

# Murex anti-HCV (версия 4.0)

**Тест-система для определения антител к вирусу гепатита С (HCV) в сыворотке или плазме крови человека методом иммуноферментного анализа**

Отдел по работе с клиентами

Для получения дополнительной информации необходимо связаться с отделом по работе с клиентами в Вашей стране.

Перед использованием медицинского изделия следует внимательно ознакомиться с данной инструкцией по применению и строго соблюдать все указанные в ней требования. Надежность результатов анализа не может быть гарантирована при наличии каких-либо отклонений от инструкции по применению

IVD

## Расшифровка используемых символов

|   |               |   |   |
|---|---------------|---|---|
|  | Артикул       |  | Медицинское изделие для диагностики <i>In Vitro</i> |
|  | Номер серии   |  | Хранить при 2-8 °C                                  |
|  | Срок годности |  | ВНИМАНИЕ: см. сопроводительную документацию         |
|  | Производитель |  | См. инструкцию по применению                        |
|   |               |  | Хранить вдали от солнечного света                   |

Подробное разъяснение символов, используемых в названиях компонентов реагентов, приведено в разделе «РЕАГЕНТЫ».

## ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

«Murex anti-HCV (версия 4.0)» – это тест-система для определения антител к вирусу гепатита С (HCV) в сыворотке или плазме крови человека методом иммуноферментного анализа. Позволяет осуществить максимально раннюю диагностику вирусного гепатита С в рамках скрининга образцов крови и в клинических лабораториях.

## ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ ОБ АНАЛИЗЕ

Вирус гепатита С (HCV) в настоящее время признан основной причиной гепатита «ни А, ни В», связанного с переливанием крови.<sup>1</sup> HCV представляет собой вирус, содержащий одноцепочечную молекулу РНК положительной полярности, имеющий структурное сходство с представителями рода *Flavivirus* и *Pestivirus*<sup>2,3</sup> и распространённый по всему миру. Хотя инфекция HCV в острой стадии обычно проявляется в мягкой форме, и только у 10-25% пациентов развивается желтуха, у более 50% инфицированных развивается хронический гепатит, что грозит серьёзными и потенциально опасными для жизни осложнениями, такими как цирроз печени и гепатоцеллюлярная карцинома.<sup>4, 5</sup> Частота случаев наличия HCV у доноров крови во всем мире варьируется от 0,5 до 8%,<sup>6</sup> хотя с повышением чувствительности и специфичности диагностических тестов и качества отбора доноров наблюдается уменьшение этого показателя. Данные свидетельствуют о заболеваемости на уровне 0,1-1,5% в Европе и 0,6% в США.<sup>7</sup>

Диагностика HCV обычно основана на прямом обнаружении вирусной РНК методом ПЦР или на выявлении антител к HCV. Для анализа на антитела к HCV используется технология рекомбинантной ДНК, нацеленная на структурные и неструктурные белки РНК HCV. Технология анализов на антитела к HCV эволюционировала от тест-систем первого поколения, охватывающих только белок NS4, до продукции третьего поколения, включающих ядро (структурный вариант), протеазу/хеликазу NS3 (неструктурный вариант), NS4 (неструктурный вариант) и репликазу белка NS5 (неструктурный вариант). По данным исследований тест-системы третьего поколения демонстрируют значительно более высокую чувствительность, в частности, повышенную способность к реакции по NS3-антигену и более раннее выявление сероконверсии.<sup>8</sup>

В анализе «Murex anti-HCV (версия 4.0)» используются антигены из ядра, NS3, NS4 и NS5 участки вируса. Данные антигены были отобраны самым тщательным образом, чтобы обеспечить чувствительность и специфичность диагностического теста.

## ПРИНЦИП ПРОЦЕДУРЫ

При работе с «Murex anti-HCV (версия 4.0)» разведенный образец инкубируют в микролунках, покрытых высокоочищенными антигенами, которые содержат последовательности из ядра, участков NS3, NS4 и NS5 вируса гепатита С. В ходе первой инкубации все антитела к HCV в образце связываются с иммобилизованными антигенами. После промывки для удаления несвязанного материала захваченные антитела к HCV инкубируют с конъюгированным с пероксидазой моноклональным антителом к IgG человека. В ходе второй инкубации конъюгат связывается с антителом, иммобилизованным на первом этапе. После удаления избытка конъюгата выявляют связанный фермент путем добавления раствора, содержащего 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин (ТМБ) и пероксид водорода. Лунки, в которых содержится образцы, демонстрирующие реакцию по HCV, становятся фиолетовыми.

Реакцию фермента останавливают серной кислотой, что дает оранжевый цвет, который считывается фотометрически. Количество связанного конъюгата и, следовательно, интенсивность цвета в лунках напрямую связаны с концентрацией антитела в образце.

## РЕАГЕНТЫ

ОПИСАНИЕ, ПОДГОТОВКА К ИСПОЛЬЗОВАНИЮ И РЕКОМЕНДУЕМЫЕ УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ

См. также «Предупреждения и меры предосторожности».



Все компоненты необходимо хранить при 2-8 °С, если не указано иное, для поддержания их в надлежащем состоянии вплоть до истечения срока годности реагентов.

### COATED WELLS 1. Покрытые лунки

Один планшет (7F5156) или пять планшетов (7F5157), каждый из которых состоит из 96 микролунок, покрытых очищенными антигенами HCV.

Оставьте лунки до достижения 18-30 °С, прежде чем вынуть их из пакета. Если используется не весь планшет, запечатайте неиспользованные тест-полоски в оригинальном пакете из фольги или в пластиковом пакете с защелкой, поставленном вместе с влагопоглотителем, и поместите на хранение при 2-8 °С на срок до 6 месяцев после первого открывания.

### SAMPLE DIL 2. Разбавитель образца

Один флакон 20 мл (7F5156) или один флакон 100 мл (7F5157) с буфером, содержащим белки бычьего происхождения. Содержит 0,05% Bronidox® и 0,1% азид натрия в качестве консервантов.

### CONTROL - 3. Отрицательный контроль

Один флакон, содержащий 0,8 мл сыворотки крови человека с показателями в пределах нормы, разведенной в буферном растворе с белком бычьего происхождения. Содержит 0,05% консервант Bronidox®.

### CONTROL + 4. Положительный контроль (антитела к HCV)

Один флакон, содержащий 0,6 мл инактивированной сыворотки крови человека, содержащей антитела к HCV, разведенной в буферном растворе с белком бычьего происхождения. Содержит 0,05% консервант Bronidox®.

### CONJUGATE DIL 5. Разбавитель конъюгата

Один флакон (7F5156) или три флакона (7F5157), содержащие 20 мл буферного раствора с неорганическими солями и бычьим белком. Содержит 0,05% консервант Bronidox®.

### CONJUGATE 6. Конъюгат

Один флакон (7F5156) или три флакона (7F5157), каждый из которых содержит лиофилизированное меченное пероксидазой хрена мышинное моноклональное антитело к IgG человека в основе из бычьего белка в объеме, достаточном для проведения 192 тестов.

Восстановите конъюгат минимум за 15 минут до использования, чтобы обеспечить полное растворение. Доведите флакон разбавителя конъюгата до комнатной температуры. Аккуратно постучите флаконом с конъюгатом по лабораторному столу, чтобы отделить материал, прилипший к резиновой пробке. Осторожно снимите пробку и вылейте разбавитель конъюгата во флакон. Закройте крышкой и дайте постоять, периодически взбалтывая и переворачивая.

После восстановления храните при температуре 2-8 °С максимум 7 дней или в замороженном виде (-15 °С или ниже) в аликвотах до шести месяцев. Восстановленный конъюгат можно заморозить/разморозить до четырех раз. Хранить вдали от солнечных лучей.

SUBSTRATE DIL

**7. Разбавитель субстрата**

Один флакон, содержащий 35 мл бесцветного раствора тринатрий цитрата и пероксида водорода.

SUBSTRATE CONC

**8. Концентрат субстрата**

Один флакон, содержащий 35 мл 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин (ТМБ) и стабилизаторы в розовом растворе.

**Раствор субстрата**

Для приготовления раствора субстрата добавьте объем бесцветного разбавителя субстрата к равному объему розового концентрата субстрата в чистом стеклянном или пластиковом сосуде. **Важно следовать этому порядку добавления. Кроме того, необходимо, чтобы все пипетки и стеклянная тара, используемые для приготовления раствора субстрата, были чистыми.**

В качестве альтернативы раствор субстрата может быть приготовлен путем выливания всего содержимого флакона разбавителя субстрата во флакон концентрата субстрата. Один флакон раствора субстрата обеспечивает количество реагента, достаточное минимум для пяти планшетов – см. Таблицу 1.

**Таблица 1: необходимый объем концентрата и разбавителя субстрата**

| Количество лунок                            | Кол-во планшетов |
|---|------------------|
| 8 16 24 32 40 48 56 64 72 80 88             | 1 2 3 4          |
| Концентрат субстрата (мл)                   |                  |
| 1,0 1,5 2,0 2,5 2,5 3,0 3,5 4,0 4,5 4,5 5,0 | 6 12 18 22       |
| Разбавитель субстрата (мл)                  |                  |
| 1,0 1,5 2,0 2,5 2,5 3,0 3,5 4,0 4,5 4,5 5,0 | 6 12 18 22       |

Для использования с автоматизированными системами может потребоваться дополнительный реагент. Хранить вдали от естественного и искусственного света. Раствор субстрата должен быть розового цвета; если он фиолетовый перед использованием, его следует отправить в отходы и приготовить свежий раствор субстрата.

Приготовленный раствор субстрата из этого набора можно использовать взаимозаменяемо с раствором из всех остальных наборов Murex, в которых применяется концентрат субстрата розового цвета. Убедитесь, что раствор субстрата приготовлен из разбавителя субстрата и концентрата субстрата, поставляемых вместе.

Приготовленный раствор субстрата стабилен при хранении в холодильнике (2-8 °C) или при температуре 15-25 °C до двух дней, но при образовании в нем кристаллов, раствор следует отправить в отходы.

**9. Промывочная жидкость**

WASH FLUID

Один (7F5156) или два флакона (7F5157), содержащие 125 мл 20-кратной промывочной жидкости с глицином/боратом. Содержит 0,2% консервант Bronidox®.

Добавьте один объем концентрата промывочной жидкости к 19 объемам дистиллированной или деионизированной воды, чтобы получить необходимый объем, или разбавьте все содержимое одного флакона промывочной жидкости до конечного объема 2500 мл. В концентрате промывочной жидкости могут наблюдаться кристаллы, но они растворяются при разбавлении промывочной жидкости до рабочей концентрации. При разбавлении в промывочной жидкости остается 0,01% консервант Bronidox®.

Промывочная жидкость из этого набора может использоваться взаимозаменяемо с промывочной жидкостью с глицином/боратом из любого другого набора Murex.

Храните рабочую промывочную жидкость при температуре 18-30 °C в закрытом сосуде. В этом случае жидкость будет оставаться пригодной в течение месяца.

**ПРИМЕЧАНИЕ.** При хранении промывочная жидкость может приобретать желтый цвет. Это не влияет на эффективность анализа, если полностью аспирировать ее из лунок.

**ПРИМЕЧАНИЕ.** Хотя раствор субстрата и промывочная жидкость являются взаимозаменяемыми, их нельзя использовать по истечении срока годности, указанного на этикетках компонентов.

**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ**

IVD

Реагенты предназначены только для диагностики *in vitro*. Только для профессионального использования.

Информация о потенциально опасных компонентах приведена в паспорте безопасности производителя и на этикетках продукции.

**ИНФОРМАЦИЯ О ЗДОРОВЬЕ И БЕЗОПАСНОСТИ**

**ВНИМАНИЕ:** реагенты содержат компоненты человеческого происхождения.

Сыворотка крови человека, использованная при производстве, прошла скрининг и продемонстрировала реакцию или отсутствие реакции по анализам (см. Таблицу 2)

**Таблица 2**

| Компонент              | Реакция        | Отсутствие реакции                      |
|------------------------|----------------|---|
| Отрицательный контроль | Не применимо   | Антитела к HCV, ВИЧ (тип 1 и 2) и HBsAg |
| Положительный контроль | Антитела к HCV | HBsAg и антитела к ВИЧ (тип 1 и 2)      |

Все применяемые сыворотки, демонстрирующие реакцию, были инактивированы перед использованием в подготовке реагентов. Тем не менее, все материалы человеческого происхождения следует рассматривать как потенциально инфекционные, и рекомендуется обращаться с данными реагентами и испытуемыми образцами в рамках установленной надлежащей лабораторной практики.

В соответствии с Регламентом ЕС 1272/2008 (CLP) опасные реагенты классифицируются и маркируются следующим образом:

| РЕАГЕНТЫ:                  | WASH  | FLUID | Промывочная жидкость |
|----------------------------|---|-------|----------------------|
| СИГНАЛЬНОЕ СЛОВО:          | EUN210 Паспорт безопасности предоставляется по запросу. |       |                      |
| СИМВОЛЫ/ ПИКТОГРАММЫ:      | ---   |       |                      |
| ЗАЯВЛЕНИЯ ОБ ОПАСНОСТИ:    | ---   |       |                      |
| ПРЕДУПРЕЖДАЮЩИЕ ЗАЯВЛЕНИЯ: | ---   |       |                      |
| СОДЕРЖИТ:                  | ---   |       |                      |

| РЕАГЕНТЫ:                  | SUBSTRATE  | CONC | Концентрат субстрата |
|----------------------------|--|------|----------------------|
| СИГНАЛЬНОЕ СЛОВО:          | Осторожно  |      |                      |
| СИМВОЛЫ/ ПИКТОГРАММЫ:      |  |      |                      |
| ЗАЯВЛЕНИЯ ОБ ОПАСНОСТИ:    | H319 Вызывает серьезное раздражение глаз.  |      |                      |
| ПРЕДУПРЕЖДАЮЩИЕ ЗАЯВЛЕНИЯ: | ---  |      |                      |
| СОДЕРЖИТ:                  | P264 Тщательно мыть руки после работы.<br>P280 Пользоваться защитными перчатками / защитной одеждой / средствами защиты глаз / лица.<br>P305 + P351 + P338 ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: тщательно промыть водой в течение нескольких минут. Снимите контактные линзы, если они надеты, и их легко снять. Продолжайте промывание. |      |                      |

| РЕАГЕНТЫ:                  | SAMPLE  | DIL | Разбавитель образца |
|----------------------------|---|-----|---------------------|
| СИГНАЛЬНОЕ СЛОВО:          | ---   |     |                     |
| СИМВОЛЫ/ ПИКТОГРАММЫ:      | ---   |     |                     |
| ЗАЯВЛЕНИЯ ОБ ОПАСНОСТИ:    | EUN032 При контакте с кислотами выделяется очень токсичный газ. |     |                     |
| ПРЕДУПРЕЖДАЮЩИЕ ЗАЯВЛЕНИЯ: | ---   |     |                     |
| СОДЕРЖИТ:                  | ---   |     |                     |

|                            |  |
|----------------------------|--|
| РЕАГЕНТЫ:                  | CONTROL +  Положительный контроль |
| СИГНАЛЬНОЕ СЛОВО:          | EUN210 паспорт безопасности предоставляется по запросу.  |
| СИМВОЛЫ/ ПИКТОГРАММЫ:      | ---  |
| ЗАЯВЛЕНИЯ ОБ ОПАСНОСТИ:    | ---  |
| ПРЕДУПРЕЖДАЮЩИЕ ЗАЯВЛЕНИЯ: | ---  |
| СОДЕРЖИТ:                  | ---  |

Дополнительная информация приведена в паспортах безопасности на сайте [www.diasorin.com](http://www.diasorin.com).

1. Потенциально загрязненные материалы следует безопасно утилизировать в соответствии с требованиями местного законодательства.
2. При разливе потенциально инфекционного материала его необходимо немедленно удалить бумажной салфеткой, а загрязненную область промыть, например, 1,0% гипохлоритом натрия, прежде чем продолжить работу.<sup>9</sup> Гипохлорит натрия не следует использовать при разливе материалов, содержащих кислоты, за исключением случаев, когда область разлива сначала вытирают насухо. Материалы, используемые для удаления разлившегося реагента, включая перчатки, следует утилизировать как потенциально биологически опасные отходы. Не автоклавируйте материалы, содержащие гипохлорит натрия.
3. Нейтрализованные кислоты и другие жидкие отходы следует обеззараживать, добавляя достаточный объем гипохлорита натрия для получения конечной концентрации не менее 1,0%. Для обеспечения эффективного обеззараживания может потребоваться 30-минутное воздействие 1,0% гипохлорита натрия.
4. Не набирайте ртом. Надевайте одноразовые перчатки и защитные очки при работе с образцами и проведении анализа. Тщательно вымойте руки по завершении работы.
5. Следующие реагенты содержат низкие концентрации вредных веществ:
  - а) Разбавитель образца содержит сапонин и очистители.
6. Серная кислота в составе стоп-раствора и хлористоводородная кислота, используемая для мытья стеклянной посуды, являются разъедающими материалами, с которыми следует обращаться крайне осторожно. При попадании на кожу или в глаза тщательно промойте водой.
7. Если какой-либо из реагентов попал на кожу или в глаза, тщательно промойте участок водой.

#### МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ АНАЛИЗЕ

1. Не используйте реагенты по истечении установленного срока годности. Следует избегать микробиологического загрязнения реагентов, так как это может сократить срок службы продукции и привести к получению ошибочных результатов.
2. Не меняйте **Процедуру анализа** и не заменяйте реактивы на реагенты других производителей или другие серии, за исключением случаев, когда предусмотрено, что данный реагент является взаимозаменяемым. Не сокращайте рекомендуемое время инкубации.
3. Перед использованием оставьте все реагенты и образцы для достижения ими температуры 18-30 °С. Сразу после использования верните все реагенты к рекомендуемой температуре хранения.
4. Стеклянная посуда, используемая с реагентами, должна быть тщательно промыта 2 М хлористоводородной кислотой, а затем дистиллированной водой или деионизированной водой высокого качества.
5. Избегайте использования морозильников с саморазмораживанием для хранения реагентов и образцов.
6. Не подвергайте реагенты воздействию яркого света или парам гипохлорита во время хранения или инкубации.
7. Не позволяйте лункам высыхать во время процедуры анализа.
8. Не допускайте перекрестного загрязнения реагентов. Выделите пипетку для использования с субстратным раствором анализов Mughex. Также должна быть выделена пипетка для использования с конъюгатом.
9. Не прикасайтесь краю лунки с конъюгатом и не брызгайте на нее. Не следует выдувать из микропипеток; по возможности рекомендуется обратное пипетирование.
10. Прежде чем считать данные с планшета, убедитесь, что дно планшета чистое и сухое, и на поверхности жидкости нет пузырьков.
11. Не допускайте попадания в микролунки частичек одноразовых перчаток.
12. При использовании полностью автоматизированных устройств для обработки микропланшетов:
  - і) Нет необходимости использовать крышки для планшетов и высушивать лунки.

- ii) Не допускайте загрязнение образцов или реагентов системными жидкостями полностью автоматизированных устройств для обработки микропланшетов.
  - iii) Возможность перекрестного загрязнения между анализами должна быть исключена при валидации анализов на полностью автоматизированных устройствах.
13. Необходимо учитывать возможность перекрестного загрязнения между анализами при валидации анализов на автоматизированных устройствах для обработки микропланшетов.
  14. Убедитесь, что анализ проводится при температуре, определенной в протоколе анализа.
  15. Не используйте CO<sub>2</sub>-инкубаторы.
  16. Не храните стоп-раствор в мелкой посуде и не возвращайте его во флакон после использования.
  17. Важно тщательно перемешивать образцы и контроли с разбавителем образца. Невыполнение этого требования может привести к ошибочным результатам. Надлежащее перемешивание может быть достигнуто путем:
    - а) Перемешивания вручную с помощью пипетки (вверх и вниз) минимум четыре раза при добавлении образцов или контролей.
    - б) Помещения планшета в шейкер для микропланшетов со скоростью 800 об/мин на 30 секунд.
 Пользователи автоматических дозаторов образцов могут посчитать удобным добавить в лунки по 90 мкл разбавителя образца, затем 20 мкл образца, а затем оставшиеся 90 мкл разбавителя образца. Эта процедура обеспечит надлежащее перемешивание.
  18. Возможность перекрестного загрязнения между анализами должна быть исключена при валидации протоколов анализа на приборах.

#### ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВКА И ХРАНЕНИЕ ОБРАЗЦОВ ВЗЯТИЕ ОБРАЗЦОВ

Можно использовать образцы сыворотки, плазмы с ЭДТА, гепарином или цитратной плазмы. Кровь, полученная с помощью венопункции, должна быть коагулирована естественным образом. Убедитесь, что образцы сыворотки полностью коагулированы. Удалите все видимые частицы из образца с помощью центрифугирования.

Если образцы готовятся с использованием жидких антикоагулянтов, например, цитратной плазмы, следует учитывать эффект разбавления.

#### ТРАНСПОРТИРОВКА И ХРАНЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Храните образцы при температуре 2-8 °С. Образцы, не требующиеся для анализа в течение семи дней, следует извлечь из сгустка или клеточного осадка и хранить в замороженном виде (-15 °С или ниже). Избегайте многократных циклов замораживания-оттаивания. После оттаивания убедитесь, что образцы тщательно перемешаны перед анализом.

#### ПРОЦЕДУРА

##### ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, КОТОРЫЕ НЕ ВХОДЯТ В СОСТАВ ПОСТАВКИ

1. **Стоп-раствор (серная кислота: 0,5-2 М)**, например, добавить от 3 мл (для 0,5 М) до 11 мл (для 2,0 М) концентрированной серной кислоты аналитического качества (18,0 М) к примерно 80 мл дистиллированной или деионизированной воды и затем довести водой до объема 100 мл. В качестве альтернативы можно использовать следующий реагент: **1N серная кислота, код N0165 (1 флакон) или код N0164 (15 флаконов)**.
2. **Свежая дистиллированная или высококачественная деионизированная вода** необходима для разбавления промывочной жидкости, для приготовления стоп-раствора и для использования в сочетании с автоматизированными промывателями.
3. **Микропипетки и многоканальные микропипетки** нужного объема.
4. **Инкубатор (термостат)**, способный поддерживать температуру, определенную в протоколе анализа.
5. **Формованный нагревательный блок** (код 5F09-02). Для использования в лабораторных инкубаторах. Формованный нагревательный блок в идеале должен храниться в используемом инкубаторе. Если это невозможно, его следует поместить в инкубатор как минимум за четыре часа до начала анализа.
6. **Устройство**
  - а) Устройство для автоматической промывки микропланшетов.
  - б) Устройство для считывания микропланшетов; или
  - в) Полностью автоматизированное устройство для обработки микропланшетов.
 Все устройства должны пройти валидацию перед использованием. Свяжитесь с представителем в вашем регионе для получения подробной информации о рекомендуемых системах, протоколах программного обеспечения приборов и процедурах валидации.
7. **Одноразовые лотки для реагентов.** (Код 5F24-01).
8. **Гипохлорит натрия** для обеззараживания. (См. Информацию о здоровье и безопасности).

#### ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

Внимательно прочитайте раздел «Меры предосторожности при анализе» перед выполнением анализа. Добавление различных реагентов в лунки может быть подтверждено визуально при проверке на наличие следующих цветов:

**Разбавитель образца** зеленого/коричневого цвета. При добавлении образца или контроля разбавитель станет синим/зеленым. Изменение цвета будет варьироваться в зависимости от образца, но обязательно должно быть заметно.

**Конъюгат** – коричневый.

**Раствор субстрата** изначально розовый и во всех положительных лунках становящийся фиолетовым. При добавлении **стоп-раствора** фиолетовый цвет положительных лунок меняется на оранжевый, а отрицательные остаются розовыми.

Добавление **образца** или реагента может быть подтверждено с помощью считывающего устройства для микропланшетов следующим образом: разбавитель образца плюс **образец**, считанный при 620 или 570 нм (референсная длина волны 690 нм), конъюгат при 410 нм (референсная длина волны 690 нм), раствор субстрата при 490 нм (нет референсной длины).

#### ПОЛУАВТОМАТИЧЕСКИЕ УСТРОЙСТВА

- Шаг 1** Восстановите конъюгат **разбавителем конъюгата**, приготовьте **раствор субстрата** и разбавьте **промывочную жидкость**.
- Шаг 2** Используйте только необходимое для теста **количество тест-полосок**.
- Шаг 3** **Добавьте** по 180 мкл **разбавителя образца** в каждую лунку. **180 мкл**
- Шаг 4** **Добавьте** по 20 мкл **образцов** или **контролей** в лунки. **20 мкл**
- При использовании двух тест-полосок или менее пипетируйте один отрицательный контроль в лунку A1 и один положительный контроль в лунку B1. Если используется более двух тест-полосок, для надежности рекомендуется заполнять отрицательным контролем две лунки.
- Добавьте контроли в предназначенные для них лунки на каждом планшете после добавления **образцов**. Использование белого фона поможет визуализировать добавление **образцов**. Необходимо тщательно перемешать **образцы** и контроли с разбавителем образца.
- Шаг 5** Накройте лунки и **инкубируйте** в течение часа при **37 °C ± 1 °C**. **1 час**
- Шаг 6** По завершении инкубации **промойте** планшет, как описано в разделе «**Процедуры промывки**».
- Шаг 7** Сразу же после промывки планшета **добавьте** по 100 мкл **конъюгата** в каждую лунку. **100 мкл**
- Шаг 8** Накройте лунки крышкой и **инкубируйте** в течение 30 минут при **37 °C ± 1 °C**. **30 мин**
- Шаг 9** По завершении инкубации **промойте** планшет, как описано в разделе «**Процедуры промывки**».
- Шаг 10** Сразу после промывки планшета **добавьте** по 100 мкл **раствора субстрата** в каждую лунку. **100 мкл**
- Шаг 11** Накройте лунки крышкой и **инкубируйте** точно 30 минут при **37 °C ± 1 °C**, пока вырабатывается цвет. Храните вдали от прямых солнечных лучей. Лунки с **образцом, демонстрирующим реакцию**, должны стать фиолетовыми. **30 мин**
- Шаг 12** **Добавьте** по 50 мкл **стоп-раствора** (серную кислоту 0,5-2 M) в каждую лунку. **50 мкл**
- Шаг 13** В течение 15 минут **считайте** оптическую плотность при 450 нм, используя волны 620-690 нм в качестве референсной длины волны при наличии. **450 нм**  
Проведите холостой цикл на приборе (без планшета в каретке).

#### ПРОЦЕДУРЫ ПРОМЫВКИ

Протоколы по рекомендуемым промывателям и процедуры проверки промывателей и анализаторов можно получить у представителя в вашем регионе. Рекомендуется следующий протокол:

##### a) Протокол по автоматизированному промывателю микропланшетов

Выполните 5 циклов промывки с использованием рабочей промывочной жидкости. По возможности обеспечьте следующие условия:

- При работе с приборами, поставляемыми DiaSorin, осуществляется проточная промывка с объемом заполнения 500 мкл на лунку. При использовании других приборов, по которым этот вариант не возможен, убедитесь, что лунка заполнена полностью.
- Уровень заполнения устанавливается таким образом, чтобы полностью заполнить лунку без переливания.
- Время, необходимое для завершения одного цикла аспирации/промывки/замачивания, составляет около 30 секунд.
- Убедитесь, что в лунке не осталось жидкости (по возможности осуществляйте двухэтапную аспирацию в последнем цикле).
- После завершения промывки переверните планшет и вытряхните остатки промывочной жидкости на впитывающую бумагу.

**ПРИМЕЧАНИЕ:** не допускайте высыхания лунок во время процедуры анализа. Во избежание засорения и коррозии необходимо ополаскивать промыватели дистиллированной водой по завершении анализа.

#### ПОЛНОСТЬЮ АВТОМАТИЗИРОВАННЫЕ УСТРОЙСТВА ДЛЯ ОБРАБОТКИ МИКРОПЛАНШЕТОВ

Свяжитесь с представителем компании для получения подробной информации об имеющихся протоколах, прошедших валидацию. В отношении приборов, по которым нет данных протоколов, рекомендуется следующее:

- По первой инкубации может быть запрограммировано время инкубации от 60 до 70 минут (или 65 +/- 5 минут).
- По 30-минутной инкубации может быть запрограммировано время инкубации от 30 до 35 минут (или 32,5 +/- 2,5 минуты).
- Необходимо обеспечить соблюдение «**Мер предосторожности при анализе**». Протоколы, составленные в соответствии с этими рекомендациями, должны перед использованием пройти валидацию в полном объеме в соответствии с местными процедурами.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ

##### РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

При расчете и интерпретации результатов анализа каждый планшет должен учитываться отдельно.

Для расчета и интерпретации результатов может использоваться утвержденное программное обеспечение.

##### Отрицательный контроль

При использовании двух отрицательных контролей необходимо рассчитывать среднее значение. Например:

$$\begin{aligned} \text{Лунка 1} &= 0,086, \text{ Лунка 2} = 0,094, \\ \text{Итого} &= 0,180 \\ \text{Среднее} &= 0,180/2 = 0,090 \end{aligned}$$

Не используйте значения отрицательного контроля > 0,25.

##### Значение отсечения

Рассчитайте значение отсечения, добавив 0,6 либо к показателю по отрицательному контролю, либо к среднему значению по двум отрицательным контролям (см. выше).

Пример:

$$\begin{aligned} \text{Среднее значение по отрицательным контролям} &= 0,090 \\ \text{Значение отсечения} &= 0,090 + 0,600 = 0,690 \end{aligned}$$

##### КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Результаты анализа действительны, если соблюдены следующие критерии контроля:

##### Отрицательный контроль

Средняя оптическая плотность составляет менее 0,25.

##### Положительный контроль

Оптическая плотность (ОП) более чем на 0,8 выше среднего показателя ОП отрицательного контроля.

Анализы, которые не соответствуют этим критериям, следует повторить.

Маловероятно, что при повторных анализах результаты не будут соответствовать ни критериям контроля качества, ни ожидаемым характеристикам теста. Если наблюдается данное несоответствие, обратитесь к представителю компании.

#### ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

##### Нет реакции

**Образцы**, демонстрирующие оптическую плотность ниже значения отсечения, считаются отрицательными в рамках анализа.

##### Имеется реакция

**Образцы**, демонстрирующие оптическую плотность  $\geq$  значения отсечения, считаются изначально реактивными в рамках анализа. Следует **повторно** провести анализ таких **образцов** в двух экземплярах с использованием исходного источника. **Образцы**, которые демонстрируют реакцию, по меньшей мере, в одном из **повторных испытаний**, считаются повторно реактивными и содержащими антитела к HCV. Если местные процедуры не предусматривают иное, необходимо дополнительное исследование данных **образцов**.

##### СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Рабочие характеристики «Murex anti-HCV (версия 4.0)» определялись путем тестирования **образцов** от произвольно выбранных доноров крови, пациентов с подтвержденным антителами к HCV, больных, чьи заболевания были связанными и не связанными с HCV.

Кроме того, оценивались рабочие характеристики имеющихся в продаже сероконверсионных панелей.

##### 1. Образцы от доноров

В общей сложности был проведен скрининг 8835 рутинных донорских **образцов** с помощью «Murex anti-HCV (версия 4.0)» в Европе и Австралии.

В исследовании 99,82% (8819/8835) **образцов** были неактивными, 0,18% (16/8835) были изначально реактивными и 0,12% (11/8835) повторно реактивными. Ни один из повторно реактивных **образцов** не был подтвержден как положительный на наличие антител к HCV.

Специфичность «Murex anti-HCV (версия 4.0)» для этой популяции предположительно отрицательных **образцов** оценивается в 99,88% (8824/8835) с 95% доверительным интервалом на уровне от 99,77% (8815/8835) до 99,94% (8830/8835) при биномиальном распределении.

## 2 Клинические образцы

В общей сложности 69 образцов с антителами к HCV, подтвержденные альтернативным иммуноанализом, Ortho RIBA3 и/или Вестерн-блоттингом, были реактивными по «Murex anti-HCV (версия 4.0)».

В общей сложности 27 имеющихся в продаже сероконверсионных панелей HCV также были протестированы с «Murex anti-HCV (версия 4.0)». Сравнение с альтернативным имеющимся в продаже иммуноанализом для обнаружения антител к HCV показало, что с помощью «Murex anti-HCV (версия 4.0)» антитела были обнаружены на два взятия крови ранее по четырем панелям, на одно взятие ранее по трем панелям, на одно взятие позже по трем панелям и при том же взятии по 17 панелям.

Кроме того, с «Murex anti-HCV (версия 4.0)» было протестировано 873 потенциально перекрестно-реактивных образцов от пациентов с заболеваниями, не связанными с HCV, включая другие острые вирусные инфекции, антенатальные, липемические, желтушные и гемолизированные образцы. В общей сложности 869 из этих образцов были нереактивными с «Murex anti-HCV (версия 4.0)», остальные четыре образца включали два с неопределенными результатами по тесту Ortho RIBA3.

## 3 Воспроизводимость анализа

Для определения воспроизводимости «Murex anti-HCV (версия 4.0)» в рамках десяти анализов с использованием двух серий было протестировано пять дублирующих проб каждого из четырех образцов. Результаты исследования приведены в Таблицах 3 и 4.

Таблица 3

«Murex anti-HCV (версия 4.0)» – воспроизводимость анализа, серия 1

| Образец | Кол-во анализов | Средняя оптич. плотность/ знач. отсечения | Внутри анализа % CV | Между анализами % CV |
|---------|-----------------|---|---------------------|----------------------|
| 1       | 10              | 4,03                                      | 2,9                 | 3,9                  |
| 2       | 10              | 3,9                                       | 4,6                 | 5,2                  |
| 3       | 10              | 2,33                                      | 3,1                 | 6,9                  |
| 4       | 10              | 0,14                                      | 3,9                 | 10,2                 |

Таблица 4

«Murex anti-HCV (версия 4.0)» – воспроизводимость анализа, серия 2

| Образец | Кол-во анализов | Средняя оптич. плотность/ знач. отсечения | Внутри анализа % CV | Между анализами % CV |
|---------|-----------------|---|---------------------|----------------------|
| 1       | 10              | 3,22                                      | 6,5                 | 9,1                  |
| 2       | 10              | 3,14                                      | 7,2                 | 9,2                  |
| 3       | 10              | 1,69                                      | 5,2                 | 9,5                  |
| 4       | 10              | 0,13                                      | 4,0                 | 8,4                  |

## ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

1. Необходимо соблюдать правила **Процедуры анализа и Интерпретации результатов**.
2. Данный анализ оценивали только в отношении использования с отдельными (не объединенными в пулы) образцами сыворотки, плазмы с ЭДТА, гепарином или цитратной плазмы.
3. **Отрицательный результат** теста на обнаружение антитела не исключает возможного наличия инфекции.
4. Неповторяющиеся положительные результаты могут быть получены с помощью любой процедуры ИФА.
5. Наиболее распространенными источниками ошибок являются:
  - a) Неточная подача образца, конъюгата или субстрата в лунки.
  - b) Загрязнение субстрата конъюгатом.
  - c) Загрязнение конъюгатами из других анализов.
  - d) Заблокированные или частично заблокированные датчики промывателя.
  - e) Недостаточная аспирация, после которой остается небольшое количество промывочной жидкости в лунках.
  - f) Недостаточная чистота и сухость нижней поверхности лунок и наличие пузырьков воздуха на поверхности жидкости в лунках до считывания с планшета.
  - g) Невозможность считывания при правильной длине волны или использование неправильной референсной длины волны.
6. Использование значительно гемолизированных образцов, не полностью коагулированной сыворотки крови, образцов плазмы, содержащих фибрин, или образцов с микробной контаминацией может привести к получению ошибочных результатов.
7. Данный анализ не оценивался в отношении использования с образцами трупного материала.

Также см. «Меры предосторожности при анализе».

## БИБЛИОГРАФИЯ

1. Choo, Q.L., Kuo, G., et al., (1989). Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A non-B viral hepatitis genome. *Science* 244, 359.
2. Miller, R.H. and Purcell, R.H. (1990). Hepatitis C virus shares amino acid sequence similarity with pestiviruses and flaviviruses as well as two plant virus supergroups. *Proc Natl Acad Sci* 87, 2057.
3. Weiner, A.J., Brauer, M.J. et al., (1991). Variable and hypervariable domains are found in the regions of HCV corresponding to the flavivirus envelope and NS1 proteins and the pestivirus envelope glycoproteins. *Virology* 180, 842.
4. Jove, J., Sanchez Tapias, J.M. et al., (1990). Post-transfusional vs. sporadic non-A, non-B chronic hepatitis. A clinicopathological and evolutive study. *Liver*, 8, 42.
5. Hopf, U., Möller, B. et al., (1990). Long term follow up of post transfusion and sporadic chronic hepatitis non-A, non-B and frequency of circulating antibodies to hepatitis C virus (HCV). *Hepatology*, 10, 69.
6. Conroy Cantilena, C. (1997). Hepatitis C virus diagnostics: technology, clinical applications and impacts. *Trends Biotech* 15, 71.
7. Botte, C. Janot, C. (1996). Epidemiology of HCV infection in the general population and in blood transfusion. *Nephrol Dial Transplant* 11 (Suppl 4), 19.
8. Courouge, A.M. (1998). Development of screening and confirmation tests for antibodies to Hepatitis C virus. Reesink, H.W. (ed) Hepatitis C virus – *Curr Stud Hematol Blood Transfus*. 62, 64, Basel, Karger.
9. Centres for Disease Control. (1985). Recommendations for preventing transmission of infection with human T-lymphotropic virus type III / lymphadenopathy-associated virus in the workplace. *MMWR*, 34, No. 45, 681.

Bronidox® не является товарным знаком компании «DiaSorin»



DiaSorin S.p.A. филиал в  
Великобритании  
Сентрал Роуд  
Дартфорд, DA1 5LR  
Великобритания



DiaSorin S.p.A.  
Виа Крещентино снс  
13040 Салуджа (ВЧ)  
Италия

D12DS47GB

Октябрь 2019 г.