corecte și precise.
2. Prin urmare se recomandă de a folosi un sistem de spălare al microplăcii ELISA de calitate, păstrând cel mai bun nivel de performanță al spălării. În general, este nevoie de nu mai puțin de **5** cicluri de spălare automată, cu dozare de 350-400µl/godeu, pentru a evita reacții fals pozitive și fundal de alertă.
3. Pentru a evita contaminarea încrucișată a plăcii cu probele sau HRP-conjugat, nu aruncați conținutul godeurilor după incubare, ci lăsați sistemul de spălare al microplăcii să aspire automat.
4. Asigurați-vă că canalele pentru lichide ale sistemului de spălare al microplăcii nu sunt blocate sau contaminate și că de fiecare dată în godeuri este distribuit un volum suficient de soluție tampon de spălare.
5. În cazul spălării manuale, recomandăm efectuarea a **5 cicluri** lucrate la 350-400 µl/godeu și aspirarea lichidului de **5 ori**. Dacă observați rezultate slabe (fundal de alertă), măriți numărul de cicluri de spălare sau timpul de înmuiere per godeu.
6. Și totuși, lichidul aspirat din stripuri trebuie tratat cu soluție hipoclorit de sodiu (concentrat final de 2.5%) pentru 24 ore, înainte de a fi aruncat conform reglementărilor convenite.
7. Soluția de spălare concentrată necesită diluare de **1 la 20** înainte de utilizare. Dacă se folosește mai puțin de o placă, pregătiți volumul proporțional de soluție.

CONTROLUL CALITĂȚII ȘI CALCULAREA REZULTATELOR

La calcularea și interpretarea rezultatelor testării, fiecare microplacă trebuie considerată aparte, indiferent de numărul de plăci procesate curent. Rezultatele sunt calculate comparând valoarea absorbției (A) a fiecărei probe cu valoarea Cut-off (CO) a plăcii. Dacă citirea Cut-off este bazată pe cititor al plăcii cu un singur filtru, rezultatele trebuie calculate prin extragerea valorii A a godeului blank din raportul imprimat cu valorile probelor și a controalelor. În cazul în care citirea este bazată pe cititor al plăcii cu două filtre, nu extrageți valoarea A a blankului din rapoartele cu valorile probelor și a controalelor.

Calcularea valorii Cut-off (CO) = $Nc + 0.12$ (Nc = valoarea medie a absorbției pentru trei controale negative).

Controlul calității (validarea testării): Rezultatele testării sunt valide odată ce sunt îndeplinite cerințele controlului calității. Se recomandă ca fiecare laborator să-și stabilească un sistem corespunzător al controlului calității cu materiale ale controlului calității similare sau identice cu proba pacient analizată.

- Valoarea A al godeului blank, ce conține doar soluțiile de cromogen și de stopare, este <0.080 la 450 nm.

- Valoarea A a controlului pozitiv trebuie să fie ≥ 0.800 la 450/630 nm sau la 450 nm, după efectuarea blankului.

- Valoarea A a controlului negativ trebuie să fie ≥ 0.100 la 450/630 nm sau la 450 nm, după efectuarea blankului.

Dacă una dintre valorile A a controlului negativ nu corespunde cerințelor controlului calității, aceasta trebuie eliminată și valoarea medie recalculată folosind cele două valori rămase. Dacă mai mult de o valoare A a controlului negativ nu corespunde specificațiilor controlului calității, testul nu e valid și trebuie retestat.

Exemplu:

1. Controlul calității

Valoarea A a godeului blank: $A1=0.025$ la 450 nm (Notă: efectuarea blankului este necesară doar la citirea cu folosirea unui singur filtru la 450 nm)

Nr. godeurilor:	B1	C1	D1
Val. A a contr. negativ după blank	0.020	0.012	0.016

Nr. godeurilor:	E1	F1
Val. A a contr. pozitiv după blank	2.421	2.369

Toate valorile controalelor se încadrează în diapazonul valorilor controlului calității specificate.

2. Calcularea Nc : $= \frac{0.020+0.012+0.016}{3} = 0.016$

3. Calcularea Cut-off (CO) = $0.016 + 0.12 = 0.136$

INTERPRETAREA REZULTATELOR

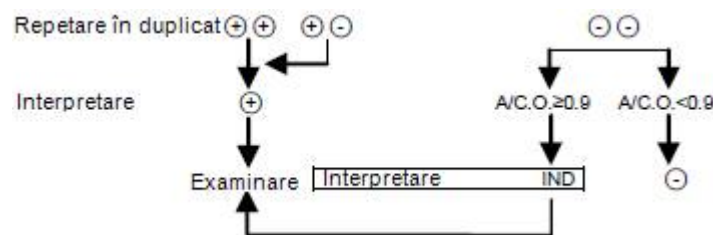
Rezultate negative (A/C.O. <1): Probele ce redau o absorbție mai mică decât valoarea Cut-off sunt considerate a fi negative, ceea ce indică că nu au fost determinați anticorpii virusului hepatitei C folosind acest set AiD™ anti-HCV ELISA. Prin urmare, pacientul probabil nu este infectat cu HCV, proba de sânge nu conține anticorpii față de HCV și sângele poate fi transfuzabil odată ce s-a dovedit a fi negativ și față de alți markeri ale bolilor infecțioase.

Rezultate pozitive (A/C.O. ≥ 1): Probele ce redau o absorbție mai mică sau egală cu valoarea Cut-off sunt inițial reactive față de acest test, ceea ce indică faptul că a fost determinată probabilitatea prezenței anticorpilor virusului hepatitei C cu setul de testare AiD™ anti-HCV ELISA. Orice probe inițial reactive trebuie retestate în duplicat folosind acest set, înainte de interpretarea finală a rezultatelor. Probele reactive repetat pot fi considerate pozitive față de prezența anticorpilor anti-HCVcu setul de testare AiD™ anti-HCV ELISA.

Limitele (A/C.O.=0.9-1.1): Probele cu absorbția valorilor Cut-off între 0.9 și 1.1 sunt considerate probele limite și se recomandă retestarea probelor în duplicat pentru confirmarea rezultatelor inițiale.

Este necesară examinarea, confirmarea și testarea auxiliară a tuturor probelor pozitive cu alte sisteme analitice (ex. WB, PCR). Diagnoza clinică nu trebuie stabilită în baza unui singur rezultat de testare, ci să integreze și datele clinice și de laborator.

INTERPRETAREA ȘI EXAMINAREA REZULTATELOR ÎNȚIALE A TUTUROR PROBELOR LIMITE SAU ÎNȚIAL REACTIVE



IND = neinterpretabile

- În cazul în care după retestarea probelor inițial reactive ambele godeuri prezintă rezultate negative ($A/C.O. < 0.9$); aceste probe trebuie considerate ca și nerepetabile pozitiv (sau fals pozitive) și interpretate ca negative. Cât despre testările ELISA extrem de sensibile, rezultatele fals pozitive pot apărea din mai multe motive, majoritatea referindu-se, dar nu limitându-se doar la pașii de spălare inadecvați. Pentru mai multe informații referitoare la Rezolvarea problemelor setului ELISA Wantai, vă rugăm, consultați „Ghidul Wantai - ELISA și Rezolvarea problemelor”.
- În cazul în care după testarea probelor în duplicat, unul sau ambele godeuri prezintă rezultate pozitive, rezultatul final al acestui test ELISA trebuie considerat ca și reactiv repetabil (pozitiv). Probele reactiv repetabile pot fi considerate pozitive față de prezența anticorpilor virusului hepatitei C și prin urmare, pacientul probabil este infectat cu HCV și probele de sânge trebuie aruncate.
- După testarea probelor în duplicat, probele cu valori apropiate de cele Cut-off trebuie interpretate cu prudență și considerate ca și probe din zone limite sau neinterpretabile în momentul testării.

CARACTERISTICILE DE PERFORMANȚĂ

Evaluarea cercetărilor efectuate în Institutul Paul-Ehrlich-Institut (PEI), Crucea Roșie Germană Institutul Baden-Württemberg-Hessen, Sanquin Bloedvoorziening, șase bănci de sânge și șase spitale din China, au demonstrat următoarele caracteristici de performanță a testului AiD™ anti-HCV ELISA:

Specificitatea diagnostică: Evaluarea donatorilor de sânge europeni ($n=5083$) a oferit o specificitate diagnostică a setului per total de 99.96%; pentru donatorii de sânge chinezi ($n=15,997$) - 99.97%.

Specificitatea analitică:

Laboratorul de testare: **Crucea Roșie Germană - Baden-Württemberg-Hessen, Germania.** Au fost evaluate 210 probe de sânge de la pacienții internați. Toate probele selectate au fost găsite negative față de testul de referință. Printre acești pacienți, șase dintre probele acestora au fost inițial reactive. Una dintre probe a rămas a fi pozitivă după repetarea testului în duplicat. Nici una dintre probe nu s-a prezentat pozitivă față de anti-HCV cu testul de confirmare imunoblot (Innogenetics INNO-LIA HCV). Au fost evaluate 100 probe cu potențiale substanțe de reactivitate încrucișată. Nici una dintre probe nu au fost reactive folosind setul AiD™ anti-HCV ELISA.

Nu au fost observate interferențe cu probele de la pacienții cu concentrația înaltă a factorului reumatoid și probele femeilor însărcinate. Au fost testate probe prelevate în aceeași zi și probe congelate pentru a verifica interferențele referitoare la recoltare și depozitare.

Sensibilitatea:

Laboratorul de testare: **Institutul Paul-Ehrlich-Institut (PEI), Germania.** Au fost testate în total 397 probe de ser sau plasmă anti-HCV pozitive, incluzând 200 probe genotip, reprezentând majoritatea genotipului HCV 1-6. Referitor la sensibilitatea diagnostică a probei clinice și genotipului HCV 1-6, toate probele pozitive au fost determinate pozitive cu setul AiD™ anti-HCV ELISA.

Setul de testare AiD™ anti-HCV ELISA a fost de asemenea evaluat la sensibilitate folosind 33 paneluri HCV comerciale de seroconversie disponibile. Sensibilitatea de seroconversie a testului a fost comparată cu ale teste marcate CE pentru determinarea anticorpilor HCV.

LIMITELE

1. Rezultatele pozitive trebuie confirmate cu un alt test disponibil și interpretate împreună cu informația clinică a pacientului.
2. Pe parcursul fazei incipiente a bolii anticorpilor pot rămâne nedepistați. Prin urmare, rezultatele negative obținute cu setul AiD™ anti-HCV ELISA, indică doar la faptul că probele nu conțin un nivel detectabil de anticorpi ai virusului hepatitei C și orice rezultate negative nu vor fi considerate ca evidențe concludive a faptului că individul nu este infectat cu HCV, sau că unitatea de sânge nu este infectată cu HCV.
3. În cazul în care după retestarea probelor inițial reactive rezultatele testării sunt negative, aceste probe trebuie considerate ca și nerepetabile (fals pozitive) și interpretate ca negative. Cât despre testările ELISA extrem de sensibile, rezultatele fals pozitive pot apărea din mai multe motive, majoritatea referindu-se, dar nu limitându-se doar, la pașii de spălare inadecvați. Pentru mai multe informații referitoare la Rezolvarea problemelor setului ELISA Wantai, vă rugăm, consultați „Ghidul Wantai” sau luați legătura cu suportul tehnic pentru asistență ulterioară.
4. Motive frecvente de greșeli: seturi cu termen de valabilitate expirat, proceduri de spălare incorecte, reagenți contaminați, pași de testare incorecți, aspirare insuficientă pe durata spălării, dozarea incorectă a probelor sau a reagenților, operarea incorectă cu echimamentul de laborator, erori de timp, folosirea probelor intens hemolizate sau ce conțin fibrină, probe de ser coagulate incomplet.
5. Frecvența markerului va afecta valorile predictive ale testării.
6. Acest test nu poate fi folosit pentru testarea probelor combinate de plasmă. Setul AiD™ anti-HCV ELISA a fost evaluat doar cu probe individuale de ser sau plasmă.
7. Setul AiD™ anti-HCV ELISA este un test calitativ și rezultatele acestuia nu pot fi folosite pentru a măsura concentrațiile anticorpilor.

REFERINȚE

1. Alter HJ. (1978) You will wonder where the yellow went: A 15-year retrospective of posttransfusion hepatitis. In: Moore SB, ed. Transfusion-Transmitted Viral Diseases. Alington, VA. Am. Assoc. Blood Banks, pp. 53-38.
2. Alter HJ., Purcell RH, Holland PV, et al. (1978) Transmissible agent in non-A, non-B hepatitis. Lancet I: 459-463.
3. Choo Q-L, Weiner AJ, Overby LR, Kuo G, Houghton M. (1990) Hepatitis C Virus: the major causative agent of viral non-A, non-B hepatitis. Br Med Bull 46: 423-441.
4. Engvall E, Perlmann P. (1971) Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA): qualitative assay of IgG. Immunochemistry 8:871-874.

SUMARUL COMPONENTILOR IMPORTANȚI AI SETULUI:

Folosiți acest sumar doar ca referință și mereu urmați instrucțiunile testării. Notă: componenții fiecărui set aparte nu pot fi schimbați cu alte seturi.

1. Placa cu microgodeuri	Cod 5	Una
2. Control negativ	Cod 8	1x1 ml
3. Control pozitiv	Cod 7	1x1 ml
4. HRP-Conjugat	Cod 6	1x12 ml
5. BIOTINA-Conjugată	Cod 10	1x6 ml
6. Soluție tampon de spălare	Cod 1	1x50 ml
7. Soluție de cromogen A	Cod 2	1x6 ml
8. Soluție de cromogen B	Cod 3	1x6 ml
9. Soluție de stopare	Cod 4	1x6 ml

SUMARUL PROCEDURII DE TESTARE:

Folosiți acest sumar doar ca referință și mereu urmați instrucțiunile testării.

Adăugați BIOTINA-Conjugată	50 µl
Adăugați probele	50 µl
Incubați	60 minute
Spălați	5 ori
Adăugați HRP-conjugat	100 µl
Incubați	30 minute
Spălați	5 ori
Colorarea	50µl A + 50µl B
Incubați	30 minute
Stopați reacția	50µl soluție de stopare
Citiți absorbția	450 sau 450/630 nm

SIMBOLURILE CU MARCAJ

Schema cu exemple de controale/probe de dozare										
	1	2	3	4	5	6	7	...	...	12
A	Blac	S3								
B	Neg.	...								
C	Neg	...								
D	Neg.									
E	Poz.									
F	Poz.									
G	S1									
H	S2									

SIMBOLURILE CU MARCAJ CE:

	Dispozitiv medical de diagnosticare <i>in vitro</i>		Condiții de depozitare +2°C~+8°C
	Folosit de		Lotul
	Conținut suficient pentru „n” teste		Instrucțiunile de folosire
	Marcaj CE – IVDD 98/79/EC		Reprezentativ autorizat UE
	Numărul de catalog		Producător



Beijing Wantai Biological Pharmacy Enterprise Co., Ltd.
No.31 Kexueyuan Road, Changping District, Beijing 102206, China
Tel: +86-10-59528888, Fax: +86-10-89705849
Website: www.ystwt.com
Email: wtexport@ystwt.com



Qarad b.v.b.a.
Cipalstraat 3, B-2440 Geel, Belgium
Email: qarad@qarad.com



Versiunea: V. 2014-02 [Eng.]
Data emiterii: 15 Iulie, 2014
Numarul de revizuire: Revizuire 5

Reprezentant oficial in Rep. Moldova:
FSP „DAC-SpectroMed” SRL
MD-2060, str. Cuza-Voda, nr. 5/1
Tel.: 022 57-49-00, 57-49-21
e-mail: office@dacspectromed.com