

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»

М.Д. Хусаинов

№ «26» февраля 2024г.

М.П.



ИНСТРУКЦИЯ по применению набора реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов классов G и M к вирусу гепатита С (Бест анти-ВГС)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов классов G и M к вирусу гепатита С «Бест анти-ВГС» (далее по тексту – набор) предназначен для качественного определения иммуноглобулинов классов G и M к вирусу гепатита С в сыворотке, плазме, препаратах (иммуноглобулины, криопреципитат, альбумин) крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа. Набор может быть использован для скрининга, включая скрининг доноров крови и её компонентов, тканей и органов, и в комплексной диагностике гепатита С вне зависимости от популяционных и демографических аспектов.

1.2. Набор реагентов выпускается в трех комплектациях, эквивалентных по назначению, свойствам и функциональным характеристикам:

Комплект 1 рассчитан на проведение **96 определений**, включая контроли (по 3 лунки в каждой постановке). Предусмотрено дробное использование набора.

Комплект 2 рассчитан на проведение **192 определений**, включая контроли (по 3 лунки в каждой постановке). Предусмотрено дробное использование набора.

Комплект 3 рассчитан на проведение **480 определений**, включая контроли (по 3 лунки в каждой постановке). Предусмотрено дробное использование набора.

1.3. Набор может быть использован для ручной постановки анализа и для постановки в автоматических ИФА анализаторах открытого типа (например, анализатор иммуноферментный автоматический «Лазурит» (LAZURITE) с принадлежностями).

2. КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ТЕСТА

Вирус гепатита С (ВГС) – причина острых и хронических заболеваний печени, в том числе, цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы – является одной из актуальных проблем здравоохранения в мире. Основные пути передачи: манипуляции, связанные с оказанием медицинской помощи; употребление инъекционных наркотиков; передача инфекции от матери ребенку; половая передача. В 55–85% случаев происходит хронизация инфекции [1]. Распространённость инфекции ВГС, в зависимости от региона, от 0,1% до 5,4% [2].

ВГС является РНК-содержащим вирусом, который отнесён к роду *Hepacivirus* семейства *Flaviviridae* [3]. Геном ВГС представлен одноцепочечной РНК, кодирующей структурные элементы: Core-белок и гликопротеины E1 и E2; неструктурные белки: p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A и NS5B. К каждому из белков в организме человека вырабатываются антитела, циркулирующие в крови. В настоящее время серологические методы используют для выявления антител к ВГС аналоги антигенов Core, NS3, NS4 и NS5. Антитела к белкам ВГС начинают выявляться в крови через 6–8 недель от инфицирования и сохраняются длительное время [4].

Выявление антител к ВГС имеет большое значение, поскольку инфицирование гепатитом С чаще всего становится случайной находкой при скрининговом тестировании. В России и в большинстве стран мира скрининговое исследование является обязательным при обследовании доноров крови и ряда других групп лиц, определяемых государственными нормативными документами [1, 5].

Лица, у которых выявлены антитела к ВГС, подлежат обследованию на наличие РНК ВГС или Core-антигена ВГС [6], которые являются маркерами текущей инфекции.

3. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

3.1. Принцип метода.

Метод определения основан на твёрдофазном иммуноферментном анализе с применением рекомбинантных антигенов ВГС, соответствующих вирусным антигенам *Core*, *NS3*, *NS4*, *NS5*. Во время первой инкубации, при наличии в исследуемых образцах антител к ВГС, они связываются с рекомбинантными антигенами, иммобилизованными на поверхности лунок планшета. Во время второй инкубации смесь пероксидазных конъюгатов антител к IgG человека и антител к IgM человека связывается с антителами, иммобилизованными в ходе первой инкубации. Далее, во время инкубации с раствором тетраметилбензидина, происходит окрашивание раствора в лунках, содержащих образовавшиеся комплексы «антиген-антитело». Интенсивность окрашивания зависит от количества содержащихся в исследуемом образце антител IgG и IgM к ВГС. После остановки реакции добавлением в раствор стоп-реагента результаты ИФА регистрируются измерением **оптической плотности (ОП)** в лунках планшета.

3.2. Состав набора,

Набор комплектуется готовыми к использованию реагентами и концентрированным раствором ФСБ-Т×25.

Компоненты набора имеют цветовую индикацию, флаконы с готовыми к использованию реагентами маркированы штрих-кодами.

Таблица 1

Компонент набора (сокращение) <i>Описание</i>	Комплект 1 Σ 96	Комплект 2 Σ 192	Комплект 3 Σ 480
Планшет разборный с иммобилизованными рекомбинантными антигенами ВГС	1 шт.	2 шт.	5 шт.
Положительный контрольный образец (K⁺) <i>Жидкость красного цвета.</i> <i>Содержит антитела к ВГС.</i> <i>Содержит натрия азид (0,1%).</i>	1 фл., 1,5 мл	1 фл., 1,5 мл	1 фл., 1,5 мл
Отрицательный контрольный образец (K⁻) <i>Жидкость светло-жёлтого цвета.</i> <i>Не содержит антитела к ВГС.</i> <i>Содержит натрия азид (0,1%).</i>	1 фл., 2,0 мл	1 фл., 2,0 мл	1 фл., 2,0 мл
Конъюгат <i>Жидкость оранжевого цвета.</i> <i>Антитела к IgG и IgM человека с пероксидазой хрена.</i> <i>Содержит фенол (0,1%)</i> <i>ProClin 150 (0,022%), натрия мертиолят (0,01%),</i> <i>тетраметилбензидин (0,0035%).</i>	1 фл., 13,0 мл	2 фл. по 13,0 мл	3 фл. по 20,0 мл
Раствор для разведения сывороток (РС) <i>Жидкость красно-коричневого цвета.</i> <i>Содержит натрия азид (0,1%).</i>	1 фл., 10,0 мл	1 фл., 16,0 мл	2 фл. по 20,0 мл
Концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) <i>Бесцветная жидкость.</i> <i>Содержит ProClin 300 (0,25%).</i>	1 фл., 28,0 мл	2 фл. по 28,0 мл	2 фл. по 100,0 мл
Раствор тетраметилбензидина лайт (Раствор ТМБ лайт) <i>Бесцветная или светло-жёлтого цвета жидкость.</i>	1 фл., 13,0 мл	2 фл. по 13,0 мл	3 фл. по 20,0 мл

Содержит 3,3',5,5' – тетраметилбензидин (0,025 %).			
Стоп-реагент Бесцветная жидкость. Содержит кислоту серную (4,9%).	1 фл., 12,0 мл	2 фл. по 12,0 мл	3 фл. по 21,0 мл
Плёнки для заклеивания планшета	2 шт.	4 шт.	10 шт.
Наконечники для дозаторов	16 шт.	16 шт.	16 шт.
Ванночки для реагентов	2 шт.	2 шт.	2 шт.

4. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

4.1. Диагностическая чувствительность:

при исследовании 500 серопозитивных образцов сыворотки (плазмы) крови составила 100% (интервал 99,26%–100% с доверительной вероятностью 95%).

4.2. Сероконверсионные панели:

чувствительность набора «Бест анти-ВГС» в период сероконверсии оценивалась путём тестирования 4 коммерческих сероконверсионных панелей.

4.2.1. HCV Seroconversion Panel SCP-HCV-011. lot BM18055, Biomex GmbH, Германия.

Из 5 образцов плазмы крови, полученных от инфицированного ВГС пациента в течение 33 дней, 1 образец определён набором «Бест анти-ВГС» как положительный (Таблица 2).

Время начала выявления антител в период сероконверсии совпадает с результатами, полученными с использованием других коммерческих наборов реагентов.

4.2.2. HCV Seroconversion Panel Donor № 66822 Part Number: HCV 10235, ZeptoMetrix Corporation, США.

Таблица 2

№ образца	Дата забора крови	«Бест анти-ВГС»	Информация из паспорта к панели		
			ANTI-HCV ABBOTT Architect	Roche Cobas e411 HCV Ab	Siemens Ensygnost Anti-HCV 4.0
			Коэффициент позитивности (КП)		
1	06.03.2012	0,00	0,10	0,07	0,02
2	13.03.2012	0,00	0,08	0,07	0,03
3	15.03.2012	0,00	0,09	0,07	0,02
4	02.04.2012	0,00	0,19	0,85	0,25
5	07.04.2012	6,03	1,16	1,06	1,96

Из 5 образцов плазмы крови, полученных от инфицированного ВГС пациента в течение 103 дней, 3 образца определены набором «Бест анти-ВГС» как положительные (Таблица 3).

Таблица 3

№ образца	Дата забора крови	«Бест анти-ВГС»	Информация из паспорта к панели		
			ABBOTT ANTI-HCV	ORTHO Eci ANTI-HCV	ALPHA HCV by PCR
		Коэффициент позитивности (КП)			
10235-01	01/09/98	0,00	0,185	0,04	отр.

10235-02	01/11/98	0,00	0,222	0,04	отр.
10235-03	04/15/98	19,19	5,778	20,1	пол.
10235-04	04/20/98	19,10	7,074	21,1	пол.
10235-05	04/22/98	19,01	7,037	21,1	пол.

Время начала выявления антител в период сероконверсии совпадает с результатами, полученными с использованием других коммерческих наборов реагентов.

4.2.3. HCV Seroconversion Panel Donor № 420299823 Part Number: HCV 10058, ZeptoMetrix Corporation, США.

Из 7 образцов плазмы крови, полученных от инфицированного ВГС пациента в течение 22 дней, все 7 образцов определены набором «Бест анти-ВГС» как положительные (Таблица 4).

Таблица 4

№ образца	Дата забора крови	«Бест анти-ВГС»	Информация из паспорта к панели	
			ABBOTT Architect ANTI-HCV	ORTHO Eci ANTI-HCV
			Коэффициент позитивности (КП)	
10058-01	05/30/97	1,62	10,680	9,35
10058-02	06/03/97	2,40	12,890	11,30
10058-03	06/06/97	6,18	13,390	12,20
10058-04	06/10/97	12,04	13,460	12,70
10058-05	06/13/97	16,16	13,790	14,00
10058-06	06/17/97	17,47	11,990	14,40
10058-07	06/20/97	17,07	13,130	14,20

Время начала выявления антител в период сероконверсии совпадает с результатами, полученными с использованием других коммерческих наборов реагентов.

4.2.4. HCV Seroconversion Panel Donor № 61067 Part Number: HCV 6213, ZeptoMetrix Corporation, США.

Из 12 образцов плазмы крови, полученных от инфицированного ВГС пациента в течение 46 дней, 2 образца определены набором «Бест анти-ВГС» как положительные (Таблица 5).

Таблица 5

№ образца	Дата забора крови	«Бест анти-ВГС»	Информация из паспорта к панели	
			ABBOTT 2,0 ANTI-HCV	ORTHO 3,0 ANTI-HCV
			Коэффициент позитивности (КП)	
6213-01	01/16/96	0,00	0,196	0,015
6213-02	01/18/96	0,00	0,220	0,012
6213-03	01/24/96	0,00	0,208	0,010
6213-04	01/27/96	0,00	0,240	0,009
6213-05	01/31/96	0,00	0,237	0,0661
6213-06	02/03/96	0,00	0,234	0,009
6213-07	02/13/96	0,00	0,257	0,007
6213-08	02/15/96	0,00	0,249	0,009

6213-09	02/20/96	0,00	0,214	0,020
6213-10	02/27/96	0,63	0,266	0,510
6213-11	02/28/96	7,34	1,865	4,126
6213-12	03/02/96	9,37	1,956	4,126

Время начала выявления антител в период сероконверсии совпадает с результатами, полученными с использованием других коммерческих наборов реагентов.

4.3. Диагностическая специфичность:

- при исследовании 750 серонегативных образцов сыворотки (плазмы) крови составила 100% (интервал 99,51%–100% с доверительной вероятностью 95%).

4.4. Аналитическая специфичность:

- при исследовании 267 образцов сыворотки (плазмы) крови пациентов, свободных от инфекции ВГС, но содержащих HBsAg или антитела к другим патогенам: к вирусам гепатитов А, Е, вирусам простого герпеса 1 и 2 типа, цитомегаловирусу, ВИЧ-1,2, вирусу клещевого энцефалита, вирусу SARS-CoV-2, к *Treponema pallidum*; а также сыворотки (плазмы) крови беременных женщин и пациентов с антителами к ревматоидному фактору не получено ложноположительных результатов, что свидетельствует об отсутствии кросс-реактивности и высокой специфичности.

4.5. Потенциально интерферирующие вещества:

- эндогенные: гемоглобин в концентрации до 10 мг/мл, билирубин в концентрации до 0,2 мг/мл, триглицериды в концентрации до 40 мг/мл, общий белок в концентрации до 160 мг/мл;
- экзогенные: СМОФлипид в концентрации до 40 мг/мл; ацетилсалициловая кислота в концентрации до 1,5 мг/мл; аскорбиновая кислота в концентрации до 0,4 мг/мл; гепарин в концентрации до 5,0 МЕ/мл; альфа-интерферон в концентрации до 4000 МЕ/мл; рибавирин в концентрации до 1,8 мг/мл; этанол в концентрации до 3,0 мг/мл —

не оказывают влияния на результаты качественного определения иммуноглобулинов классов G и M к вирусу гепатита С.

4.6. Воспроизводимость:

- для оценки воспроизводимости были исследованы три положительных, с разной степенью позитивности, образца сыворотки крови.

Воспроизводимость внутри постановки оценивалась по 15 повторам каждого образца.

Воспроизводимость между постановками оценивалась в течение 5 дней, по 3 постановки в день (3 серии разных вариантов комплектации, с интервалом не менее часа, в 3 различных помещениях) с использованием 5 повторов каждого образца. Среднее значение коэффициентов позитивности (КП_{ср}), стандартное отклонение, коэффициенты вариации при оценке воспроизводимости приведены в Таблице 6.

Таблица 6

№№ образца	Воспроизводимость					
	в пределах постановки n=15			между постановками n=75 (5×3×5)		
	КП _{ср}	Стандартное отклонение	Коэффициент вариации, %	КП _{ср}	Стандартное отклонение	Коэффициент вариации, %
1	14,8	0,658	4,4	15,2	0,969	6,4
2	13,2	0,413	3,1	13,3	0,845	6,4
3	4,0	0,310	7,8	3,4	0,468	13,8

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

5.1. Потенциальный риск применения набора – класс 3 (*приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н*).

5.2. Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом. Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

5.3. Стоп-реагент и раствор ТМБ лайт обладают раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадание на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента, раствора ТМБ лайт на кожу и слизистые необходимо промыть загрязненный участок большим количеством проточной воды. Некоторые компоненты содержат ProClin 150, ProClin 300, фенол, натрия мертиолят, натрия азид в концентрациях, указанных в п. 3.2. «Состав набора».

Все компоненты набора, содержащие в своем составе материалы человеческого происхождения, инактивированы.

5.4. При работе с исследуемыми и контрольными образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом.

5.5. При использовании набора образуются отходы классов А, Б, В, которые классифицируются и уничтожаются (*утилизируются*) в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (*профилактических*) мероприятий».

5.6. Дезинфекцию наборов реагентов, посуды и материалов, контактировавших с исследуемыми и контрольными образцами, следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5.7. Противопоказаний к применению медицинского изделия нет.

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

6.1. Для ручной постановки:

- спектрофотометр, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках стрипов при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–655 нм; допускается измерение при одной длине волны – 450 нм;
- промывочное устройство для планшетов;
- холодильник бытовой;
- термостат, поддерживающий температуру $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$;
- термостатируемый шейкер орбитального типа, позволяющий проводить перемешивание при 700 об/мин и температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$;
- дозаторы одноканальные и многоканальные со сменными наконечниками;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- дезинфицирующие средства.

6.2. Для постановки с использованием автоматических ИФА анализаторов открытого типа:

- автоматический ИФА-анализатор открытого типа (*например, анализатор иммуноферментный автоматический «Лазурит» (LAZURITE) с принадлежностями РУ № ФСЗ 2009/03660 от 07.04.2009*);
- холодильник бытовой;
- дозаторы одноканальные со сменными наконечниками;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- дезинфицирующие средства.

7. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

7.1. Требования к условиям и процедурам ведения преаналитического этапа клинических

лабораторных исследований с целью исключения или ограничения влияния эндогенных, экзогенных, ятрогенных и иных факторов, мешающих правильному отражению состояния внутренней среды обследуемых пациентов в результатах клинических лабораторных исследований изложены в ГОСТ Р 53079.4-2008 «Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа».

Взятие, транспортирование и хранение исследуемого материала осуществляется согласно МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории», утвержденным Роспотребнадзором и Рекомендациям «Организация преаналитического этапа при централизации лабораторных исследований», одобренным профильной комиссией Минздрава России по клинической лабораторной диагностике 30.05.2013.

7.2. Для анализа использовать образцы сыворотки, плазмы (*полученной с использованием в качестве антикоагулянтов цитрата, гепарина, К2-ЭДТА, К3-ЭДТА*) крови человека.

7.3. Образцы сыворотки, плазмы крови следует хранить при температуре (2–8) °С не более 5 суток, или при температуре минус 18 °С и ниже, если требуется более длительное хранение. Допускается однократное замораживание. После размораживания образцы следует тщательно перемешать.

7.4. Образцы сыворотки, плазмы крови, содержащие взвешенные частицы, необходимо очистить центрифугированием.

7.5. Лиофильно высушенные препараты крови перед исследованием растворить в соответствии с инструкцией по применению данного препарата. Жидкие препараты крови, за исключением препаратов иммуноглобулинов, исследовать не разведёнными. Препараты иммуноглобулинов перед исследованием разводить в 10 раз дистиллированной водой.

8. ПОДГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

8.1. ВНИМАНИЕ! Тщательное соблюдение описанных ниже требований позволит избежать искажения результатов ИФА.

- Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать при температуре (18–26) °С не менее 30 минут.
- Для приготовления растворов следует использовать чистую мерную посуду.
- При дробном использовании набора после отбора необходимого количества компонентов флаконы с растворами необходимо плотно закрыть, а оставшиеся стрипы сразу упаковать в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух и плотно закрыть замок. Упакованные стрипы, плотно закрытые флаконы с исходными компонентами хранить при температуре (2–8) °С, использовать в течение всего срока годности.
- Допускается хранение ФСБ-Т×25 и стоп-реагента при температуре (2–30) °С.
- Необходимо избегать воздействия прямого солнечного света на раствор ТМБ лайт при подготовке и проведении ИФА.
- При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (*ФСБ-Т×25; раствор ТМБ лайт, стоп-реагент*), которые взаимозаменяемы в наборах АО «Вектор-Бест».
- Нельзя использовать реагенты из наборов других фирм-производителей.
- Для приготовления растворов и проведения ИФА следует использовать **одноразовые** наконечники для дозаторов.
- При использовании устройства для промывки планшетов необходимо следить за чистотой ёмкости для промывочного раствора и соединительных шлангов: в них не должно быть микробной контаминации. Не оставлять промывочное устройство для планшетов на ночь заполненным водой или промывочным раствором. Для предотвращения засорения игл промывочного устройства в конце рабочего дня обязательно следует выполнить процедуру ополаскивания системы подачи жидкости дистиллированной водой. Один раз в неделю необходимо производить замачивание всей системы промывочного устройства в 70% этиловом спирте или в другом растворе, рекомендованном инструкцией к прибору.
- Для дезинфекции посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного

воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС (*четвертичных аммониевых соединений*), спиртов, третичных аминов.

- В случае повторного использования посуду (*ванночки*) для конъюгата необходимо промыть проточной водой и тщательно ополоснуть дистиллированной водой, посуду (*ванночки*) для раствора ТМБ лайт ополоснуть водой, промыть 70% раствором этилового спирта и тщательно отмыть дистиллированной водой. Нельзя обрабатывать посуду (*ванночки*) дезинфицирующими растворами и моющими средствами.
- Дозаторы и рабочие поверхности обрабатывать только 70% раствором этилового спирта. Не использовать перекись водорода, хлорамин.

8.2. Подготовка планшета.

Вскрыть пакет с планшетом выше замка. Оставить на рамке необходимое для проведения анализа количество стрипов.

8.3. Приготовление промывочного раствора.

Перемешать содержимое флакона с ФСБ-Т×25. При выпадении в концентрате осадка солей необходимо прогреть его при температуре (30–40) °С до полного растворения осадка.

В соответствии с числом используемых стрипов внести в мерный цилиндр необходимое количество ФСБ-Т×25 (*см. Таблицу расхода компонентов*) и довести дистиллированной водой до соответствующего объёма или содержимое 1 флакона **28,0 мл** – до **700 мл**, **100,0 мл** – до **2500 мл**. Тщательно перемешать.

Хранение: при температуре (2–8) °С не более 30 суток или при (18–26) °С не более 7 суток.

8.4. Конъюгат.

Перемешать содержимое флакона, не допуская вспенивания. В соответствии с числом используемых стрипов отобрать в ванночку для реагента необходимое количество (*см. Таблицу расхода компонентов*) конъюгата.

8.5. Раствор ТМБ лайт.

Перемешать содержимое флакона, не допуская вспенивания. В соответствии с числом используемых стрипов отобрать в ванночку для реагента необходимое количество (*см. Таблицу расхода компонентов*) раствора ТМБ лайт.

Таблица 7

Расход компонентов				
Количество используемых стрипов	Промывочный раствор		Конъюгат, мл	Раствор ТМБ лайт, мл
	ФСБ-Т×25, мл	Дистил. вода, мл		
1	2,0	до 50	1,0	1,0
2	4,0	до 100	2,0	2,0
3	6,0	до 150	3,0	3,0
4	8,0	до 200	4,0	4,0
5	10,0	до 250	5,0	5,0
6	12,0	до 300	6,0	6,0
7	14,0	до 350	7,0	7,0
8	16,0	до 400	8,0	8,0
9	18,0	до 450	9,0	9,0

10	20,0	до 500	10,0	10,0
11	22,0	до 550	11,0	11,0
12	24,0	до 600	12,0	12,0

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

9.1. Ручная постановка.

9.1.1. Внести во все лунки по **60 мкл РС**.

9.1.2. В одну лунку планшета внести **40 мкл K^+** , в две другие лунки – по **40 мкл K^-** , в остальные лунки – по **40 мкл исследуемых образцов**. Внесение контрольных и исследуемых образцов должно сопровождаться тщательным перемешиванием путём пипетирования (*не менее 4 раз*).

Контроли должны быть использованы в каждой постановке, на каждом планшете при использовании в постановке нескольких планшетов.

Время внесения образцов не должно превышать 20 минут.

Примечание: при смешивании РС с исследуемым образцом (контролями) происходит изменение цвета раствора в лунке планшета. Степень изменения цвета у различных образцов может отличаться.

9.1.3. Стрипы заклеить плёнкой и инкубировать в термостатируемом шейкере при температуре $(37 \pm 1)^\circ C$ с интенсивностью перемешивания 700 об/мин **30 минут**.

9.1.4. По окончании инкубации снять плёнку и поместить её в сосуд с дезинфицирующим раствором. С помощью промывочного устройства промыть лунки стрипов 5 раз промывочным раствором (см. п. 8.3), чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок стрипов. В каждую лунку вносить 400 мкл жидкости в процессе каждого цикла промывки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 секунд. По окончании промывки необходимо использовать перекрёстную аспирацию раствора из лунок (*режим «crosswise» или «cross aspiration»*) или тщательно удалить влагу из лунок, постукивая перевернутым планшетом по фильтровальной бумаге.

9.1.5. Внести во все лунки по **100 мкл конъюгата**.

Для внесения конъюгата использовать ванночку для реагента и **одноразовые** наконечники, входящие в состав набора. Остатки конъюгата из ванночки утилизировать (*не сливать во флакон с исходным конъюгатом*).

9.1.6. Стрипы заклеить плёнкой и инкубировать в термостатируемом шейкере при температуре $(37 \pm 1)^\circ C$ с интенсивностью перемешивания 700 об/мин **30 минут**.

9.1.7. По окончании второй инкубации промыть лунки, как указано в п. 9.1.4.

9.1.8. Внести во все лунки по **100 мкл раствора ТМБ лайт**.

Для внесения раствора ТМБ лайт использовать ванночку для реагента и **одноразовые** наконечники, входящие в состав набора. Остатки раствора ТМБ лайт из ванночки утилизировать (*не сливать во флакон с исходным раствором ТМБ лайт*).

9.1.9. Инкубировать в защищённом от прямого солнечного света месте: при температуре $(18-26)^\circ C$ **25 минут** или при температуре $(37 \pm 1)^\circ C$ **20 минут**.

9.1.10. Внести во все лунки по **100 мкл стоп-реагента**.

9.1.11. Измерить величину **оптической плотности (ОП)** растворов в лунках на спектрофотометре в двухволновом режиме: при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–655 нм. Допускается измерение при одной длине волны – 450 нм. Время между остановкой реакции и измерением ОП не должно превышать 10 минут.

9.2. Постановка в автоматическом ИФА-анализаторе открытого типа.

9.2.1. Подготовить ИФА-анализатор к работе в соответствии с инструкцией по эксплуатации.

9.2.2. Ввести в программу ИФА-анализатора протокол выполнения анализа (п. 9.1.1–9.1.11), если он не был введён и сохранён ранее.

Примечание: возможна опция спектрофотометрического контроля внесения в лунки планшета:

– исследуемых образцов – при длине волны 620 нм ОП в каждой из лунок, содержащих РС и исследуемый образец, должна быть больше 0,400;

– конъюгата – при длине волны 450 нм ОП в каждой из лунок, содержащих конъюгат, должна быть больше 0,300.

9.2.3. Приготовить промывочный раствор (п. 8.3). При подготовке компонентов необходимо

учитывать «мёртвый» объём флаконов или ёмкостей, используемых для загрузки компонентов набора в ИФА-анализатор.

9.2.4. В соответствии с инструкцией по эксплуатации ИФА-анализатора поместить в него промывочный раствор, планшет, контрольные и исследуемые образцы, ёмкости с компонентами набора. Инкубация планшет в автоматических ИФА-анализаторах проводится без заклеивания плёнкой.

9.2.5. Запустить протокол анализа в соответствии с инструкцией по эксплуатации автоматического ИФА-анализатора.

10. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ

10.1. Результаты исследований учитывать только при соблюдении следующих условий:

- значения ОП в лунках с **отрицательным** контрольным образцом (ОП K^-) не более 0,1 ($ОП K^- \leq 0,1$);
- значение ОП в лунке с **положительным** контрольным образцом (ОП K^+) не менее 1,5 ($ОП K^+ \geq 1,5$).

10.2. Вычислить **критический уровень оптической плотности** (ОП_{крит.}) по формуле:

$$ОП_{крит.} = ОП_{ср. K^-} + 0,2,$$

где: ОП_{ср. K^-} – среднее значение ОП в лунках с **отрицательным** контрольным образцом.

10.3. Для каждого исследуемого образца рассчитать **коэффициент позитивности (КП)** по формуле:

$$КП = ОП_{обр.} / ОП_{крит.},$$

где: ОП_{обр.} – ОП в лунках с исследуемыми образцами.

Если ОП K^- и/или ОП_{обр.} имеют отрицательные значения, при расчёте ОП_{крит.} и анализе результатов считать их равными нулю.

10.4. Исследуемый образец расценивают **как отрицательный**, если соответствующее ему значение КП меньше 1 ($КП < 1$).

Исследуемый образец расценивают как **положительный**, если соответствующее ему значение КП превышает или равно 1 ($КП \geq 1$).

11. ОГРАНИЧЕНИЯ ТЕСТА

11.1. Для достижения заявленных характеристик теста необходимо строгое соблюдение инструкции.

11.2. Применение теста строго ограничено обнаружением антител к ВГС в сыворотке или плазме крови человека, а также в препаратах крови (*иммуноглобулины, криопреципитат, альбумин*). Характеристики теста в отношении проб другой природы не установлены.

11.3. Антитела к белкам вируса гепатита С могут быть обнаружены в сыворотке, плазме крови у подавляющего большинства пациентов с ВГС инфекцией.

Результаты могут быть отрицательными в начале острого гепатита С (*инкубационный период колеблется от 2 до 24 недель, чаще составляет 6–8 недель*) и у пациентов с иммунодефицитом (*больные онкологическими заболеваниями, пациенты, которым проводится гемодиализ, пациенты, находящиеся на лечении препаратами с иммуносупрессивным действием и другие*). В таких случаях рекомендуется обследование с одновременным использованием серологических и молекулярно-генетических методов выявления маркеров ВГС.

После спонтанной или вызванной лечением ВГС элиминации вирусной РНК, антитела к белкам ВГС сохраняются в отсутствие РНК ВГС, но их уровень может снижаться и исчезать у некоторых людей.

11.4. Лица, у которых впервые выявлены антитела к ВГС, должны быть повторно исследованы в дубле в скрининговом тесте для исключения технической ошибки. При получении повторно положительного результата скринингового теста необходимо провести обследование на наличие РНК ВГС или Core-антигена ВГС. Диагноз острого и хронического гепатита С может быть установлен только при выявлении в сыворотке (*плазме*) крови РНК ВГС или Core-антигена ВГС, с учётом данных эпидемиологического анамнеза и результатов других клинико-лабораторных исследований [6].

11.5. Возможны различия в определении наличия антител к ВГС в наборах реагентов разных производителей, что связано с различиями в используемых антигенах, разнообразием иммунологических

реакций, возникающих у пациентов.

11.6. Отрицательный результат тестирования не исключает возможность наличия инфекции.

12. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

12.1. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться в вертикальном положении при температуре (2–8) °С в течение всего срока годности в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

12.2. Транспортировать изделия следует в вертикальном положении транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, при температуре (2–8) °С. Допускается транспортирование при температуре до 26 °С не более 10 суток.

12.3. Срок годности набора реагентов – 24 месяца со дня выпуска. Не допускается применение набора по истечении срока его годности.

12.4. При дробном использовании набора вскрытые компоненты хранить плотно закрытыми в упаковке предприятия-изготовителя в течение срока годности набора.

12.5. Для получения надёжных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

12.6. Набор предназначен для однократного применения.

12.7. Изделие не требует технического обслуживания и не подлежит ремонту.

12.8. Изделие нестерильно и не требует стерилизации.

13. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

13.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

13.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

13.3. Производитель обязуется за свой счёт заменить изделие, технические и функциональные характеристики (*потребительские свойства*) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

14. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Всемирная организация здравоохранения. Руководство ВОЗ по тестированию на гепатиты В и С [Guidelines on hepatitis B and C testing]. Женева. 2018. Лицензия: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
2. Gower E., Estes C., Blach S., Razavi-Shearer K., Razavi H. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. Journal of Hepatology. 2014(61)1: 45-57. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2014.07.027>.
3. Houghton M. The long and winding road leading to the identification of the hepatitis C virus. Journal of Hepatology. 2009(51)5: 939–948. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2009.08.004>.
4. Yamaguchi N, Tokushige K, Yamauchi K, Hayashi N. Humoral Immune Response in Japanese Acute Hepatitis Patients with Hepatitis C Virus Infection. Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology 2000;14(7):593–8. <https://doi.org/10.1155/2000/248139>.
5. Правительство Российской Федерации. Постановление №797 «Об утверждении Правил заготовки, хранения, транспортировки и клинического использования донорской крови и ее компонентов и о признании утратившими силу некоторых актов Правительства РФ». 2019.
6. Санитарные правила и нормы СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

По вопросам, касающимся качества набора «Бест анти-ВГС», обращаться в АО «Вектор-Бест» по адресу:

630117, г. Новосибирск-117, а/я 492,

тел.: (383) 252-51-62, 227-60-30;

тел./факс: (383) 252-51-81, 252-51-77;

E-mail: plkobtk@vector-best.ru

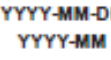
КРАТКАЯ СХЕМА АНАЛИЗА

Набор реагентов «Бест анти-ВГС»

Использовать только после внимательного ознакомления с инструкцией!

Внести:	по 60 мкл РС
Внести:	по 40 мкл К⁺, К⁻, исследуемых образцов
Инкубировать:	30 минут, (37±1) °С, 700 об/мин
Промыть:	промывочным раствором, 400 мкл, 5 раз
Внести:	по 100 мкл конъюгата
Инкубировать:	30 минут (37±1) °С, 700 об/мин
Промыть:	промывочным раствором, 400 мкл, 5 раз
Внести:	по 100 мкл раствора ТМБ лайт
Инкубировать:	25 минут, (18–26) °С или 20 минут, (37±1) °С, в темноте
Внести:	по 100 мкл стоп-реагента
Измерить:	ОП при 450 нм / референсная длина волны 620–655 нм

ГРАФИЧЕСКИЕ СИМВОЛЫ

Символ	Описание	Символ	Описание
	Номер по каталогу		Осторожно!
	Содержимого достаточно для проведения n тестов		Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>
	Код партии		Предел температуры
	Изготовитель		Дата изготовления
	Использовать до...		Обратитесь к инструкции по применению
	Дата в формате: Год-Месяц-День Год-Месяц		Не допускать воздействия солнечного света

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 210-64-44.