



Vitrotest[®]

Vitrotest Anti-HCV Different

Імуноферментна тест-система для диференційного виявлення антитіл до антигенів вірусу гепатиту С

Інструкція з використання

1. Призначення
2. Клінічне значення
3. Принцип аналізу
4. Матеріали та обладнання
5. Застереження та техніка безпеки
6. Зберігання та стабільність
7. Підготовка зразків
8. Підготовка реагентів
9. Процедура аналізу
10. Облік результатів та їх інтерпретація
11. Діагностичні характеристики тесту
12. Обмеження аналізу

Література

Умовні позначення

IVD

Для in vitro діагностики

REF

TK044

«Vitrotest Anti-HCV Different»
Імуноферментна тест-система для диференційного виявлення антитіл до антигенів вірусу гепатиту С

1. Призначення

Імуноферментна тест-система «Vitrotest Anti-HCV Different» призначена для диференційного виявлення антитіл до антигенів вірусу гепатиту С – Core, NS3, NS4, NS5 у сироватці чи плазмі крові людини.

Тест-набір може бути застосований як для проведення ІФА з використанням автоматичних піпеток та стандартного обладнання, так і для постановки на автоматичному імуноферментному аналізаторі відкритого типу.

2. Клінічне значення

За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, близько 150 мільйонів людей хронічно інфіковані вірусом гепатиту С, і щорічно більше 350 тисяч осіб вмирають від пов'язаних з гепатитом С хвороб печінки. При гепатиті С вражається переважно печінка. Захворювання може мати гострий або хронічний перебіг, при цьому найчастіше протікає без виражених симптомів. Однак, хронізація інфекції призводить до цирозу печінки та розвитку гепатоцелюлярної карциноми.

Збудником захворювання є вірус гепатиту С (ВГС) – маленький вкритий оболонкою вірус (50 нм в діаметрі), що містить одноланцюгову РНК, відноситься до родини флавівірусів. В складі геному ВГС виділяють зони, що кодують структурні та неструктурні білки. До структурних антигенів вірусу належать нуклеокапсидний білок – core та два білки зовнішньої оболонки – E1 і E2. Неструктурні білки представлені комплексом білків з ферментативною активністю – NS2, NS3, NS4a, NS4b, NS5a та NS5b. У відповідь на інфікування вірусом в організмі людини продукуються специфічні антитіла до всіх білків вірусу.

Сучасна лабораторна діагностика гепатиту С базується на виявленні специфічних маркерів інфікування ВГС: антигенів вірусу, антитіл до вірусних білків та РНК вірусу в біологічних рідинах організму. На сьогоднішній день з метою первинної діагностики вірусного гепатиту С та тестування донорської крові переважно застосовують імуноферментний аналіз для виявлення специфічних до ВГС антитіл. Також виявлення антитіл до ВГС є інформативним для диференційної діагностики гострого та хронічного гепатиту С, а також з метою контролю ефективності противірусної терапії.

Найбільш раннім маркером ВГС-інфекції є вірусна РНК, яка виявляється в крові інфікованого через 2-6 тижнів від моменту інфікування. Через один-два тижні у крові виявляється core антиген вірусу гепатиту С. На 6-8 тижні організмом продукуються специфічні антитіла класу IgM. Як при гострому так і при хронічному гепатиті С ці антитіла можуть виявлятися тривалий час і являються маркером активної вірусної реплікації. При гострому гепатиті С IgM специфічні антитіла виявляються у більшості хворих. Низькі титри анти-ВГС IgM антитіл виявляються у 50-80% випадків хронічного гепатиту С, у цих пацієнтів виявлено кореляцію анти-ВГС IgM та біохімічних маркерів захворювання печінки.

В більш ранні строки виявляються IgG антитіла до білків core (c22) та NS3 (c33). У більшості інфікованих першими починають з'являтися антитіла до епітопів білків core та NS3, і лише пізніше (через 20-22 тижні після інфікування) до NS4. Окрім того, інтенсивність продукції антитіл до білку NS4 у деяких генотипів ВГС нижче, в той же час кількість антитіл до білків core та NS3 висока для всіх генотипів.

На сьогоднішній день в тест-системах для скринінгу донорської крові використовуються рекомбінантні білки core, NS3, NS4 та NS5.

3. Принцип аналізу

Диференційне визначення антитіл до окремих антигенів вірусу гепатиту С в тест-системі «Vitrotest Anti-HCV Different» базується на принципі «непрямого» твердофазного імуноферментного аналізу.

Твердою фазою в тест-системі є стрипований ІФА-планшет з попередньо засорбованими в окремих лунках рекомбінантними антигенами вірусу гепатиту С – Core, NS3, NS4 та NS5. Під час інкубації досліджуваних зразків в лунках ІФА-планшета відбувається зв'язування специфічних до ВГС антитіл з рекомбінантними білками Core, NS3, NS4 та NS5 на твердій фазі. Після відмивання незв'язаних компонентів в лунки додається суміш кон'югатів антивидових (анти-IgG та анти-IgM) моноклональних антитіл з пероксидазою хрому, що зв'язується з імунними комплексами на твердій фазі. Незв'язані компоненти відмиваються. Візуалізація утворених імунних комплексів відбувається при внесенні в лунки розчину хромогену 3,3',5,5'-тетраметилбензидину (ТМБ). В результаті реакції розчин в лунках, де утворилися імунні комплекси, забарвлюється в синій колір. Реакція зупиняється додаванням стоп-реагенту, при цьому синій колір забарвлених лунок змінюється на жовтий. Результат аналізу визначається на спектрофотометрі при довжині хвилі 450/620 нм.

4. Матеріали та обладнання

4.1 Склад набору

ІФА-планшет – 12 стрипів по 8 лунок (з можливістю відокремлення лунок), з іммобілізованими рекомбінантними антигенами вірусу гепатиту С – Core (стрипи 1, 5 та 9, промарковані чорним), NS3 (стрипи 2, 6 та 10, промарковані зеленим), NS4 (стрипи 3, 7 та 11, промарковані синім) та NS5 (стрипи 4, 8 та 12, промарковані червоним).

Позитивний контроль – 1 мікропробірка, що містить 1 мл розчину імуноглобулінів людини, специфічних до вірусу гепатиту С з консервантами (рожевий).

Негативний контроль – 1 мікропробірка, що містить 1 мл негативної сироватки крові людини з консервантом (жовтий).

Розчин для розведення сироваток РРС – 1 флакон, що містить 12 мл буферного розчину з екстрактом молока, детергентом та консервантами (коричнево-зелений).

Розчин кон'югату РК – 1 флакон, що містить 12 мл буферного розчину суміші пероксидазних кон'югатів моноклональних антитіл до IgG та IgM людини із стабілізаторами та консервантом (зелений). Готовий до використання.

Розчин ТМБ – 1 флакон, що містить 12 мл розчину ТМБ і перекису водню з стабілізатором та консервантом (безбарвний).

Розчин для промивання Tr100 (20x) – 1 флакон, що містить 50 мл 20-ти кратного концентрату фосфатного буферу з Тритоном Х100 (безбарвний).

Стоп-реагент – 1 флакон, що містить 12 мл розчину 0,5 М сірчаної кислоти (безбарвний).

Клейка плівка – 2 аркуша плівки для заклеювання планшетів під час інкубації.

Бланк внесення проб – 1 аркуш для запису схеми внесення зразків.

Інструкція – 1 екземпляр інструкції з використання.

4.2 Додаткові реактиви, матеріали та обладнання

Для постановки аналізу необхідні такі додаткові реактиви, матеріали та обладнання:

- деіонізована або дистильована вода;
- фільтрувальний папір;
- мірні циліндри на 10, 200 та 1000 мл;
- одноразові рукавички;
- розчин перекису водню 6%;
- одноразовий або чистий посуд для приготування реактивів (флакони та ванночки);
- таймер;
- одно- та багатоканальні автоматичні піпетки змінного об'єму на 20, 200 та 1000 мкл та наконечники до них;
- термостат на 37°C;
- контейнер для твердих відходів;
- контейнер для рідких відходів;
- ¹автоматичний або напівавтоматичний промивач планшетів (вошер);
- ²одно- або багатоканальний спектрофотометр (рідер) для мікропланшетів на 450/620-695 нм.

^{1,2}Будь ласка, проконсультуйтеся з нами щодо адаптації Вашого обладнання.

5. Застереження та техніка безпеки

5.1. Застереження:

– не використовуйте компоненти тест-системи після закінчення строку придатності;
– не використовуйте під час аналізу та не змішуйте компоненти різних серій та компоненти із тест-систем різних нозологій;

– не використовуйте реактиви інших виробників у поєднанні з наборами Vitrotest™;

Примітка: Розчин для промивання Tr100 (20x), Розчин ТМБ та Стоп-реагент допускається використовувати інших серій, які відрізняються від тих, що вкладені до тест-набору. Ці реактиви використовуються в інших тест-системах виробництва ТОВ „ІВК „Рамінтек“. Будь ласка, проконсультуйтеся з нами для отримання детальної інформації.

- після використання реагенту закривайте кожен флакон своєю кришкою;
- чітко дотримуйтеся режиму промивання планшетів, вказаного в пунктах інструкції;
- під час промивання контролюйте наповнення та повну аспірацію розчину з лунок;
- кожного разу використовуйте новий наконечник піпетки для внесення зразків або реагентів;
- уникайте потрапляння прямих сонячних променів на реактиви тест-системи;
- розчин ТМБ має бути безбарвним або світло блакитним перед використанням, якщо розчин забарвлений в синій або жовтий колір, його не можна використовувати. Уникайте контакту розчину ТМБ з металами або іонами металів. Для роботи використовуйте лише чистий, ретельно виполосканий дистильованою водою посуд;
- ні в якому разі не використовуйте один й той же посуд для розчину кон'югату та хромогену.

5.2. Техніка безпеки:

- всі реактиви набору призначені лише для in vitro діагностики;
- постановку аналізу проводити лише у гумових рукавичках;
- не піпетувати розчини ротом;
- позитивним контролем тест-системи «Vitrotest Anti-HCV Different» є розчин імуноглобулінів людини, специфічних до вірусу гепатиту С, які були виділені з інактивованої прогріванням сироватки крові людини, в якій не було виявлено HBsAg та антитіл до ВІЛ 1/2, *Treponema pallidum*, однак працювати із контролем слід як із потенційно інфекційним матеріалом;

– негативний контроль тест-системи «Vitrotest Anti-HCV Different» протестовано та знайдено негативним на антитіла до ВІЛ1/2, ВГС, Треронема pallidum та HBsAg, однак поводитись із контролями та досліджуваними сироватками слід як із потенційно небезпечним інфекційним матеріалом;

– рідкі відходи слід інактивувати, наприклад, розчином перекису водню у кінцевій концентрації 6% упродовж 3 годин при кімнатній температурі, або гіпохлоритом натрію у кінцевій концентрації 5% протягом 30 хвилин, або іншими дезінфікуючими агентами;

– тверді відходи слід інактивувати шляхом автоклавування при 121°C упродовж 1 години;

– не автоклауйте розчини, що містять азид натрію або гіпохлорит натрію;

– слід уникати розбризкування розчинів ТМБ та стоп-реагенту, а також їх контакту із слизовими оболонками та шкірою;

– у разі розбризкування розчинів, що не містять кислоти, наприклад, сироваток, обробити поверхню 6%-м перекисом водню, а потім витерти насухо фільтрувальним папером.

6. Зберігання та стабільність

Реагенти тест-системи стабільні протягом строку придатності вказаного на етикетці, якщо їх зберігати при 2-8°C.

Транспортувати набір при температурі 2-8°C. Допускається одноразове транспортування при температурі не вище 20°C протягом двох діб.

7. Підготовка зразків

Зразки сироватки чи плазми крові можна зберігати при температурі 2-8°C не більше 3 діб після забору. Допускається більш тривале зберігання зразків замороженими при температурі від -20 до -70°C. Заморожені зразки перед використанням розморожують та витримують при кімнатній температурі упродовж 30 хвилин. Після розморожування зразки слід перемішати задля досягнення однорідності. Уникайте повторного заморожування-відтаювання досліджуваних зразків. У разі помутніння сироватки (чи плазми) звільняються від нерозчинних включень центрифугуванням при 3000 об./хв. протягом 10-15 хвилин. Не використовуйте зразки сироваток із вираженою ліпідемією, гемолізом, а також бактерійним проростом.

8. Підготовка реагентів

Дуже важливо витримати всі реагенти тест-системи «Vitrotest Anti-HCV Different» при кімнатній температурі 18-25°C протягом 30 хвилин перед використанням.

8.1. Підготовка ІФА-планшета

Для попередження конденсації води в лунках відкривайте ІФА-планшет лише після витримання 30 хвилин при кімнатній температурі. Розкрийте вакуумну упаковку, відокремте необхідну кількість лунок, а решту відразу ж ретельно упакуйте та **зберігайте щільно закритим на замок (zip-lock)** при температурі 2-8°C. Зберігання в такий спосіб упакованого планшета забезпечує його стабільність протягом 3 місяців.

8.2. Розчин для промивання

Флакон містить 50 мл 20х концентрату буферу з детергентом. Для приготування розчину для промивання розведіть концентрат 1:20 (тобто, 1+19) дистильованою або деіонізованою водою, потім перемішайте. Наприклад: на 4 мл концентрату – 76 мл дистильованої води, що достатньо для одного стрипу. У випадку наявності кристалів в концентраті розчину для промивання прогрійте флакон при 37°C протягом 15-20 хвилин.

Розведений розчин можна зберігати при температурі 2-8°C не більше 7 діб.

9. Процедура аналізу

9.1. Підготувати необхідну кількість стрипів для аналізу (по чотири лунки для кожного досліджуваного зразка та контролів), вставити їх в рамку ІФА-планшета.

Рекомбінантні антигени ВГС сорбовані у вертикальних стрипах полістиролового планшета наступним чином: стрипи 1, 5 та 9 (промарковані чорним) – Core, стрипи 2, 6 та 10 (промарковані зеленим) – NS3, стрипи 3, 7 та 11 – NS4 (промарковані синім), стрипи 4, 8 та 12 – NS5 (промарковані червоним).

На рисунку показано порядок, у якому сорбовані антигени ВГС у лунках планшета (блідий шрифт), та послідовність внесення контролів і досліджуваних зразків. Таким чином, максимальна кількість зразків сироваток та/або плазми, яка може бути досліджена у тест-системі «Vitrotest Anti-HCV Different», становить 22 аналізи. Лунки з контролями обов'язково включати до кожної постановки аналізу.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Core	NS3	K+ NS4	NS5	Core	NS3	7 NS4	NS5	Core	NS3	15 NS4	NS5
B	Core	NS3	K- NS4	NS5	Core	NS3	8 NS4	NS5	Core	NS3	16 NS4	NS5
C	Core	NS3	1 NS4	NS5	Core	NS3	9 NS4	NS5	Core	NS3	17 NS4	NS5
D	Core	NS3	2 NS4	NS5	Core	NS3	10 NS4	NS5	Core	NS3	18 NS4	NS5
E	Core	NS3	3 NS4	NS5	Core	NS3	11 NS4	NS5	Core	NS3	19 NS4	NS5
F	Core	NS3	4 NS4	NS5	Core	NS3	12 NS4	NS5	Core	NS3	20 NS4	NS5
G	Core	NS3	5 NS4	NS5	Core	NS3	13 NS4	NS5	Core	NS3	21 NS4	NS5
H	Core	NS3	6 NS4	NS5	Core	NS3	14 NS4	NS5	Core	NS3	22 NS4	NS5

9.2. Заповнити бланк внесення проб.

9.3. Приготувати розчин для промивання згідно пункту 8.2.

9.4. Внести в усі лунки планшета по 80 мкл розчину для розведення сироваток.

9.5. Внести в лунки по 40 мкл контролів та досліджуваних зразків за наступною схемою (кожен зразок сироватки чи плазми вноситься у чотири лунки планшета):

позитивний контроль – у лунки А1, А2, А3, А4,

негативний контроль – у лунки В1, В2, В3, В4,

1-й зразок – у лунки С1, С2, С3, С4,

2-й зразок – у лунки D1, D2, D3, D4,

3-й зразок – у лунки Е1, Е2, Е3, Е4 тощо.

Під час внесення сироваток та контролів обережно піпетуйте суміш – відбувається зміна кольору розчину для розведення сироваток з коричнево-зеленого на синій.

9.6. Заклеїти стрипи клейкою плівкою та інкубувати протягом 60 хвилин при температурі 37°C.

9.7. По закінченні інкубації обережно зняти клейку плівку та промити лунки п'ять разів з використанням автоматичного промивача або 8-канальної піпетки наступним чином:

– видалити вміст лунок в контейнер для рідких відходів;

– наповнити лунки стрипів не менш ніж по 300 мкл розчином для промивання, залишити не менш як на 30 секунд;

– аспірувати розчин з лунок, залишковий об'єм розчину після аспірації на всіх етапах промивання має складати не більше 5 мкл;

– повторити процедуру промивання ще чотири рази;

– після останньої аспірації позбавитись зайвої вологи, постукуючи планшетом по фільтрувальному паперу.

9.8. В лунки стрипів внести по 100 мкл розчину кон'югату. Стрипи накрити новою клейкою плівкою та інкубувати протягом 30 хвилин при 37°C.

9.9. По закінченні інкубації обережно зняти клейку плівку та промити лунки п'ять разів, як описано в пункті 9.7.

9.10. «Розчин ТМБ» є готовим для використання розчином ТМБ-субстрату з перекисом водню. Розчин ТМБ має бути безбарвним, слід запобігати потраплянню сонячного проміння на розчин. Вносити розчин ТМБ слід чистим новим наконечником: обережно відібрати розчин ТМБ з флакону і, не торкаючись дна та стінок лунок планшета, внести по 100 мкл розчину ТМБ в лунки.

9.11. Інкубувати ІФА-планшет протягом 30 хвилин в темному місці при кімнатній температурі 18-25°C.

9.12. Для зупинення ферментативної реакції внести в лунки стрипів по 100 мкл стоп-реагенту, дотримуючись тієї ж послідовності, що і при внесенні розчину ТМБ.

9.13. Виміряти на рідері оптичну густину в кожній лунці стрипів при довжині хвилі 450/620 нм протягом 5 хвилин після зупинення реакції. Зверніть увагу на чистоту зовнішньої поверхні дна лунок.

Облік результатів аналізу можна проводити в однохвильовому режимі при довжині хвилі 450 нм, в цьому випадку слід залишити лунку для встановлення бланку (в таку лунку вносити лише розчин ТМБ та стоп-реагент).

10. Облік результатів та їх інтерпретація

10.1. Достовірність результатів аналізу:

Розрахувати середнє значення негативного контролю

$$ОГ K- \text{середнє} = (ОГ K-_{Core} + ОГ K-_{NS3} + ОГ K-_{NS4} + ОГ K-_{NS5})/4.$$

Результати аналізу вважати достовірними, якщо:

– оптична густина (ОГ) позитивного контролю не нижче 1,5 оптичних одиниць (ОО),

– ОГ в лунках з негативним контролем (ОГ K-) не вище 0,1 ОО.

10.2. Облік результатів аналізу.

Рівень граничного значення (Cut off) розрахувати, додаючи до середнього значення негативного контролю величину 0,20, тобто

$$Граничне значення = ОГ K- \text{середнє} + 0,20.$$

10.3. Інтерпретація результатів

Зразки із значенням оптичної густини вище граничного значення аналізу вважаються такими, що містять антитіла до певного антигену ВГС (Core, NS3, NS4, NS5).

Позитивними на антитіла до ВГС є сироватки, що містять антитіла не менш як до двох антигенів ВГС.

Досліджувані зразки, що містять антитіла лише до одного антигену ВГС вважаються **невизначеними**.

Негативними є досліджувані сироватки, що не містять антитіл до жодного з антигенів ВГС.

11. Діагностичні характеристики тесту

Діагностичні характеристики тест-системи «Vitrotest Anti-HCV Different» оцінювали за допомогою комерційної панелі виробництва "SeraCare Life Sciences" (США) «Anti-HCV Mixed Titer Performance Panel PHV207», що складається з охарактеризованих зразків сироваток та плазми, які містять та не містять антитіл до різних антигенів ВГС. В тест-системі «Vitrotest Anti-HCV Different» всі позитивні та негативні зразки визначались коректно, відповідно до паспортних даних.

12. Обмеження аналізу

Позитивний результат в тест-системі «Vitrotest Anti-HCV Different» є свідченням наявності у пацієнта антитіл, специфічних до вірусу гепатиту С.

Негативний результат в тест-системі «Vitrotest Anti-HCV Different» показує, що зразок не містить антитіл до вірусу гепатиту С, або концентрація специфічних антитіл нижче межі чутливості аналізу.

Для діагностики гострого та хронічного гепатиту С, оцінки ефективності терапії рекомендується додатково провести дослідження зразка на наявність анти-ВГС IgM антитіл (наприклад, з використанням тест-системи «Vitrotest HCV-IgM»), анти-ВГС IgG антитіл (наприклад, з використанням тест-системи «Vitrotest HCV-IgG»), РНК ВГС та оцінити біохімічні показники сироватки крові.

Остаточний діагноз може бути встановлено лише з урахуванням клінічних проявів та даних комплексу лабораторних досліджень.

Література

1. Михайлов М.И. Лабораторная диагностика гепатита С. (Серологические маркеры и методы их выявления. // Вирусные гепатиты. Достижения и перспективы Инф.бюллетень. – 2001. - №2.(12). – с.8-18.
2. Соринсон С.Н. Вирусные гепатиты в клинической практике. СПб:Теза. - 1996. – 290 с.
3. Brillanti S., Masci C., Miglioli M. and Barbara L. Serum IgM antibodies to hepatitis C virus in acute and chronic hepatitis C. // Archives of virology supplementum. - 1993. – N8. – P.213-218.
4. Casno C., Lilli D., Rivanera D., et. al. Diagnostic value of anti-hepatitis C virus (HCV) core immunoglobulin M in recurrence of HCV infection after orthotopic liver transplantation. // Journal of Clinical Microbiology. - 1999. – V.37. – N.8. – P.2726-2728.
5. Dal Molin G., Tiribelli C. Campello C. A rational use of laboratory tests in the diagnosis and management of hepatitis C virus infection. // Annals of hepatology. - 2003. – N2. – P.76-83.
6. Richter S. Laboratory assays for diagnosis and management of hepatitis C virus infection. // Journal of Clinical Microbiology. - 2002. – V.40. – N.12. – P.4407-4412.
7. Urdea M.S., Wuestehube L.J., Laurenson P.M., and Wilber J.C. Hepatitis C – diagnosis and monitoring. // Clinical Chemistry. - 1997. – V.43. – N.8. – P.1507-1511.

Умовні позначення

Інтерпретація умовних символів:

	«Медичний виріб для діагностики <i>in vitro</i> »
	«Код партії»
	«Номер за каталогом»
	«Дата виготовлення»
	«Використати до»
	«Температурне обмеження»
	«Містить достатньо для (n-) випробувань»
	«Берегти від прямих сонячних променів»
	«Увага, дивись інструкцію з використання»
	«Виробник»
	«Ознайомлення з інструкціями для застосування»

З питаннями та побажаннями щодо роботи набору звертайтеся до виробника:



Товариство з обмеженою відповідальністю «Іноваційно-виробнича компанія «Рамінтек»
03039 Україна, м. Київ, пр-т 40-річчя Жовтня, 7, оф. 227 (юридична адреса)
07300 м. Вишгород, Київська обл., вул. Шолуденка, 19 (фактична адреса)
тел. +380 44 222-76-72

Схема проведення аналізу в тест-системі «Vitrotest Anti-HCV Different»

Витримати реагенти 30 хв. при 18-25°C

Приготувати розчин для промивання планшета, розвести 20х концентрат розчину для промивання *Tr100* очищеною водою 1:20 (тобто, 1+19). Наприклад, 4 мл розчину + 76 мл води

Заповнити бланк внесення проб для аналізу

В лунки планшета внести по 80 мкл розчину для розведення сироваток

Внести по 40 мкл контролів та досліджуваних зразків в лунки:
A1, A2, A3, A4 – позитивний контроль, B1, B2, B3, B4 – негативний контроль; C1, C2, C3, C4 та решта лунок у тому ж порядку – досліджувані зразки
Під час внесення сироваток відбувається зміна кольору розчину в лунках з коричнево-зеленого на синій

Заклеїти стрипи плівкою, інкубувати 60 хв. при 37°C

Промити лунки 5 разів

В лунки стрипів внести по 100 мкл розчину кон'югату

Заклеїти стрипи плівкою, інкубувати 30 хв. при 37°C

Промити лунки 5 разів

В лунки стрипів внести по 100 мкл розчину ТМБ-субстрату

Інкубувати планшет 30 хв. в темряві при кімнатній температурі (18-25°C)

В лунки стрипів внести по 100 мкл стоп-реагенту

Виміряти оптичну густина в лунках на спектрофотометрі при 450/620 нм

Розрахувати граничне значення (ГЗ) в тест-системі «Vitrotest Anti-HCV Different» за формулою
$$ГЗ = ОГ K_{\text{середнє}} + 0,20$$

Визначити наявність антитіл до окремих антигенів ВГС, порівнюючи ОГ зразка з ГЗ

Провести інтерпретацію результатів аналізу згідно таблиці:

Наявність антитіл	Результат
До двох та більше антигенів	позитивний
До одного антигену	невизначений
Відсутні	негативний