

# АНТИТІЛА ДО ВІРУСУ ГЕПАТИТУ С, ПІДТВЕРДЖЕННЯ

Кат. №: **LUA-EIA.CCONF.12**  
Кількість тестів: **12**

Дата випуску інструкції: **11-2019**  
Версія: **3**

**Імуноферментний аналіз (ІФА) для визначення антитіл до Вірусу Гепатиту С у плазмі та сироватці людини**

- тільки для діагностичного використання «in vitro» -

## A. ВСТУП

Вірус гепатиту С або ВГС — це РНК-вірус з оболонкою, нещодавно віднесений до родини Flaviviridae.

Геном кодує структурні компоненти, білок нуклеокапсиду та два глікопротеїни оболонки, а також функціональні компоненти, що беруть участь у реплікації вірусу та обробці білка. Ділянка, що кодує нуклеокапсид, видається найбільш консервативною серед ізолятів, отриманих у всьому світі.

На ВГС припадає приблизно 95% інфекцій гепатиту у реципієнтів, які переливали кров, і 50% випадків спорадичного гепатиту NANB. ВГС зазвичай призводить до безсимптомного гепатиту, а хронізація розвивається у великій кількості випадків, інколи розвиваючись у важких формах захворювання, як карцинома печінки.

Визначення антитіл до ВГС стало обов'язковим при скринінгу одиниць крові для профілактики посттрансфузійного гепатиту. Зараз він також використовується для спостереження за особами ризику та пацієнтами, які лікуються інтерфероном.

Перш, ніж вважати пацієнта позитивним на антитіла до ВГС, потрібно будь-який позитивний результат підтвердити у клінічній лабораторній практиці.

## B. ПРИНЦИП ТЕСТУ

Мікропланшети покриті смужками з ВГС-специфічними синтетичними антигенами, отриманими з областей «core», «ns» і «env», що кодують консервативні імунодомінантні антигенні детермінанти (Core, NS3, NS4, NS5 & Env).

Антигени адсорбуються на лунках, що утворюють смужки, наступним чином:

Позиція	Антиген	Склад
A	Немає	Лунка для бланкування
B	Казеїн	Негативний внутрішній контроль
C	Core	Специфічний синтетичний антиген
D	NS3	Специфічний синтетичний антиген
E	NS4	Специфічні синтетичні антигени
F	NS5	Специфічний синтетичний антиген
G	Env	Специфічні синтетичні антигени
H	hlgG	Позитивний внутрішній контроль

Смужку спочатку обробляють зразком, який виявився позитивним під час скринінгового аналізу. Антитіла до ВГС, якщо вони присутні, захоплюються специфічними антигенами.

Після вимивання всіх інших компонентів зразка, у 2-й інкубації зв'язані антитіла до ВГС виявляються шляхом додавання антитіла до hlgG&M, міченого пероксидазою (HRP).

Фермент, захоплений на твердій фазі, діючи на суміш субстрат/хромоген, генерує оптичний сигнал, пропорційний кількості антитіл до ВГС, присутніх у зразку.

Контролі включені для забезпечення внутрішньої перевірки аналітичної системи.

Зразок вважається позитивним, якщо присутні принаймні дві специфічні реактивності.

## C. УМОВИ ТЕСТУ ТА ПРИМІТКИ

- Усі реагенти, що містяться в наборі, призначені лише для діагностики «in vitro».
- Не використовуйте набір або реагенти після закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетках. Не змішуйте реагенти з різних партій.
- Процедури слід виконувати обережно, щоб отримати надійні результати та клінічне тлумачення.
- Доведіть усі реагенти до кімнатної температури, щонайменше за 60 хвилин до початку тестування.
- Уникайте будь-якого забруднення реагентів під час виймання їх із флаконів. Рекомендується використовувати автоматичні піпетки та

одноразові наконечники. Під час дозування реагентів не торкайтеся наконечниками стінок лунок мікропланшетів, щоб уникнути перехресного забруднення.

- Під час процедури миття використовуйте лише миючий розчин, що входить до набору, і ретельно дотримуйтеся вказівок, наведених у розділі «ІНСТРУКЦІЇ З ПРОМИВАННЯ» цієї інструкції.
- Переконайтеся, що суміш Субстрат/Хромоген не контактує з окислювачами або металевими поверхнями; уникайте будь-якого впливу світла під час етапу інкубації або підготовки реагенту. При підготовці суміші Субстрат/Хромоген для аналізу, використовуйте тільки пластикові, одноразові, чисті або стерильні контейнери.
- Зі зразками та потенційно інфекційними матеріалами слід поводитися обережно, оскільки вони можуть передавати інфекцію. Усі об'єкти, що безпосередньо контактують зі зразком та всі залишки аналізу слід утилізувати або викинути як потенційно інфекційні. Найкращими методами інактивації є обробка в автоклаві при 121°C (C°) протягом 30 хвилин або гіпохлоритом натрію в кінцевій концентрації 2.5% протягом 24 годин. Цей останній метод можна використовувати для обробки рідких відходів після того, як вони були нейтралізовані NaOH.
- Уникайте будь-якого контакту рідини зі шкірою та слизовими оболонками. Відповідно до правил безпеки, завжди використовуйте захисні непроникні рукавички, окуляри та лабораторні халати.

## D. ВМІСТ НАБОРУ

- Мікропланшет** MICROPLATE  
1 мікропланшет  
12 смужок по 8 лунок, покриті смужкою із синтетичними антигенами ВГС. Смужки знаходяться в герметичному пакеті з осушувачем і рамкою. Перед використанням доведіть смужки, необхідні для тесту, до кімнатної температури і щільно закрийте пакет, щоб запобігти утворенню вологи всередині.
- Ферментний кон'югат** CONJ  
1x16 мл (мл). Готовий до використання протеїновий буферний розчин, що містить специфічне антитіло до hlgG&M, мічене HRP. Містить протеїнові стабілізатори, 0.2 мг/мл (mg/ml) гентаміцину сульфату та 0.045% ProClin 300.
- Розчин для промивання** WASHBUF 20X  
1x60 мл (мл). 20-кратний концентрований розчин для розведення до 1200 мл (мл) водою класу ІФА. Він містить фосфатний буфер, Tween 20 та 0.045% ProClin 300 в якості консерванту. Після розведення промивний розчин зберігати протягом 1 тижня при 2-8°C (C°).
- Хромоген/Субстрат** SUBS TMB  
1x16 мл (мл). Розчин містить тетраметилбензидин (ТМБ) і перекис водню (H2O2) з активаторами і стабілізаторами, розведеними у фосфатно-цитратному буфері. Розчин готовий до використання.  
**Попередження:** зберігати в захищеному від світла місці.
- Стоп-розчин** H2SO4 0.3 M  
1x15 мл (мл) містить розчин 0.3 M H2SO4  
Увага: Викликає подразнення (H315, H319; P280, P302+P352, P332+P313, P305+P351+P338, P337+P313, P362+P363).
- Негативний контроль** CONTROL -  
1x3 мл (мл). Основа людської сироватки не реагує на антитіла до ВГС. Він містить 0.09% азиду натрію та 0.045% ProClin 300 в якості консервантів.  
Негативний контроль позначено бідо-жовтим кольором.
- Позитивний контроль** CONTROL +  
1x3 мл (мл). Основа людської сироватки високо реактивна до антитіл ВГС. Він містить 0.09% азиду натрію та 0.045% ProClin 300 в якості консервантів. Позитивний контроль позначений зеленим кольором.
- Розчинник для зразків** DILSPE  
1x20 мл (мл). Протеїновий розчин для приготування зразків. Містить миючий засіб, протеїнові стабілізатори, 0.1% азиду натрію та 0.045% ProClin 300 в якості консервантів.

**Примітка:** Усі матеріали, отримані з сироватки людини, були протестовані за допомогою наборів, схвалених FDA, та є негативними на HBsAg та антитіла до ВІЛ. Позитивний контроль був інактивованим для ВГС. У будь-якому випадку поведіться з цими компонентами як з потенційно інфекційними.

## **Е. НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ, ЯКІ НЕ ПОСТАЧАЮТЬСЯ З НАБОРОМ**

1. Відкалібровані мікродозатори зі змінним об'ємом та одноразові пластикові наконечники.
2. Вода класу ІФА (подвійно дистильована або деіонізована, оброблена деревним вугіллем, для видалення окислювальних хімікатів, що використовуються як дезінфікуючі засоби).
3. Таймер з діапазоном 60 хвилин або вище.
4. Абсорбуючі паперові серветки.
5. Відкалібрований мікропланшетний термостатичний інкубатор ІФА, налаштований на +37 °С (°C).
6. Відкалібрований мікропланшетний зчитувач ІФА з фільтрами 450 нм (nm) (зчитування) та з 620-630 нм (nm) (бланкування).
7. Відкалібрований мікропланшетний вошер ІФА.
8. Вортекс або подібні змшувальні інструменти.

## **Ф. ПОПЕРЕДЖЕННЯ ТА ЗАСТЕРЕЖЕННЯ**

1. Набором повинен користуватися лише кваліфікований та належним чином підготовлений технічний персонал під наглядом завідувача лабораторії.
2. Якщо набір використовується для підтвердження позитивних результатів, отриманих під час скринінгу одиниць крові та компонентів крові, він повинен використовуватися в лабораторії, сертифікованій та кваліфікованій національним органом у цій галузі (Міністерством охорони здоров'я чи подібною організацією) для проведення такого аналізу.
3. Весь персонал, який бере участь у проведенні аналізу, повинен носити захисний лабораторний одяг, рукавички без тальку та окуляри. Слід уникати використання будь-яких гострих (голки) або ріжучих (лез) пристроїв. Весь залучений персонал повинен бути навчений процедурі роботи з інфекційно небезпечними речовинами.
4. Весь персонал, який займається обробкою зразків, повинен бути вакцинований проти ВГВ та ВГА, для яких вакцини доступні, безпечні та ефективні.
5. Лабораторне середовище слід контролювати таким чином, щоб уникнути забруднень, таких як пил або мікроорганізми, що утворюються в повітрі, при відкритті флаконів з наборів та мікропланшетів та при проведенні тесту. Захищати Хромоген/Субстрат від дії сильного світла та уникати вібрації стола, де проводиться тестування.
6. Після отримання, зберігайте набір при температурі 2...8 °С (°C) у холодильнику з контролем температури або в холодній кімнаті.
7. Не обмінюйте компоненти між різними партіями наборів. Рекомендується, щоб замінювати компоненти між двома наборами однієї партії.
8. Переконайтеся, що реагенти прозорі та не містять видимих важких частинок або агрегатів. Якщо ні, порекомендуйте керівнику лабораторії розпочати необхідні процедури щодо заміни набору.
9. Уникайте перехресного забруднення між зразками сироватки/плазми, використовуючи одноразові наконечники та змінюючи їх після кожного зразка. Не використовуйте одноразові наконечники повторно.
10. Уникайте перехресного забруднення між реагентами набору, використовуючи одноразові наконечники та змінюючи їх після кожного зразка. Не використовуйте одноразові наконечники повторно.
11. Не використовуйте набір після закінчення терміну придатності, зазначеного на зовнішньому контейнері та внутрішніх етикетках (флаконах).
12. Розглядайте всі зразки як потенційно інфекційні. Усі зразки людської сироватки слід обробляти за Рівнем Біобезпеки 2, як рекомендовано Центром контролю захворювань, Атланта, США, відповідно до публікації Інститутів охорони здоров'я: «Біологічна безпека в мікробіологічних і біомедичних лабораторіях», ред. 1984 рік.
13. Рекомендується використовувати одноразовий пластиковий посуд для приготування рідких компонентів або для перенесення компонентів на автоматизовані робочі місця, щоб уникнути перехресного забруднення.
14. Відходи, що утворились під час використання набору, слід утилізувати відповідно до національних директив та законів, що стосуються лабораторних відходів хімічних та біологічних речовин. Зокрема, рідкі відходи, що утворилися під час процедури промивання, із залишків контролів і зразків, слід розглядати як потенційно інфекційний матеріал та інактивувати перед утилізацією. Рекомендовані процедури інактивації: обробка побутовим відбілювачем кінцевої концентрації 10% протягом 16-18 годин або теплова інактивація в автоклаві при 121°C (°C) протягом 20 хвилин.

15. Випадкові розливи із зразків і операцій слід адсорбувати паперовими серветками, змоченими побутовим відбілювачем, а потім водою. Потім серветки слід викинути у відповідні контейнери, призначені для лабораторних/лікарняних відходів.
16. Сірчана кислота є подразником. У разі розливу промити поверхню великою кількістю води.
17. Інші відходи, що утворюються внаслідок використання набору (приклад: наконечники, що використовуються для зразків та контролів, використані мікропланшети), слід обробляти як потенційно інфекційні та утилізувати відповідно до національних директив та законів, що стосуються лабораторних відходів.

## **Г. ЗРАЗКИ: ПІДГОТОВКА ТА РЕКОМЕНДАЦІЇ**

1. Кров забирається асептично шляхом венепункції, а плазма або сироватка готуються із застосуванням стандартних методик підготовки зразків для клінічного лабораторного аналізу. Ніякого впливу при приготуванні зразка з цитратом, ЕДТА та гепарином не спостерігалось.
2. Уникайте будь-якого додавання консервантів до зразків; особливо азиду натрію, оскільки ця хімічна речовина впливає на ферментативну активність кон'югату, генеруючи хибнонегативні результати.
3. Зразки повинні бути чітко ідентифіковані кодами або назвами, щоб уникнути неправильного тлумачення результатів. Якщо набір використовується для скринінгу одиниць крові, то рекомендується маркування штрих-кодом та електронне зчитування.
4. Гемолізовані (червоні) та помітно гіперліпемічні («молочні») зразки слід відкинути, оскільки вони можуть призвести до хибних результатів. Зразки, що містять залишки фібрину або важких частинок або мікробні нитки та тіла, слід відкидати, оскільки вони можуть призвести до хибних результатів.
5. Сироватку та плазму можна зберігати при +2...8 °С (°C) у пробірках для первинного забору протягом п'яти днів після забору. Не заморожуйте первинні пробірки для забору. Для більш тривалого періоду зберігання зразки сироватки та плазми можна зберігати замороженими при -20 °С (°C) щонайменше протягом 12 місяців. Будь-які заморожені зразки не слід заморожувати/розморожувати більше одного разу, оскільки це може утворити частинки, які можуть вплинути на результат тесту.
6. Якщо наявні частинки, центрифугуйте при 2000 об/хв (rpm) протягом 20 хв або фільтруйте за допомогою фільтрів 0.2-0.8μ, щоб очистити зразок для тестування.

## **Н. ПІДГОТОВКА КОМПОНЕНТІВ І ПОПЕРЕДЖЕННЯ**

Дослідження, проведені на відкритому наборі, не вказали на будь-яку суттєву втрату активності до 6 разів повторного використання набору і до 6 місяців використання.

### **Мікропланшети:**

Перед відкриттям контейнера дайте мікропланшету досягнути кімнатної температури (близько 1 години). Переконайтеся, що осушувач не набув зеленого кольору, що вказує на неправильне зберігання.

У цьому випадку зателефонуйте до служби підтримки клієнтів LABUA. Невикористані стрипи потрібно покласти назад в пакет, разом з осушувачем, щільно закрити і зберігати при +2...8 °С (°C). Після першого відкриття стрипи, що залишилися, є стабільними, поки індикатор вологості всередині пакета з осушувачем не змінить колір з жовтого на зелений.

### **Негативний контроль:**

Готовий до використання. Перед використанням добре перемішайте на вортексі.

### **Позитивний контроль:**

Готовий до використання. Перед використанням добре перемішати на вортексі. Поводитися з цим компонентом як з потенційно інфекційним, навіть якщо ВГС, який зрештою присутній у контролі, був хімічно інактивованим.

### **Концентрат буфера для промивання:**

Перед використанням, 20-кратний концентрований розчин слід розбавити водою класу ІФА до 1200 мл (ml) і обережно повністю перемішати. Оскільки у флаконі можуть бути присутні деякі кристали солі, то їх слід розчинити під час приготування розчину. У процесі приготування уникайте спінування, оскільки наявність бульбашок може вплинути на якість промивання.

**Примітка:** після розведення, розчин для промивання стабільний протягом 1 тижня при температурі +2.8 °С (°C).

#### Ферментний кон'югат:

Готовий до використання. Перед використанням добре перемішайте на вортексі.

Уникайте будь-якого забруднення рідини окислювальними хімікатами, повітряним пилом або мікробами.

Якщо цей компонент потрібно переносити, використовуйте лише пластикові, можливо, стерильні одноразові контейнери.

#### Хромоген/Субстрат:

Готовий до використання. Перед використанням добре перемішайте на вортексі.

Будьте обережні, щоб не забруднити рідину окислювальними хімікатами, повітряним пилом або мікробами.

Не надавайте впливу сильного освітлення, дії окислювачів та контакту з металевими поверхнями.

Якщо цей компонент доводиться переносити, використовуйте лише пластикову, доступну стерильну одноразову тару.

#### Сірчана кислота:

Готова до використання. Перед використанням добре перемішайте на вортексі.

**Увага:** Подразнююча речовина (H315; H319; P280; P302+P352; P332+P313; P305+P351+P338; P337+P313; P362+P363).

Легенда:

**Попереджувальні Н-фрази:**

**H315** – Викликає подразнення шкіри.

**H319** – Викликає сильне подразнення очей.

**Попереджувальні Р-фрази:**

**P280** - Одягати захисні рукавички/захисний одяг/захист очей/захист обличчя.

**P302+P352** - ПРИ ПОПАДАННІ НА ШКИРУ: Змити великою кількістю мила та води.

**P332+P313** - Якщо виникає подразнення шкіри: зверніться за медичною консультацією/допомогою.

**P305+P351+P338** - ПРИ ПОПАДАННІ В ОЧІ: Обережно промивати водою протягом декількох хвилин. Зніміть контактні лінзи, якщо вони є і це легко зробити. Продовжуйте промивання.

**P337+P313** - Якщо подразнення очей не зникає: зверніться за медичною консультацією/допомогою.

**P362+P363** - Зніміть забруднений одяг і виперіть його перед повторним використанням.

#### Розчинник для зразка:

Готовий до використання. Перед використанням добре перемішати на вортексі.

#### I. ПРИЛАДИ ТА ІНСТРУМЕНТИ, ЩО ВИКОРИСТОВУЮТЬСЯ РАЗОМ З НАБОРОМ

- Мікродозатори повинні бути відкалібровані, щоб забезпечити правильний об'єм, необхідний для аналізу, а також повинне проводитись регулярне незараження (побутовий спирт, 10% розчин відбілювача, дезінфікуючі засоби медичного призначення) тих частин, які можуть випадково контактувати зі зразком. Їх також слід регулярно обслуговувати, щоб показати точність 1% та прецизійність +/- 2%. Дезактивацію розливів або залишків компонентів комплексу також слід проводити регулярно.
- Інкубатор ІФА слід встановити на +37 °C (°C) (допускається ±0.5 °C (°C)) і регулярно перевіряти, щоб підтримувати правильну температуру. Для інкубації підходять як сухі інкубатори, так і водяні ванни, за умови, що прилад підтверджений для інкубації тестів ІФА.
- Вошер ІФА** є надзвичайно важливим для загальних показників аналізу. Вошер потрібно заздалегідь ретельно оцінити, перевірити, чи вноситься потрібний об'єм видачі, та регулярно подавати на технічне обслуговування відповідно до інструкцій виробника щодо використання. Зокрема, після закінчення щоденного навантаження вошер слід ретельно очищати від солей деіонізованою водою. Перед використанням вошер слід праймувати розведеним Промивним Розчином. Інструмент потрібно щотижня піддавати дезактивації відповідно до інструкції (рекомендовано дезактивацію NaOH 0.1 M). 5 циклів промивання (аспірація + дозування 350 мкл (μl)/лунку промивного розчину + 20 секунд замочування = 1 цикл) достатньо для забезпечення аналізу із заявленими характеристиками. Якщо замочування неможливе, додайте ще один цикл промивання. Неправильний цикл промивання або голки, забиті сіллю, є основною причиною хибнопозитивних реакцій.
- Час інкубації має допуск ± 5%.

- Зчитувач мікропланшетів ІФА повинен бути обладнаний фільтром зчитування 450 нм (nm) та другим фільтром 620-630 нм (nm), обов'язковим для бланкування. Його стандартні характеристики повинні бути (a) пропускна здатність ≤ 10 нм (nm); (b) діапазон поглинання від 0 до ≥ 2.0; (c) лінійність до ≥ 2.0; (d) повторюваність ≥ 1%. Бланкування проводиться на лунці, визначеній у розділі «Процедура аналізу». Оптичну систему зчитувача потрібно регулярно калібрувати, щоб забезпечити правильне вимірювання оптичної щільності. Її слід регулярно обслуговувати відповідно до інструкцій виробника.
- Служба підтримки клієнтів LABUA пропонує користувачам підтримку в налаштуванні та перевірці інструментів, які використовуються в поєднанні з набором, щоб забезпечити відповідність описаним вимогам. Також надається підтримка для встановлення нових інструментів, які будуть використовуватися з набором.

#### L. КОНТРОЛЬ ТА МАНІПУЛЯЦІЯ ДО ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

- Перевірте термін придатності набору, надрукований на зовнішній етикетці коробки з набором. Не використовувати, якщо термін придатності минув.
- Переконайтеся, що рідкі компоненти не забруднені видимими неозброєним оком частинками або агрегатами. Переконайтеся, що Хромоген/Субстрат безбарвний або блідо-блакитний, аспіруючи невеликий його об'єм стерильною прозорою пластиковою піпеткою. Переконайтеся, що при транспортуванні не сталося поломок і не пролито рідини всередині коробки. Переконайтеся, що алюмінієвий мішок, що містить мікропланшет, не пробитий і не пошкоджений.
- Розведіть весь вміст 20X концентрату Промивного Розчину, як описано вище.
- Дайте всім іншим компонентам досягти кімнатної температури (близько 1 години), а потім перемішайте, як описано.
- Встановіть інкубатор ІФА на +37 °C (°C) і підготуйте вошер ІФА, праймуючи його розведеним промивним розчином, відповідно до інструкцій виробника. Встановіть правильну кількість циклів промивання, як повідомляється в конкретному розділі.
- Увімкніть зчитувач ІФА принаймні за 20 хвилин до зчитування.
- Переконайтеся, що мікродозатори встановлені на необхідний об'єм.
- Перевірте, чи інше обладнання доступне та готове до використання.
- У разі виникнення проблем, не продовжуйте подальше тестування та повідомте керівника.

#### M. ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

Аналіз повинен проводитись відповідно до того, що повідомляється нижче, з обережністю, щоб підтримувати однаковий час інкубації для всіх зразків під час тестування.

1- Залишіть лунку A1 порожньою для бланкування. Розведіть 20 мкл (μl) зразка для підтвердження 1 мл (ml) розчинника (розведення 1:50). Не розводити Контролі (якщо перевірено), оскільки вони вже розведені і готові до використання!

Потім внесіть контролі та/або розведений зразок для підтвердження, кожен з них в один модуль смужки відповідно до наступної таблиці:

позиція	зразок
A	Лунка для бланкування
B	<b>100 мкл (μl)</b> контролю або розведеного зразка для підтвердження
C	<b>100 мкл (μl)</b> контролю або розведеного зразка для підтвердження
D	<b>100 мкл (μl)</b> контролю або розведеного зразка для підтвердження
E	<b>100 мкл (μl)</b> контролю або розведеного зразка для підтвердження
F	<b>100 мкл (μl)</b> контролю або розведеного зразка для підтвердження
G	<b>100 мкл (μl)</b> контролю або розведеного зразка для підтвердження
H	<b>100 мкл (μl)</b> контролю або розведеного зразка для підтвердження

Накрийте смужку плівкою та інкубуйте модуль смужки протягом **60 хв при +37°C (°C)**.

2 - Зніміть плівку з планшета та промийте модуль смужки відповідно до інструкцій.

**3** - Додайте 100 мкл (μl) кон'югату в усі лунки, крім А1. Інкубуйте герметично закритий модуль протягом **60 хвилин при +37°C (°C)**.

**4** - Зніміть герметичну плівку з планшета та промийте смужку відповідно до інструкцій. Потім додайте 100 мкл (μl) суміші Хромоген/Субстрат до всіх лунок, включаючи А1.

**5** - Інкубуйте модуль смужки протягом **20 хвилин при кімнатній температурі** в захищеному від світла місці.

**6** - Зупиніть ферментативну реакцію, додавши 100 мкл (μl) стоп-розчину до всіх лунок, включаючи А1.

Зчитайте модуль смужки при 450 нм (nm) і 620-630 нм (nm) (обов'язково), бланкуючи прилад на лунці А1.

**Важливі примітки:**

1. Переконайтеся, що перед зчитуванням, на нижній частині мікролунок немає відбитків пальців. Це може призвести до хибнопозитивних результатів при зчитуванні.
2. Зчитування повинно проводитися відразу після додавання стоп-розчину, і в будь-якому разі не довше, ніж через 20 хвилин після його додавання. Може статися деяке самоокислення хромогену, що призводить до високого фону.

**N. СХЕМА АНАЛІЗУ**

Метод	Операції
Контролі	100 мкл (μl)
Розведені зразки 1:50	100 мкл (μl)
<b>1-а інкубація</b>	<b>60 хв</b>
Температура	+37 °C (°C)
Етап промивання	5 циклів із 20 хв замочуванням АБО 6 циклів без замочування
Ферментний кон'югат	100 мкл (μl)
<b>2-а інкубація</b>	<b>60 хв</b>
Температура	+37 °C (°C)
Етап промивання	5 циклів із 20 хв замочуванням АБО 6 циклів без замочування
ТМБ/Н2О2	100 мкл (μl)
<b>3-я інкубація</b>	<b>20 хв</b>
Температура	к. т.
Сірчана кислота	100 мкл (μl)
Зчитування ОЩ	450 нм (nm)/620-630 нм (nm)

**O. ВНУТРІШНІЙ КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ**

Перевірка контролів проводиться кожного разу при використанні набору для того, щоб переконатися, що їх значення ОЩ 450 нм (nm)/620-630 нм (nm) відповідають очікуваним значенням, які наведені в таблиці нижче.

Перевірка	Вимоги
Бланк-лунка	< 0.100 значення ОЩ450 нм (nm)
Лунка Н	> 0.750 ОЩ450 нм (nm) значення після бланкування
Негативний контроль (NC)	< 0.200 ОЩ450 нм (nm) значення у лунках від В до G після бланкування
Позитивний контроль (PC)	<0.200 ОЩ450 нм (nm) значення в лунці В після бланкування >В+0.350 ОЩ450 нм (nm) у всіх лунках від С до G після бланкування

Якщо результати тесту відповідають вимогам, зазначеним вище, перейдіть до наступного розділу.

Якщо дані, наведені вище, не збігаються з правильними значеннями, перед повторним тестуванням уважно перевірте термін придатності набору, характеристики інструментів, які використовувалися для аналізу, процедуру розподілу контролів і зразків і виконайте наступні дії:

Проблема	Перевірити
<b>Бланк-лунка</b> > 0.100 ОЩ 450 нм (nm)	1. що розчин Хромогену/Субстрату не забруднився під час аналізу
<b>Негативний контроль (NC)</b> > 0.200	1. що процедура промивання та налаштування вошера є такими, як було підтверджено у передкваліфікаційній підготовці;

ОЩ 450 нм (nm) значення у лунках від В до G після бланкування	2. що був використаний належний промивний розчин і перед використанням вошер був ним заправлений; 3. що в процедурі аналізу не було допущено жодної помилки (додавання позитивного контролю замість негативного); 4. що не відбулося забруднення негативного контролю або лунок, у які він був доданий, через розливи позитивних зразків або ферментного кон'югату; 5. що мікродозатори не були забруднені позитивними зразками або ферментним кон'югатом; 6. що голки вошера не були заблоковані або частково перекриті.
<b>Позитивний контроль</b> >0.200 значення ОЩ450 нм (nm) в лунці В після бланкування <В+0.350 ОЩ450 нм (nm) в будь-якій лунці від С до G після бланкування	1. що процедура була проведена правильно; 2. що під час видачі контролів не було допущено жодної помилки (внесли негативний контроль замість позитивного). 3. що процедура промивання та налаштування вошера є такими як, було підтверджено у передкваліфікаційній підготовці; 4. що не відбулося зовнішнього забруднення позитивного контролю.
<b>Лунка Н</b> <0.750	1. що процедура була виконана правильно; 2. що не було зроблено жодної помилки при додаванні ферментного кон'югату 3. що процедура промивання та налаштування вошера є такою як, було підтверджено у передкваліфікаційній підготовці; 4. що не відбулося зовнішнього забруднення ферментного кон'югату.

Якщо виникла будь-яка із вищезазначених проблем, повідомте про це керівнику для подальших дій.

**Важлива примітка:**

Аналіз слід провести так, як описано в розділі М, пункт 8.

**P. ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ**

Якщо точність аналізу підтверджено, перегляньте наведену нижче таблицю для інтерпретації результатів.

Класифікація	Результати
<b>Негативний</b>	Лунки від С до G з ОЩ450 нм (nm) /620-630 нм (nm) < В + 0.350
<b>Хибно позитивний</b>	Лунка В з ОЩ450 нм (nm) /620-630 нм (nm) > 0.350
<b>Невизначений</b>	Одна лунка від С до G з ОЩ 450 нм (nm) /620-630 нм (nm) > В + 0.350. Лунка В повинна мати ОЩ 450 нм (nm) /620-630 нм (nm) < 0.350
<b>Позитивний</b>	Принаймні 2 лунки від С до G з ОЩ450 нм (nm) /620-630 нм (nm) > В + 0.350. Лунка В повинна мати ОЩ450 нм (nm)/620-630 нм (nm) < 0.350

**Важливі примітки:**

1. Інтерпретація результатів повинна здійснюватися під наглядом завідуючого лабораторії, щоб зменшити ризик помилок та неправильного тлумачення.
2. Коли результати тестування передаються з лабораторії до інформаційного центру, слід звернути увагу, щоб уникнути помилкової передачі даних.
3. Діагноз інфекції ВГС повинен встановлювати та повідомляти пацієнту тільки кваліфікований лікар.

**Q. РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ**

Оцінка ефективності була проведена відповідно до того, що повідомляється у Загальних технічних специфікаціях або CTS (стаття 5, глава 3 Директиви IVD 98/79/EC) для підтверджуючих/додаткових аналізів для визначення антитіл до ВГС.

**1. МЕЖА ВИЯВЛЕННЯ**

За відсутності визначеного міжнародного стандарту (нічого не зазначено в CTS для конкретного продукту) LABUA використовував робочий стандарт, наданий NIBSC, Великобританія.

Співвідношення S/Co, отримане за Британським робочим стандартом, NIBSC, код 99/588-003-WI, для трьох партій CCONF.CE, наведено в наступній таблиці:

#### Робочий стандарт NIBSC

LUA-EIA.CCONF.12 ID лоту	S / Co				
	Core	NS3	NS4	NS5	Env
0904	2.6	2.8	0.8	0.3	0.1
1104	2.9	2.6	0.6	0.2	0.1
0105	3.1	2.7	0.7	0.4	0.2

## 2. ДІАГНОСТИЧНА СПЕЦИФІЧНІСТЬ ТА ЧУТЛИВІСТЬ

Діагностичну чутливість і специфічність пристрою оцінювали під час клінічних випробувань, проведених у Hospital Universitario "La Fè" – Servicio de Microbiología, Валенсія, Іспанія, та всередині країни.

### 2.1 Діагностична специфічність

Визначається як вірогідність отримання негативного результату тесту за відсутності специфічного аналіту.

Обстежено 200 негативних випадкових донорів крові, у тому числі ті, хто здавав кров вперше, та 200 пацієнтів, госпіталізованих з патологіями, не пов'язаними з ВГС, у тому числі вагітних; виявлено 100% специфічність. Крім того, було вивчено 65 потенційно інтерферуючих зразків, що походять від пов'язаних патологій або інфекцій, і також спостерігалася 100% специфічність.

Не спостерігалася ніяких перешкод із різними методами підготовки зразків (плазма та сироватка)

### 2.2 Діагностична чутливість

Визначається як ймовірність того, що тест дасть позитивний результат у присутності певного аналіту.

Діагностична чутливість була досліджували у зовнішній оцінці ефективності на загальній кількості 300 зразків, що відображають різні стадії структури антитіл і генотипи.

298 зразків виявлено позитивними та 2 зразки були невизначеними.

Прилад показав правильну ідентифікацію зразків як позитивних або невизначених; жоден не виявився негативним, повністю відповідаючи вимогам CTS.

Крім того, 106 зразків найпоширеніших генотипів ВГС досліджено внутрішньо з результатом 100% чутливості.

Було протестовано панель із низьким титром, надана EFS, Франція, код Ас HCV партія № 01/08.03.22C/01/A. Отримано такі результати:

Зразок	Результат	Очікуваний
ВГС 1	позитивний	позитивний
ВГС2	позитивний	позитивний
ВГС 3	позитивний	позитивний
ВГС 4	позитивний	позитивний
ВГС 5	позитивний	позитивний
ВГС 6 (матриця)	негативний	негативний

Сероконверсійні панелі, надані ВВІ, США, були вивчені всередині та зовні, а також з посиланням на ліцензований пристрій, вироблений у США (дані якого взято з таблиць даних ВВІ). Результати представлені в наступній таблиці:

Панель	LUA	Набір	RIBA	З
	Невизн.	Поз.	Невизн.	Поз.
PHV 920	04/10	05/10	04/10	05/10
PHV 901	///	03/11	03/11	04/11
PHV 904	05/07	///	05/07	///
PHV 905	04/09	07/09	04/09	07/09
PHV 906	01/07	04/07	01/07	03/07
PHV 907	04/07	06/07	04/07	06/07
PHV 908	07/13	///	08/13	///
PHV 909	02/03	///	02/03	///
PHV 910	///	03/05	///	03/05
PHV 911	///	03/05	///	03/05
PHV 912	03/03	///	03/03	///
PHV 913	03/04	///	03/04	///
PHV 914	05/09	08/09	05/09	08/09
PHV 915	03/04	///	02/04	///
PHV 916	///	07/08	///	07/08
PHV 917	///	05/10	///	05/10
PHV 918	07/08	///	07/08	08/08
PHV 919	///	05/07	///	05/07

PHV 920	04/10	05/10	04/10	05/10
---------	-------	-------	-------	-------

Примітка: Результати представлені як кількість першого реактивного зразка із загальної кількості зразків.

Було протестовано та порівняно з Ortho 3.0 десять додаткових сероконверсійних панелей.

Результати представлені в таблиці нижче:

Панель	LUA	Набір	Кат. №
	Невизн.	Поз.	Поз.
MR1	///	02/05	02/05
MR2	///	02/05	02/05
MR3	///	02/05	02/05
MR4	///	02/05	04/05
MReXt1	///	05/07	05/07
MReXt2	///	04/04	04/04
MReXt3	///	06/07	06/07
MReXt4	///	04/05	04/05
MReXt5	///	03/04	03/04
MReXt6	///	03/04	03/04

Примітка: результати представлені як кількість першого реактивного зразка із загальної кількості зразків.

Для подальшої оцінки діагностичної чутливості виробу було протестовано робочу панель з кодом WWHV 301, що постачається ВВІ, США. У таблиці нижче наведено результати, отримані для аналізу на підтвердження, і значення S/Co двох референсних ІФА наборів для визначення антитіл ВГС (LUA і Ortho) у порівнянні з Riba 3 для підтвердження ВГС.

#### Панель ВВІ WWHV 301

Член №	LUA-EIA.CCONF.12 Результат	CVAB.CE S/Co	ВГС 3 S/Co	RIBA 3.0 Результат
1	поз	> 10.8	> 5.0	поз
2	поз	> 10.8	> 5.0	поз
3	поз	> 10.8	> 5.0	поз
4	поз	10.3	> 5.0	поз
5	нег	0.2	0.0	нег
6	поз	11.2	> 5.0	поз
7	поз	4.2	> 5.0	поз
8	нег	0.3	0.1	нег
9	поз	8.1	> 5.0	поз
10	поз	10.8	> 5.0	поз
11	поз	3.1	> 5.0	поз
12	поз	10.8	> 5.0	поз
13	поз	10.8	> 5.0	поз
14	поз	10.8	> 5.0	поз
15	поз	8.3	> 5.0	поз
16	поз	5.8	> 5.0	поз
17	невизн	9.5	> 5.0	невизн
18	поз	10.8	> 5.0	поз
19	поз	1.6	> 5.0	поз
20	поз	10.5	> 5.0	поз

Крім того, LUA-EIA.CCONF.12 партія №: 1104 була використана на панелі ВГС, наданій SFTS, Франція, щоб перевірити, чи здатний пристрій виявляти антитіла до всіх відомих генотипів ВГС.

ID зразка	Генотип	Реактивність	Результат LUA-EIA.CCONF.12
01	2a/2c	2	ПОЗ
02	1b	3	ПОЗ
03	2a/2c	3	ПОЗ
04	2a/2c	2	ПОЗ
05	1b	2	ПОЗ
06	1	2	ПОЗ
07	-	2/PCR -	НЕВИЗН
08	1b	2	ПОЗ
09	3	2	ПОЗ
10	3a	2	ПОЗ
11	-	Core/PCR -	НЕВИЗН
12	1a/1b	NS3/PCR +	НЕВИЗН
13	-	Core/PCR -	НЕВИЗН
14	3a	Core/PCR +	ПОЗ

15	-	2/PCR -	<b>ПОЗ</b>
16	-	2/PCR -	<b>ПОЗ</b>
17	1b	2	<b>ПОЗ</b>
18	-	NS5/PCR -	НЕГ
19	5a	3	<b>ПОЗ</b>
20	3a	Core/PCR +	<b>НЕВИЗН</b>
21	1a	2	<b>ПОЗ</b>
22	-	NS3/PCR -	НЕГ
23	1b	3	<b>ПОЗ</b>
24	2a	3	<b>ПОЗ</b>
25	1a	NS3/PCR +	<b>НЕВИЗН</b>
26	1b	3	<b>ПОЗ</b>
27	-	2/PCR -	<b>ПОЗ</b>
28	1°	3	<b>ПОЗ</b>
29	2a/2c	3	<b>ПОЗ</b>
30	3	Core/PCR +	<b>ПОЗ</b>
31	-	Neg	НЕГ
32	1b	3	<b>ПОЗ</b>
33	-	Neg	НЕГ
34	-	Neg	НЕГ
35	1a	NS3/PCR +	<b>НЕВИЗН</b>
36	+	# 1 at 1:200	<b>НЕВИЗН</b>
37	+	# 2 at 1:400	<b>НЕВИЗН</b>
38	1b	3	<b>ПОЗ</b>
39	1b	2	<b>ПОЗ</b>
40	-	Core/PCR -	<b>НЕВИЗН</b>
41	-	NS3/PCR -	<b>НЕВИЗН</b>
42	-	NS3/PCR -	НЕГ
43	4	3	<b>ПОЗ</b>
44	-	2/PCR -	<b>ПОЗ</b>
45	-	2/PCR -	НЕГ
46	-	2/PCR -	<b>НЕВИЗН</b>
47	-	2/PCR -	<b>НЕВИЗН</b>
48	-	3/PCR -	<b>ПОЗ</b>
49	-	Core/PCR-	<b>ПОЗ</b>
50	-	2/PCR -	<b>НЕВИЗН</b>

Вся продукція IVD, вироблена компанією, перебуває під контролем сертифікованої Системи управління якістю, схваленої Уповноваженим органом з оцінки відповідності. Кожна партія проходить контроль якості та випускається на ринок лише за умови відповідності технічним регламентам та критеріям прийнятності.



**ВИРОБНИК:**

ТОВ «ЛАБЮЕЙ»  
вул. Петлюри, будинок 25  
м. Івано-Франківськ, 76018, Україна,  
Тел.: +38 (067) 000-20-22  
Електронна адреса: [info@labua.com.ua](mailto:info@labua.com.ua)



UA.TR.116

**2.3 Точність**

Негативний і позитивний контроль використовували для перевірки цього параметра, шляхом тестування 12 повторів того самого зразка на трьох партіях продукту.

Результати одного лоту наведені нижче.

Негативний контроль

Значення	Середнє значення ОЩ	КВ %
(Бланк-лунка)	0.001	0.0
Казеїн	0.012	15.7
CORE	0.031	18.8
NS3	0.036	16.3
NS4	0.146	11.3
NS5	0.039	11.8
ENV	0.039	12.4

Позитивний контроль

Значення	Середнє значення ОЩ	КВ %
(Бланк-лунка)	0.001	0.0
Казеїн	0.041	11.4
CORE	3.973	0.6
NS3	3.981	0.0
NS4	3.981	0.0
NS5	2.646	3.6
ENV	1.067	8.0

**Р. ОБМЕЖЕННЯ**

З Оцінки продуктивності не виявлено жодних обмежень.  
Щодо зразків і методів забору зразків дивитися розділ G.

**Важлива примітка:**

Дані продуктивності були отримані в процесі читання, описаному в розділі M, пункт б.