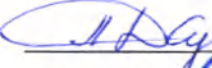


«УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»

 М.Д. Хусанов
«01» марта 2022 г.



ИНСТРУКЦИЯ

**по применению набора реагентов для иммунохемилюминесцентного
выявления иммуноглобулинов классов G и M к вирусу гепатита С
для автоматического ИХЛА-анализатора «Люминит»
(Анти-ВГС-Люминит)**

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для иммунохемилюминесцентного выявления иммуноглобулинов классов G и M к вирусу гепатита С для автоматического ИХЛА-анализатора «Люминит» (Анти-ВГС – Люминит) (далее по тексту – набор) предназначен для качественного определения иммуноглобулинов классов G и M к вирусу гепатита С в сыворотке и плазме крови человека методом иммунохемилюминесцентного анализа (ИХЛА) на микрочастицах с использованием анализатора иммунохемилюминесцентного автоматического «Люминит» (Luminite) с принадлежностями.

Набор может быть использован как вспомогательное средство диагностики гепатита С, а также для скрининга, включая скрининг доноров крови и её компонентов, тканей и органов.

1.2. Набор рассчитан на проведение анализа 108 образцов, включая калибровочный и контрольные образцы.

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]. Распространенность 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

Инструкция составлена сотрудниками АО «Вектор-Бест»: директором НИИ СД М.Ю. Рукавишниковым, директором по производству В.К. Ткачевым, нач. отделения ИФА гепатита С О.Н. Ястребовой или лабораторию иммунолюминесцентного анализа А.С. Сальниковым.

фови. В настоящее время серологические методы используют для выявления антител к ВГС аналогичных 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 в большинстве случаев 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 твердофазном иммунохемилюминесцентном анализе с применением рекомбинантных антигенов. Во время первой инкубации, при наличии в исследуемых образцах антител к ВГС, они связываются с рекомбинантными антигенами, иммобилизованными на поверхности магнитных микрочастиц. Во время второй инкубации пероксидазный конъюгат антител к IgG и IgM человека связывается с антителами, иммобилизованными в ходе первой инкубации. При добавлении хемилюминесцентного субстратного раствора в реакционной кювете происходит эмиссия фотонов. Интенсивность люминесценции пропорциональна содержанию иммуноглобулинов классов G и M к ВГС в анализируемом образце. Результаты ИХЛА регистрируют измерением интенсивности люминесценции в реакционной кювете.

3.2. Состав набора

Компонент набора (сокращение)		Кол-во
<i>Описание</i>		
Штатив с двухмерным штрих-кодом с реагентами:		
Микрочастицы с антигенами ВГС <i>Магнитные микрочастицы с иммобилизованными рекомбинантными антигенами ВГС. Содержит ProClin 150 (0,05%).</i>	1 фл., 3,7 мл	2 шт.
Калибровочный образец (КО)* <i>Содержит антитела к ВГС. Содержит натрия азид (0,1%).</i>	2 фл. по 2,5 мл	
Конъюгат <i>Конъюгат антител к IgG и IgM человека с пероксидазой хрена. Содержит фенол (0,1%), ProClin 150 (0,022%), натрия мертиолят (0,01%).</i>	1 фл., 6,0 мл	
Раствор для разведения образцов (РО) <i>Содержит ProClin 300 (0,0005%).</i>	1 фл., 20,0 мл	
Отрицательный контрольный образец (К⁻) <i>Не содержит антитела к ВГС. Содержит натрия азид (0,1%).</i>		2 проб. по 1,0 мл

Положительный контрольный образец (K⁺) Содержит антитела к ВГС. Содержит натрия азид (0,1%).	2 проб. по 1,0 мл
--	-------------------------

*аттестован относительно калибраторов набора реагентов «Elecsys Anti-HCV II Elecsys and cobas e analyzers/A-HCV II», Roche Diagnostics GmbH, Германия, РЗН 2021/13992 от 12.04.2021.

4. ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ И АНАЛИТИЧЕСКИЕ 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 «Анти-ВГС-Люминит» в период сероконверсии оценивалась путем тестирования 2 коммерческих сероконверсионных панелей.

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

Из 5 образцов плазмы крови, забранных у инфицированного ВГС пациента в течение 33 дней, 1 образец определен набором «Анти-ВГС-Люминит» как положительный (Таблица 1).

Таблица 1

№ образца	Дата забора крови	Анти-ВГС-Люминит	Информация из паспорта к панели			
			ANTI-HCV ABBOTT Architect	Roche Cobas e411 HCV Ab	Siemens Ensygnost Anti-HCV 4.0	HCV MPX Qualitativ Roche Cobas 6800/8800
			Коэффициент позитивности (КП)			
1	06.03.2012	0,000	0,10	0,07	0,02	пол.
2	13.03.2012	0,000	0,08	0,07	0,03	пол.
3	15.03.2012	0,000	0,09	0,07	0,02	пол.
4	02.04.2012	0,624	0,19	0,85	0,25	пол.
5	07.04.2012	21,962	1,16	1,06	1,96	пол.

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.

Из 5 образцов плазмы крови, забранных у инфицированного ВГС пациента в течение 103 дней, 3 образца определены набором «Анти-ВГС-Люминит» как положительные (Таблица 2).

Таблица 2

№ образ- ца	Дата за- бора крови	Анти-ВГС- Люминит	ABBOTT ANTI- HCV	ORTHO ECi ANTI- HCV	ALPHA HCV by PCR
		Коэффициент позитивности (КП)			
10235-01	01/09/98	0,000	0,185	0,04	отр.
10235-02	01/11/98	0,005	0,222	0,04	отр.
10235-03	04/15/98	92,476	2,778	20,1	пол.
10235-04	04/20/98	111,599	7,074	21,1	пол.
10235-05	04/22/98	110,196	7,037	21,1	пол.

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 180 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 Эпштейна-Барр, вирусу кори, вирусу эндемического паротита, вирусу клещевого энцефалита, 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 – гемоглобин в концентрации до 2 мг/мл, билирубин в концентрации до 0,4 мг/мл, триглицериды в концентрации до 30 мг/мл, общий белок в концентрации до 150 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 следующие образцы: три положительных с разной степенью позитивности, а также контрольные образцы, входящие в состав набора.

Воспроизводимость внутри постановки оценивалась по 16 повторам каждого образца.

Воспроизводимость между постановками оценивалась в течение 5 дней, по 4 постановки в день (с интервалом не менее 2 часов) с использованием 4 повторов каждого образца. Среднее значение коэффициентов позитивности (КПср), стандартное отклонение, коэффициенты вариации при

Таблица 3

№№ образца	Воспроизводимость					
	в пределах постановки n= 16			между постановками n= 80 (5×4×4)		
	КПср	Стандартное отклонение	Коэффициент вариации, %	КПср	Стандартное отклонение	Коэффициент вариации, %
1	3,3	0,184	5,6	2,9	0,302	10,4
2	6,8	0,502	7,4	5,6	0,754	13,5
3	11,1	0,777	7,0	10,5	1,428	13,6
K ⁻	0,005	0,003	н/п	0,007	0,020	н/п
K ⁺	140,8	20,150	14,3	142,3	20,917	14,7

н/п – не показательно ввиду очень низкого значения КП.

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. 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, калибровочным и контрольными образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом. Основные правила работы изложены в «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР 17 января 1991 г.

5.5. При использовании набора образуются отходы классов А, Б, В и Г, 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».

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- Анализатор иммунохемилюминесцентный автоматический «Люминит» (Luminite) с принадлежностями (далее по тексту – анализатор);
- пластиковые пробирки для образцов в тех случаях, когда имеющаяся пробирка не удовлетворяет соответствующим требованиям (см. Руководство по эксплуатации анализатора);
- холодильник бытовой;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

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 натрия и 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. Объем образца должен быть достаточен для проведения иммунохемилюминесцентного анализа с учетом «мертвого» объема 200 – 400 мкл (см. Руководство по эксплуатации анализатора).

8. ОБРАЩЕНИЕ С РЕАГЕНТАМИ

При использовании набора необходимо строгое соблюдение данной инструкции по применению, иначе надёжность получаемых результатов не может быть гарантирована.

8.1. Набор с реагентами хранить только в вертикальном положении!

8.2. Не извлекайте флаконы с реагентами из штатива, в который они установлены, не переставляйте флаконы из одного штатива в другой.

8.3. После установки штатива с реагентами на борт анализатора не извлекайте штатив до завершения его полного использования, иначе его дальнейшее применение станет невозможным. Хранение реагентов после первого использования возможно только на борту анализатора не более 30 дней. Срок годности реагентов на борту анализатора контролируется автоматически.

8.4. Пробирки с контрольными образцами K^+ , K^- сразу после проведения процедуры контроля необходимо извлечь из штатива для проб, закрыть и хранить в холодильнике при температуре (2–8) °C до следующего использования. Срок хранения контрольных образцов после первого вскрытия – не более 30 дней.

9. КАЛИБРОВКА И КОНТРОЛЬ

9.1. При первом использовании каждого штатива с реагентами автоматически выполняется процедура калибровки. Повторная калибровка осуществляется на 16 день хранения штатива с реагентами на борту анализатора, если он не был за это время полностью использован. Кроме того, калибровка может быть обновлена в любой момент по требованию.

Калибровка — это коррекция значения интенсивности люминесценции дискриминационного уровня (cut-off) с учетом результатов анализа калибровочного образца (КО), входящего в состав набора, исследованного в дубле. Необходимые для проведения калибровки параметры считываются со штрих-кода штатива с реагентами.

9.2. После калибровки необходимо выполнить анализ контрольных образцов K^+ и K^- , входящих в состав набора. Полученные для контрольных образцов значения интенсивностей люминесценции должны соответствовать заданным диапазонам значений, указанным в штрих-коде штатива с реагентами и в паспорте на используемую серию набора. Только при получении удовлетворительных значений контрольных образцов K^+ и K^- можно анализировать исследуемые образцы.

9.3. В дальнейшем контроль с использованием K^+ и K^- должен проводиться в начале каждого 24-часового цикла использования теста. Если значение хотя бы одного из контрольных образцов не соответствует заданному диапазону значений, необходимо повторить процедуру калибровки и контроля.

10. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

10.1. Подготовить анализатор иммунохемилюминесцентный автоматический «Люминит» (Luminite) с принадлежностями (анализатор) к работе в соответствии с Руководством по эксплуатации анализатора.

10.2. Установить штатив с реагентами на борт анализатора, не открывая флаконы. Перемешивание микрочастиц перед использованием происходит автоматически.

10.3. Пробирки с контрольными образцами K^- , K^+ открыть и поместить в штатив для проб.

10.4. Пробирки с исследуемыми образцами открыть и поместить в штативы для проб. Минимально требуемый объем образца равен 50 мкл на одно измерение плюс «мертвый» объем (см. п. 7.5.).

10.5. Установить штативы для проб в соответствующее отделение анализатора.

10.6. Идентификация исследуемых образцов, штатива с реагентами и контрольных образцов осуществляется анализатором путем считывания соответствующих штрих-кодов. Допускается внесение информации об исследуемых образцах вручную.

10.7. Запуск теста осуществлять в соответствии с Руководством по эксплуатации анализатора.

11. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ

11.1. Анализатор автоматически производит расчёт коэффициента позитивности образца ($KP_{обр}$) как соотношения интенсивности люминесценции исследуемого образца ($I_{обр.}$) и дискриминационного уровня люминесценции ($I_{cut-off}$): $KP_{обр} = I_{обр} / I_{cut-off}$

11.2. Результат считается положительным, если $KP_{обр} \geq 1$.

Результат считается отрицательным, если $KP_{обр} < 1$.

11.3. Образцы с первично положительным результатом требуют повторного тестирования.

12. ОГРАНИЧЕНИЯ ТЕСТА

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

12.2. Применение теста строго ограничено обнаружением антител к ВГС в сыворотке или плазме крови человека. Характеристики теста в отношении проб другой природы не установлены.

12.3. Антитела к белкам вируса гепатита С могут быть обнаружены в сыворотке, плазме крови человека 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.

12.4. Лица, у которых впервые выявлены антитела к ВГС, подлежат обследованию 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 учетом данных эпидемиологического анамнеза и результатов других клинико-лабораторных исследований.

12.5. 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.

12.6. Отрицательный результат тестирования не исключает возможность наличия инфекции.

13. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

13.1. 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.

13.2. 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.

13.3. Срок годности набора реагентов – 12 месяцев со дня выпуска. Не допускается применение наборов по истечении срока их годности.

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

13.5. Набор предназначен для однократного применения.

14. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

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

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

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

14.3. Производитель обязуется за свой счет 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.

15. 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):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):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 «Анти-ВГС-Люминит» 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

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

Нач. лаборатории
иммунолюминесцентного
анализа НИИ СД
АО «Вектор-Бест»

А.С. Сальников

Нач. отделения
ИФА гепатита С
АО «Вектор-Бест»

О.Н. Ястребова

Директор по производству
АО «Вектор-Бест»

В.К. Ткачев

Директор НИИ СД
АО «Вектор-Бест»

М.Ю. Рукавишников

«СОГЛАСОВАНО»
Проректор по научной работе
ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России
м.п.



Т.И. Поспелова



Пропиновано, пронумеровано и
скреплено печатью 10 листов.

Отв. за учет договоров НИР ФГБОУ ВО НГМУ
Минздрава России

Захарова Л.Н.

“01” апреля 2022 г.

