

ВЕКТОР



Набор реагентов  
для иммуноферментного  
выявления HBsAg

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

---

**Вектогел В-НВs-антиген  
(комплект 2)**

НАБОР РЕАГЕНТОВ  
**D-0583**



## **1. НАЗНАЧЕНИЕ**

**1.1.** Набор реагентов «Вектогеп В-НВs-антиген» (комплект 2) (далее по тексту – набор) предназначен для выявления НВs-антигена вируса гепатита В (НВsАg) в сыворотке/плазме крови методом твердофазного иммуноферментного анализа. Минимальная концентрация НВsАg, выявляемая с помощью данного набора, составляет по отраслевому стандартному образцу НВsАg (ОСО 42-28-311-06П) 0,05 МЕ/мл.

**1.2.** Набор рассчитан на проведение анализа 178 неизвестных образцов, 14 контрольных образцов, всего 192 определений при использовании двух планшетов.

## **2. ПРИНЦИП МЕТОДА**

Метод определения основан на двухстадийном твердофазном иммуноферментном анализе. Во время первой инкубации происходит связывание НВsАg, содержащегося в анализируемом образце, с моноклональными антителами, иммобилизованными на внутренней поверхности лунок. Во время второй инкубации антитела к НВsАg, меченные пероксидазой, взаимодействуют с НВsАg, иммобилизованным в ходе первой инкубации. Комплексы антиген-антитело выявляют цветной реакцией с использованием субстрата пероксидазы – перекиси водорода и хромогена-тетраметилбензидина. После добавления стоп-реагента измеряют оптическую

плотность растворов в лунках при длине волны 450 нм, референс-фильтр в диапазоне 620–650 нм. Интенсивность окрашивания пропорциональна концентрации НВsAg в анализируемых образцах.

### 3. СОСТАВ НАБОРА

- иммуносорбент – планшет с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок моноклональными антителами к НВsAg, готовый для использования – 2 шт.;
- положительный контрольный образец, инактивированный ( $K^+$ ; прозрачная жидкость красного цвета) – 1 фл., 1,0 мл;
- слабоположительный контрольный образец, инактивированный ( $K^+_{\text{слаб}}$ ; концентрация НВsAg (0,2±0,1) МЕ/мл; прозрачная жидкость желто-коричневого цвета) – 1 фл., 0,5 мл;
- отрицательный контрольный образец, инактивированный ( $K^-$ ; прозрачная или с легкой опалесценцией жидкость желтого цвета) – 1 фл., 1,0 мл;
- конъюгат, концентрат (антитела к НВs-антигену, конъюгированные с пероксидазой хрена; прозрачная жидкость синего цвета) – 2 фл. по 2,3 мл;
- раствор для разведения конъюгата (РРК; прозрачная бесцветная жидкость) – 2 фл. по 8,8 мл;
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25; прозрачная бесцветная жидкость; допускается наличие осадка солей, исчезающего при нагревании до 30–40°C) – 2 фл. по 28 мл;

- субстратный буферный раствор (СБР; прозрачная бесцветная жидкость) – 2 фл. по 13,0 мл;
- тетраметилбензидин, концентрат (ТМБ; прозрачная бесцветная или светло-желтого цвета жидкость) – 2 фл. по 1,0 мл;
- стоп-реагент (прозрачная бесцветная жидкость) – 2 фл. по 12,0 мл;
- пленка для заклеивания планшета – 4 шт.;
- пластиковая ванночка для реагентов – 4 шт.;
- наконечники для пипеток – 32 шт.;
- инструкция по применению – 1 шт.

#### **4. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ**

**4.1.** Специфичность набора, определенная по стандартной панели сывороток, не содержащих HBsAg, составляет 100%.

**4.2.** Чувствительность набора (минимальная концентрация HBsAg, определенная по ОСО 42-28-311-06П) – 0,05 МЕ/мл.

#### **5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ**

**5.1.** Потенциальный риск применения набора – класс 2Б (ГОСТ Р 51609-2000).

**5.2.** Все компоненты набора являются нетоксичными.

Стоп-реагент обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента на кожу и слизистые необходимо

промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.

**5.3.** При работе с набором следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

**5.4.** При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы сыворотки крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатита или любой другой возбудитель вирусных и бактериальных инфекций.

**5.5.** Химическая посуда и оборудование, которые используются в работе с набором, должны быть соответствующим образом промаркированы.

**5.6.** Запрещается прием пищи, использование косметических средств и курение в помещениях, предназначенных для работы с наборами.

**5.7.** Для дезинфекции исследуемых образцов, посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, следует использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на ка-

чество ИФА, например, комбинированные средства на основе ЧАС (четвертичных аммониевых соединений), спиртов, третичных аминов.

Использование дезинфицирующих средств, содержащих активный кислород и хлор ( $H_2O_2$ , деохлор, хлорамин), приводит к серьезному искажению результатов ИФА.

**5.8. Точность и воспроизводимость результатов анализа зависят от строгого выполнения следующих правил:**

– не используйте реагенты с истекшим сроком годности;

– при постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (ФСБ-Т×25, СБР, стоп-реагент), которые взаимозаменяемы во всех наборах ЗАО «Вектор-Бест»;

– *запрещается использовать реагенты из наборов других фирм-производителей;*

– не проводите ИФА в присутствии паров кислот, щелочей, альдегидов или пыли, которые могут менять ферментативную активность конъюгатов;

– используйте стеклянную посуду, тщательно вымытую и ополоснутую дистиллированной водой, или (предпочтительно) одноразовую посуду;

– не допускайте высыхания стрипов в перерыве между завершением промывки и внесением реагентов;

– ферментативная реакция чувствительна к присутствию ионов металлов, поэтому не допускайте контактов каких-либо металлических предметов с конъюгатом и раствором субстрата;

– избегайте загрязнения компонентов набора микроорганизмами и химическими примесями, для этого используйте в работе чистую посуду и чистые одноразовые наконечники для каждого реагента, контроля, образца;

– необходимо следить за состоянием промывочного устройства – регулярно обрабатывайте шланги и емкости 70% этиловым спиртом;

– рабочие поверхности столов, оборудования следует обрабатывать 70% этиловым спиртом (не допускается использование перекиси водорода, хлорсодержащих растворов);

– никогда не используйте одну и ту же емкость для приготовления конъюгата и рабочего раствора ТМБ; **обращаем Ваше особое внимание** на то, что малейшее, даже не видимое глазом загрязнение пипеток раствором конъюгата может привести к контаминации всего содержимого флаконов с СБР и ТМБ, поэтому необходимо протирать рабочую поверхность стола и конус пипетки (внутреннюю и внешнюю поверхности) 70% этиловым спиртом перед внесением ТМБ в СБР;

- проверьте пипетки и другое оборудование на точность и правильность работы;
- не изменяйте протокол исследования;
- если допущена ошибка при внесении анализируемых образцов, нельзя, опорожнив эту лунку, вносить в нее новый образец; такая лунка бракуется.

## **6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:**

- спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках стрипов при длине волны 450 нм и/или в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620 нм–650 нм;
- холодильник бытовой;
- термостатируемый шейкер орбитального типа на 700 об/мин, поддерживающий температуру  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ ;
- автоматический либо ручной промыватель для планшетов;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 5 до 1000 мкл;
- пипетка полуавтоматическая многоканальная со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объемы жидкостей до 350 мкл;
- перчатки резиновые хирургические;

- бумага фильтровальная лабораторная;
- цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 1000 мл;
- колба вместимостью 1000 мл, 2000 мл;
- вода дистиллированная.

## **7. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ**

**7.1.** Для проведения анализа не следует использовать гемолизированную, мутную сыворотку крови.

**7.2.** Образцы сыворотки (плазмы) крови можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 5 суток при условии отсутствия микробной контаминации или при температуре минус 20°C (и ниже) не более 3 мес. Следует избегать многократного замораживания/оттаивания, так как это может привести к получению неправильных результатов. После размораживания образцы следует тщательно перемешать.

**7.3.** Образцы сывороток крови, содержащие осадок, необходимо очистить центрифугированием при 5000–10000 об/мин в течение 5 мин при температуре от 18 до 25°C.

**7.4.** Для отбора исследуемых образцов и компонентов набора реагентов использовать автоматические пипетки с погрешностью измерения объема не более 5%.

## 8. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА (расчет на один планшет)

8.1. Перед работой извлечь набор из холодильника, вскрыть упаковку и выдержать все компоненты при температуре 18–25°C в течение 60 мин.

### 8.2. ПОДГОТОВКА ПЛАНШЕТА

Непосредственно перед использованием цефленовый пакет с планшетом вскрыть со стороны застежки, отступив примерно 1 см, и извлечь планшет.

### 8.3. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧЕГО ПРОМЫВОЧНОГО РАСТВОРА

Рабочий промывочный раствор приготовить разведением исходного концентрата ФСБ-Т в 25 раз.

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

Содержимое флакона с 25-кратным концентратом ФСБ-Т перенести в чистую емкость, добавить 672 мл дистиллированной воды и тщательно перемешать.

*Хранение: не более 5 суток при 2–8°C.*

### 8.4. ПОДГОТОВКА КОНТРОЛЬНЫХ ОБРАЗЦОВ

Контрольные образцы готовы к использованию и не требуют дополнительного разведения.

После отбора части содержимого контрольные образцы можно хранить при температуре 2–8°C в течение всего срока годности.

#### 8.5. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧЕГО РАСТВОРА КОНЬЮГАТА

*Внимание! Для работы с конъюгатом использовать одноразовые наконечники для пипеток.*

Во флакон с раствором для разведения конъюгата добавить 2,2 мл концентрата конъюгата и тщательно перемешать.

*Хранение: до 8 часов при 18–25°C.*

#### 8.6. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧЕГО РАСТВОРА ТЕТРАМЕТИЛБЕНЗИДИНА

*Внимание! Для работы с раствором ТМБ использовать одноразовые наконечники для пипеток.*

Во флакон с субстратным буферным раствором добавить 650 мкл концентрата тетраметилбензидаина и тщательно перемешать.

*Допустимо голубое окрашивание рабочего раствора ТМБ, которое не оказывает влияния на результаты анализа.*

*Хранение: не более 3 часов при 18–25°C в темноте.*

***Внимание!** При приготовлении раствора следует использовать концентрат ТМБ, входящий в комплектацию данной серии набора.*

**8.7.** Стоп-реагент готов к использованию.

## 9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

### 9.1. Внести контрольные образцы:

- 2 лунки – по 100 мкл  $K^+$ ;
- 2 лунки – по 100 мкл  $K^+$ <sub>слаб.</sub>;
- 3 лунки – по 100 мкл  $K^-$ .

Например, в лунки А-1, В-1, С-1 внести по 100 мкл  $K^-$ ; в лунки D-1 и E-1 – по 100 мкл  $K^+$ ; в лунки F-1 и G-1 – по 100 мкл  $K^+$ <sub>слаб.</sub>

В остальные лунки внести по 100 мкл исследуемых образцов.

### 9.2. Планшет закрыть пленкой.

Инкубировать в течение 1 ч при 37°C на шейкере при 700 об/мин.

9.3. По окончании инкубации содержимое лунок удалить в сосуд с дезинфицирующим раствором и промыть планшет с помощью автоматического или ручного промывателя 5 раз (**использование многоканальной пипетки не допускается**), добавляя во все лунки **не менее 400 мкл** рабочего промывочного раствора (п. 8.3). Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. **Необходимо следить за полным опорожнением лунок после каждого цикла отмывки** (остаточный объем не должен превышать 10 мкл). Остатки промывочного раствора из лунок тщательно удалить, постукивая планшетом в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.

**Примечание:** Промывку при помощи автоматического промывателя рекомендуется проводить в режиме с переполнением («Overflow»)

с 5-ю циклами промывки и внесением в лунки по 600 мкл рабочего промывочного раствора. При этом следует использовать поперечную аспирацию раствора из лунок (режим «Crosswise»).

**9.4.** Внести во все лунки по 100 мкл рабочего раствора конъюгата (п. 8.5.).

***Внимание!*** Для внесения рабочего раствора конъюгата использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

**9.5.** Планшет закрыть пленкой.

Инкубировать в течение 1 ч при 37°C на шейкере при 700 об/мин.

**9.6.** По окончании инкубации содержимое лунок удалить в сосуд с дезинфицирующим раствором и промыть планшет с помощью автоматического или ручного промывателя 5 раз как описано в п. 9.3.

**9.7.** Внести во все лунки по 100 мкл рабочего раствора тетраметилбензидина (п. 8.6) и инкубировать в темноте в течение 25 мин при температуре 18–25°C.

***Внимание!*** Для внесения рабочего раствора ТМБ использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

Остатки раствора ТМБ из ванночки утилизировать (не сливать во флакон с исходным раствором ТМБ).

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

## 10. КРАТКАЯ СХЕМА ИФА

*Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!*

**Внести:** по 100 мкл  $K^+$ ,  $K^+$ <sub>слаб.</sub>,  $K^-$ , анализируемых образцов.

**Инкубировать:** 1 ч, 37°C, 700 об/мин.

**Промыть:** рабочим промывочным раствором, 400 мкл, 5 раз.

**Внести:** по 100 мкл рабочего раствора конъюгата .

**Инкубировать:** 1 ч, 37°C, 700 об/мин.

**Промыть:** рабочим промывочным раствором, 400 мкл, 5 раз.

**Внести:** по 100 мкл рабочего раствора тетраметилбензидина.

**Инкубировать:** 25 мин при 18–25°C в темноте.

**Внести:** по 100 мкл стоп-реактента.

**Измерить:** ОП при 450 нм / референсная длина волны 620–650 нм.

## 11. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Измерить величину оптической плотности растворов в лунках на спектрофотометре вертикального сканирования в двухволновом режиме: при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620 нм–650 нм; допускается измерение на одной длине волны – 450 нм.

Измерение проводить через 2–3 мин после остановки реакции. Время между остановкой реакции и измерением оптической плотности не должно превышать 5 мин.

## 12. РАСЧЕТЫ И ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ

### 12.1. РАСЧЕТЫ

**12.1.1.** Рассчитать среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом – ОП<sub>ср</sub> К<sup>-</sup>.

**12.1.2.** На основании полученных данных вычислить критическое значение оптической плотности (ОП<sub>крит</sub>) по формуле:

$$\text{ОП}_{\text{крит}} = \text{ОП}_{\text{ср}} \text{К}^- + 0,06$$

### 12.2. ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ

**12.2.1.** Среднее значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом не должно превышать 0,15 ед. опт. плотн.

**12.2.2.** Значение ОП К<sup>-</sup> в каждой лунке должно находиться в пределах от 0,6 × ОП<sub>ср</sub> К<sup>-</sup> до 1,4 × ОП<sub>ср</sub> К<sup>-</sup>. Значение ОП К<sup>-</sup>, выходящее

из этих пределов, следует исключить, а  $ОП_{ср} K^-$  пересчитать.

**12.2.3.** Среднее значение оптической плотности в лунках с положительным контрольным образцом должно быть не менее 1,0 ед. опт. плотн.

**12.2.4.** Среднее значение оптической плотности в лунках со слабоположительным контрольным образцом должно быть больше  $ОП_{крит}$ .

**12.2.5.** Результат анализа считают **положительным**, если  $ОП_{обр} \geq ОП_{крит}$ .

Результат анализа считают **отрицательным** если  $ОП_{обр} < ОП_{крит}$ ,

где  $ОП_{обр}$  – оптическая плотность в лунке с анализируемым образцом сыворотки (плазмы) крови.

**12.2.6.** Положительный результат, полученный в постановке набора реагентов «Вектогеп В-НВs-антиген», должен быть подтвержден в реакции нейтрализации с использованием набора «Вектогеп В-НВs-антиген» (комплект 6/подтверждающий тест).

**12.2.7.** При динамическом наблюдении пациента для получения результатов, адекватно отражающих изменение концентрации НВs-антигена вируса гепатита В в крови, необходимо использовать наборы реагентов одного наименования (одного предприятия-изготовителя).

### **13. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА**

**13.1.** Набор реагентов «Вектогеп В-НВs-антиген» следует хранить и транспортировать в упаковке предприятия-изготовителя при температуре (2–8)°С в течение всего срока годности (12 мес). Допускается транспортирование набора при температуре до 25°С не более 10 сут.

Замораживание набора не допускается.

**13.2.** Дробное использование набора может быть реализовано в течение всего срока годности.

**13.3.** Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

**По вопросам, касающимся качества набора  
«Вектоген В-НВs-антиген» следует обращаться  
в ЗАО «Вектор-Бест» по адресу:**

630559, Новосибирская область,  
Новосибирский район,  
п. Кольцово, а/я 121,  
тел. (383) 336-73-46, 332-37-58,  
тел./факс (383), 336-60-30, 332-67-52,  
E-mail: vbobtk@vector-best.ru

и в Федеральное государственное учреждение нау-  
ки «Государственный НИИ стандартизации и кон-  
троля медицинских биологических препаратов им.  
Л.А.Тарасевича» Роспотребнадзора по адресу:

119002, Москва,  
пер. Сивцев Вражек, 41,  
тел. 241-39-22.

11.01.10.

**ЗАКРЫТОЕ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО  
«ВЕКТОР-БЕСТ»**

Федеральная лицензия № 99-04-000086  
на производство, хранение и реализацию  
лекарственных средств

**КРУПНЕЙШИЙ В РОССИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЬ  
ИММУНОФЕРМЕНТНЫХ  
ДИАГНОСТИКУМОВ**

Вирусные гепатиты А, В, С, D  
Инфекции, передаваемые  
половым путем  
ВИЧ-инфекция  
TORCH-инфекции  
Клещевой энцефалит  
Паразитарные болезни  
Диагностика беременности  
Лабораторное оборудование

***Стабильное качество  
и точный результат  
для Вашей лаборатории!***

**Наш адрес:** 630117, Новосибирск-117, а/я 492  
Тел./факс: (383) 227-73-60 (многоканальный)  
Тел.: (383) 332-37-10, 332-37-58, 332-36-34,  
332-67-49, 332-67-52

*E-mail:* [vbmarket@vector-best.ru](mailto:vbmarket@vector-best.ru)  
*Internet:* [www.vector-best.ru](http://www.vector-best.ru)