

ВЕКТОР



Набор реагентов
для иммуноферментного
выявления HBsAg

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Вектоген В – HBs-антиген (комплект 8 / авто)

НАБОР РЕАГЕНТОВ

D-0560

«Вектоген В – HBs-антиген (комплект 8/авто)» представляет собой набор реагентов для выявления HBsAg вируса гепатита В разных субтипов и мутантных форм (в том числе в 143 и 145 аминокислотных положениях) методом иммуноферментного анализа (ИФА).

Принцип метода заключается во взаимодействии HBsAg с моноклональными антителами, иммобилизованными на поверхности лунок полистиролового планшета. Комплекс «антиген-антитело» выявляют с помощью иммуноферментного конъюгата, представляющего собой поликлональные антитела к HBsAg, конъюгированные с пероксидазой хрена.

Набор рассчитан на проведение 192 анализов, включая контроли. Комплектуется всеми необходимыми реагентами, кроме дистиллированной воды. Для исследования небольшой партии проб предусмотрено раздельное использование одного планшета на 96 анализов, включая контроли.

Минимальная концентрация HBsAg, выявляемая с помощью данного набора, составляет по стандартному образцу (СО) HBsAg 0,05 МЕ/мл при процедурах 1 и 2; 0,01 МЕ/мл при процедуре 3 (см. п. 3.2.4).

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «Вектоген В – HBs-антиген (комплект 8 / авто)» предназначен для выявления HBs-антигена в образцах сыворотки (плазмы) крови человека с использованием автоматических ИФА-анализаторов и может быть использован для обследования доноров крови, органов, тканей человека и дифференциальной диагностики вирусных гепатитов.

2. СОСТАВ НАБОРА

- планшет с иммобилизованными моноклональными антителами к HBsAg – 2 шт.;
- положительный контрольный образец, инактивированный (K^+); содержит 4 ± 2 МЕ/мл HBsAg ауw 2 субтипа, прозрачная жидкость красного цвета – 2 фл. по 1,5 мл;
- слабopоложительный контрольный образец, инактивированный ($K^+_{слаб}$); содержит $0,2 \pm 0,1$ МЕ/мл HBsAg ауw 3 субтипа (лиофильно высушенная масса кремового цвета) – 2 фл.;
- отрицательный контрольный образец, инактивированный (K^-), прозрачная или с лёгкой опалесценцией жидкость жёлтого цвета – 2 фл. по 1 мл;
- конъюгат, концентрат – поликлональные антитела к HBsAg, меченые пероксидазой хрена; жидкость синего цвета – 1 фл., 2,5 мл;
- раствор для разведения конъюгата (PK), прозрачная опалесцирующая жидкость – 2 фл. по 11 мл;
- субстратный буферный раствор (СБР), прозрачная бесцветная жидкость – 2 фл. по 21 мл;
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 3 фл. по 28 мл;
- тетраметилбензидин (ТМБ), концентрат – 2 фл. по 1,5 мл;
- стоп-реагент – 2 фл. по 21 мл;
- лишние этикетки со штрих-кодами для реагентов – 1 лист.

3. СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

При работе с исследуемыми сыворотками и контрольными образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом:

- * работать в резиновых перчатках;
- * не пипетировать растворы ртом;
- * все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями СП 1.2.731-99 и МУ-287-113.

Внимание! Тщательное соблюдение описанных ниже требований позволит избежать искажения результатов ИФА.

- Для приготовления растворов и проведения ИФА следует использовать чистую мерную посуду и автоматические пипетки с погрешностью измерения объёмов не более 5%.
- Использовать только одноразовые наконечники.
- Посуду (*ванночки*) не обрабатывать дезинфицирующими растворами.
- Желательно использовать свежееотобранные образцы сыворотки (*плазмы*) крови. Допускается использование образцов, хранившихся при (2-8)°С не более 5 суток, либо при минус (20-40)°С не более 1 мес.
- Сыворотки, содержащие осадок, могут дать неправильный результат. Такие образцы перед использованием следует центрифугиро-

вать 10-15 мин при 3000 об/мин.

- Нельзя использовать проросшие, гемолизные, гиперлипидные сыворотки или подвергавшиеся многократному замораживанию и оттаиванию.
- Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать не менее 30 мин при (18-25)°С.
- Сразу после постановки реакции неиспользованный планшет и плотно закрытые флаконы с исходными компонентами необходимо поместить в холодильник (2-8)°С, **использовать в течение срока годности набора.**
- При промывке планшета лунки заполнять полностью (**400 мкл промывочного раствора**) в режиме промывки с переполнением (**overflow**) и крестообразной аспирации (**crosswise**). Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек.
- 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».
- Для контроля правильности внесения реагентов, используйте штрих-кодирование (**липкие этикетки со штрих-кодами входят в состав набора**).

3.1. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

3.1.1. Промывочный раствор

Взболтать содержимое флакона с ФСБ-Т×25. При выпадении осадка солей в концентрате прогреть его перед разведением до полного растворения осадка.

Содержимое 1 флакона с ФСБ-Т×25 развести дистиллированной водой до **700 мл**.

Хранение: при (2-8)°С до 72 ч.

3.1.2. Слабоположительный контрольный образец

Во флакон с $K^+_{слаб}$ добавить **500 мкл** дистиллированной воды и тщательно перемешать до полного растворения сыворотки. Выдержать при комнатной температуре в течение 15 мин.

Использовать в течение рабочего дня (8-10 ч).

Слабоположительный контрольный образец $K^+_{слаб}$ аттестован по ОСО НВsAg ГИСК им. Л.А. Тарасевича и предназначен для контроля качества лабораторной постановки ИФА.

3.1.3. Раствор конъюгата

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

Во флакон с РК добавить **1,1 мл конъюгата** и тщательно перемешать.

Использовать в течение рабочего дня (8-10 ч).

3.1.4. Раствор ТМБ в рабочем разведении

Внимание! Для работы с ТМБ использовать только новые наконечники.

Во флакон с СБР добавить **1,1 мл ТМБ**, тщательно перемешать.

Использовать в течение рабочего дня (8-10 ч) при проведении процедур 1,2.

При проведении процедуры 3 (37°С, 18±0,5 ч) раствор ТМБ готовить непосредственно перед использованием.

3.2. ПРОВЕДЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

3.2.1. Приготовить промывочный раствор (п. 3.1.1), слабоположительный контрольный образец (п. 3.1.2), раствор конъюгата (п. 3.1.3) и раствор ТМБ в рабочем разведении (п. 3.1.4).

3.2.2. В лунки первого вертикального ряда планшета внести контрольные образцы: в лунки А-1, В-1, С-1 – по **100 мкл K^-** , в лунки D-1, Е-1 – по **100 мкл $K^+_{слаб}$** , а в лунки F-1, G-1 – по **100 мкл K^+** . В остальные лунки внести по **100 мкл исследуемых сывороток**.

3.2.3. Во все лунки внести по **50 мкл** приготовленного **раствора конъюгата**.

3.2.4. Планшет инкубировать в соответствии с выбранной процедурой:

- процедура 1 — 44°C, 1 час, *шейкер 500 об/мин*;
- процедура 2 — 37°C, 2 часа, *шейкер 500 об/мин*;
- процедура 3 — 37°C, 18±0,5 часов.

3.2.5. По окончании инкубации содержимое лунок собрать в сосуд с дезинфицирующим раствором. Лунки планшета промыть **10 раз** промывочным раствором.

Внимание! Каждую лунку необходимо заполнять полностью (**400 мкл промывочного раствора**) в режиме промывки с переполнением (*overflow*) и крестообразной аспирации (*crosswise*).

3.2.6. Во все лунки внести по **100 мкл раствора ТМБ в рабочем разведении**.

Выдерживать планшеты в защищённом от света месте при (18-25)°C **30 мин** или при 37°C 20 мин.

3.2.7. Реакцию остановить добавлением во все лунки по **100 мкл стоп-реагента** и через 2-3 мин измерить оптическую плотность (ОП).

Внимание! Следует избегать попадания стоп-реагента (0,5 М H₂SO₄) на одежду и открытые участки тела. При попадании – промыть большим количеством воды.

4. РЕГИСТРАЦИЯ И ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты ИФА регистрировать с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность (ОП) в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – в диапазоне 620-650 нм. Допустима регистрация результатов только с фильтром 450 нм. Выведение спектрофотометра на нулевой уровень («бланк») осуществлять по воздуху.

4.1. Оценка отрицательных и положительных контролей.

4.1.1. Вычислить среднее значение оптической плотности (ОП) в лунках с K⁻ (ОП_{ср} K⁻), K⁺ (ОП_{ср} K⁺), K^{слаб} (ОП_{ср} K^{слаб}).

4.1.2. Значение ОП_{ср} K⁺ должно быть не менее 1,0 ед. опт. пл.

4.1.3. Значение ОП_{ср} K⁻ не должно превышать 0,10 ед. опт. пл. при использовании двухволнового режима измерения или 0,15 ед. опт. пл. при измерении на одной длине волны.

4.1.4. Значения ОП K⁻ должны быть в пределах от 0,6 × ОП_{ср} K⁻ до 1,4 × ОП_{ср} K⁻. Исключить ОП K⁻, выходящие из этих пределов, и пересчитать ОП_{ср} K⁻. При этом должно остаться больше половины отрицательных контролей.

4.1.5. Вычислить критический уровень оптической плотности (ОП_{крит}) по формуле:

$$ОП_{крит} = ОП_{ср} K^- + 0,04.$$

4.1.6. Значение $ОП_{ср} K^+$ слаб должно превышать $ОП_{крит}$.

Если хотя бы одно из условий, перечисленных выше, не выполняется, необходимо найти ошибку, устранить и провести анализ заново.

5. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Положительными считать образцы с ОП, **превышающей или равной** $ОП_{крит}$. Положительный результат означает, что тестируемый образец содержит HBsAg или неспецифически реагирующий агент.

Образцы, давшие первичный **положительный результат**, должны быть исследованы с помощью набора «Вектоген В – HBs-антиген (комплект 5 / подтверждающий тест)» с целью подтверждения результата.

Отрицательными считать образцы, имеющие ОП **меньше** $ОП_{крит}$. **Отрицательный** результат указывает, что тестируемая сыворотка **не содержит HBsAg** или содержит HBsAg в концентрации ниже определяемого набором уровня.

Если первично положительная сыворотка **при подтверждении** в наборе «Вектоген В – HBs-антиген (комплект 5 / подтверждаю-

щий тест)» дала отрицательный результат, то сыворотку признают **отрицательной**, не содержащей HBsAg.

Первичный положительный результат может быть вызван:

а) случайным заносом микроколичеств высокотитражной положительной по HBsAg сыворотки через пипетку или наконечник;

б) свойством некоторых образцов сыворотки или плазмы неспецифически реагировать с поверхностью лунки;

в) загрязнением реакционной смеси с субстратом для пероксидазы ионами металлов;

г) некачественной промывкой лунок планшета;

д) загрязнившимся дном планшета.

6. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Наборы хранить и транспортировать при (2-8)°С. Допускается транспортирование при температуре до 25°С не более 10 суток.

Не допускать замораживания!

Срок годности набора реагентов – 12 месяцев со дня выпуска.

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться

в ЗАО «Вектор-Бест» по адресу:

*630128, г. Новосибирск-128, а/я 102,
тел.: (383) 332-92-49, 227-60-30;
тел./факс: (383) 332-94-47, 332-94-44;
E-mail: plkobtk@vector-best.ru*

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 332-24-45.

01.11.10

**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 путём
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.: (383) 332-37-58, 332-37-10, 332-36-34,
332-67-49, 332-67-52

Тел./факс: (383) 227-73-60 (многоканальный)

E-mail: vbmarket@online.nsk.su

Internet: www.vector-best.ru