

ВЕКТОР



Набор реагентов  
для иммуноферментного  
выявления суммарных антител  
к антигену *CagA Helicobacter pylori*

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

---

НАБОР РЕАГЕНТОВ

**D-3752**

**ХеликоБест – антитела**

«ХеликоБест – антитела» представляет собой набор реагентов, основой которого является рекомбинантный антиген *CagA Helicobacter pylori*, сорбированный на поверхности лунок разборного полистиролового планшета и входящий в состав конъюгата.

Один набор рассчитан на проведение 96 анализов, включая контроли. Возможны 12 независимых постановок ИФА, при каждой из которых 3 лунки используют для постановки контролей.

Набор комплектуется всеми необходимыми реагентами, кроме дистиллированной воды.

## 1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов предназначен для выявления суммарных антител (*IgM, IgA и IgG*) к антигену *CagA Helicobacter pylori* в сыворотке (*плазме*) крови человека и рекомендуется для эпидемиологического скрининга крови, диагностики заболеваний желудка и двенадцатиперстной кишки как составная часть комплексного обследования пациентов с данной патологией.

## 2. СОСТАВ НАБОРА

- планшет разборный с иммобилизованным рекомбинантным антигеном *CagA Helicobacter pylori* – 1 шт.;
- положительный контрольный образец, инактивированный ( $K^+$ ) – 1 фл., 0,5 мл;
- отрицательный контрольный образец, инактивированный ( $K^-$ ) – 1 фл., 1 мл;
- конъюгат (рекомбинантный *CagA* белок, конъюгированный с пероксидазой хрена) – 1 фл.;
- раствор для предварительного разведения (РПР) – 1 фл., 3 мл;
- раствор для разведения сывороток (РС, жидкость жёлто-красного цвета) – 1 фл., 13 мл;
- раствор для разведения конъюгата (РК, жидкость зелёного цвета) – 1 фл., 13 мл;
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 1 фл., 28 мл;
- раствор тетраметилбензидаина (ТМБ) – 1 фл., 13 мл;
- стоп-реагент – 1 фл., 12 мл;
- плёнка для заклеивания планшета – 3 шт.;
- ванночка для реагентов – 2 шт.;
- наконечники для пипеток – 16 шт.

## 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 1.3.2322-08 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%.
- Желательно использовать свежееотобранные образцы сыворотки (*плазмы*) крови. Допускается использование образцов, хранившихся при (2-8)°С не более 5 суток, либо при минус (20±3)°С, если необходимо более длительное хранение.
- Сыворотки, содержащие взвешенные частицы, могут дать неправильный результат. Такие образцы перед использованием следует центрифугировать 10-15 мин при 3000 об/мин.
- Нельзя использовать проросшие, гемолизи-

рованные, гиперлипидные сыворотки или подвергавшиеся многократному замораживанию и оттаиванию.

- Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать при комнатной температуре (18-25)°С не менее 30 мин.
- Лиофилизированные компоненты должны быть восстановлены, как минимум, за 15 минут до их использования.
- После отбора необходимого количества стрипов оставшиеся сразу упаковать в пакет с осушителем. Упакованные стрипы, плотно закрытые флаконы с исходными компонентами сразу после постановки реакции поместить в холодильник (2-8)°С.
- Раствор конъюгата в рабочем разведении готовить непосредственно перед использованием.
- **Раствор ТМБ готов для использования.** Необходимо исключить воздействие прямого света на раствор ТМБ.
- При промывке лунки (*стрипа, планшета*) заполнять полностью, не допуская переливания промывочного раствора через края лунок, и не касаясь лунок наконечником пипетки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек.
- При использовании автоматического или ручного промывателя необходимо следить за со-

стоянием ёмкости для промывочного раствора и соединительных шлангов: в них не должно быть «заростов». Раз в неделю желательно ёмкость для промывочного раствора и шланги промывать 70% спиртом.

- Не допускать высыхания лунок стрипов между отдельными операциями.
- При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (*ФСБ-Т×25, раствор ТМБ, стоп-реагент*), которые взаимозаменяемы во всех наборах ЗАО «Вектор-Бест».
- Запрещается повторное использование планшета для предварительного нанесения сывороток.
- При приготовлении растворов и проведении ИФА следует использовать **одноразовые** наконечники для дозаторов.
- Посуду (*ванночки*), используемую для работы с растворами конъюгата и ТМБ, не обрабатывать дезинфицирующими растворами и моющими средствами.
- В случае повторного использования посуду (*ванночки*) для раствора конъюгата промыть проточной водой и тщательно ополоснуть дистиллированной водой; посуду (*ванночки*) для

- раствора ТМБ сразу после работы промыть 50% раствором этилового спирта, а затем дистиллированной водой.
- Для дезинфекции посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, рекомендуем использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС (*четвертичных аммониевых соединений*), спиртов, третичных аминов.
  - Пипетки и рабочие поверхности обрабатывать только 70% раствором этилового спирта. Не использовать во время проведения ИФА перекись водорода, хлорамин и т.д.

### 3.1. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

#### 3.1.1. Промывочный раствор

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

В соответствии с числом используемых стрипов отобрать необходимое количество ФСБ-Т×25 (*см. таблицу, стр. 11*) и развести его дистиллированной водой до указанного в таблице объёма или содержимое 1 флакона – до **700 мл**.

Хранение: при (2-8)°С до 5 суток.

#### 3.1.2. Растворы конъюгатов

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

Приготовить **концентрированный раствор конъюгата** путём растворения содержимого флакона с конъюгатом в **1 мл РПР**.

Хранение: концентрированный раствор конъюгата – при (2-8)°С до 1 месяца.

**Внимание!** Раствор конъюгата в **рабочем разведении** готовить в пластиковой ванночке, входящей в состав набора, непосредственно перед использованием!

Раствор для разведения конъюгата (РК) тщательно взболтать.

В пластиковую ванночку отобрать необходимое количество концентрированного раствора конъюгата, добавить соответствующее количество РК (см. таблицу), тщательно перемешать пипетированием.

*Конъюгат в рабочем разведении хранению не подлежит.*

### 3.1.3. Раствор ТМБ

**Внимание!** Раствор ТМБ готов к применению. Необходимо исключить воздействие света на раствор ТМБ.

Рекомендуем выделить наконечники для пипеток, которые использовать только для работы с ТМБ.

Непосредственно перед использованием отобрать в пластиковую ванночку **только** необходимое в соответствии с числом используемых стрипов количество раствора ТМБ (см. таблицу).

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

Хранение: при (2-8)°С в течение всего срока годности.

Таблица расхода реагентов

	Количество используемых стрипов											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Промывочный раствор											
ФСБ-Тх25, мл	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24
Дистиллированная вода, мл	до 50	до 100	до 150	до 200	до 250	до 300	до 350	до 400	до 450	до 500	до 550	до 600
	Раствор конъюгата в рабочем разведении											
Конъюгат (концентрат), мкл	α*	2×α	3×α	4×α	5×α	6×α	7×α	8×α	9×α	10×α	11×α	12×α
РК, мл	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0
	Раствор ТМБ											
Раствор ТМБ, мл	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0

\* α = ▲ ▲ ▲ МКЛ

### 3.2. ПРОВЕДЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

3.2.1. Подготовить необходимое количество стрипов к работе. Оставшиеся – сразу упаковать во избежание губительного воздействия влаги. Для этого стрипы поместить в цефленовый пакет с влагопоглотителем, тщательно закрыть пакет пластиковой застёжкой. Упакованные таким образом стрипы хранить при (2-8)°С до конца срока годности.

Приготовить промывочный раствор (п. 3.1.1) и концентрированный раствор конъюгата (п. 3.1.2).

Перед постановкой ИФА лунки стрипов промыть 1 раз промывочным раствором, заливая в каждую лунку по **400 мкл** промывочного раствора. По истечении 5 мин раствор аккуратно удалить в сосуд с дезинфицирующим раствором.

По окончании промывки необходимо тщательно удалить влагу из лунок, постукивая перевернутыми стрипами по сложенной в несколько слоёв фильтровальной бумаге. *Не допускать высыхания лунок стрипов между отдельными операциями при постановке реакции.*

3.2.2. Во все лунки стрипов внести по **80 мкл раствора для разведения сывороток (РС)**, в любые 2 лунки внести по **20 мкл К<sup>-</sup>**, в 1 лунку – **20 мкл К<sup>+</sup>**.

Во все остальные лунки внести по **20 мкл исследуемых сывороток**, получая, таким образом, конечное разведение сывороток 1:5. *Внесение сывороток должно сопровождаться тщательным перемешиванием (пипетирование не менее 4 раз).*

Лунки заклеить плёнкой и инкубировать при (37±1)°С **30 мин**.

За 5 мин до окончания инкубации приготовить раствор конъюгата в рабочем разведении (п. 3.1.2).

3.2.3. По окончании инкубации содержимое лунок собрать в сосуд с дезинфицирующим раствором, промыть лунки стрипов 5 раз промывочным раствором и удалить влагу.

***Внимание!** Каждую лунку при промывке необходимо заполнять полностью (400 мкл промывочного раствора). Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого их заполнения. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек.*

3.2.4. Во все лунки внести по **100 мкл раствора конъюгата в рабочем разведении**.

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

Лунки заклеить плёнкой и инкубировать при  $(37\pm 1)^\circ\text{C}$  **30 мин.**

3.2.5. По окончании инкубации содержимое лунок собрать в сосуд с дезинфицирующим раствором, промыть лунки стрипов 5 раз промывочным раствором и удалить влагу, как описано выше.

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

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

Стрипы поместить при  $(18-25)^\circ\text{C}$  на **25 мин** в защищённое от света место.

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 ( $0,5\text{ M H}_2\text{SO}_4$ ) 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 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.

Результаты исследований учитывать только при соблюдении следующих условий:

– среднее значение ОП в лунках с отрицательным контрольным образцом (ОП<sub>ср</sub> К<sup>-</sup>) не более 0,25 (ОП<sub>ср</sub> К<sup>-</sup> ≤ 0,25);

– значение ОП в лунке с положительным контрольным образцом (ОП К<sup>+</sup>) не менее 0,6 (ОП<sub>ср</sub> К<sup>+</sup> ≥ 0,60).

По результатам ИФА рассчитать ОП критическую (ОП<sub>крит</sub>) по формуле:

$$\text{ОП}_{\text{крит}} = \text{ОП}_{\text{ср}} \text{К}^- + 0,2,$$

где ОП<sub>ср</sub>К<sup>-</sup> – среднее значение ОП для отрицательного контрольного образца.

Если ОП<sub>ср</sub>К<sup>-</sup> имеет отрицательное значение, при расчёте считать её равной нулю.

Исследуемый образец оценивать как:  
✓ **отрицательный**, т.е. не содержащий антиген к антигену *CagA H. pylori*, если полу-

ченное для него значение ОП не превышает ( $ОП_{крит} - 0,05$ );

- ✓ **положительный**, т.е. содержащий антитела к антигену *CagA H. pylori*, если значение ОП не ниже ( $ОП_{крит} + 0,05$ );
- ✓ **сомнительный**, если значение ОП находится в интервале от ( $ОП_{крит} - 0,05$ ) до ( $ОП_{крит} + 0,05$ ).

#### 4.1. Интерпретация результатов

Оптическая плотность сыворотки	Результат	Титр антител
от 0 до ( $ОП_{крит} - 0,05$ )	отрицательный	–
от ( $ОП_{крит} - 0,05$ ) до ( $ОП_{крит} + 0,05$ )	сомнительный	менее 1:5
от ( $ОП_{крит} + 0,05$ ) до $2 \times ОП_{крит}$	слабоположительный	1:5
от $2 \times ОП_{крит}$ до $3 \times ОП_{крит}$	положительный	1:10
от $3 \times ОП_{крит}$ до $6 \times ОП_{крит}$	положительный	1:20
от $6 \times ОП_{крит}$ до $9 \times ОП_{крит}$	сильноположительный	1:40
более $9 \times ОП_{крит}$	сильноположительный	1:80

*При динамическом наблюдении пациента с целью получения результатов, адекватно отражающих изменение концентрации маркера в крови, необходимо*

*использовать наборы реагентов одного наименования (одного предприятия-изготовителя).*

При получении сомнительного результата проанализировать сыворотку, полученную через 10-15 дней, параллельно с первым образцом, чтобы проследить за возможным изменением содержания суммарных антител к антигену *CagA H. pylori* у пациента.

Простой серологический тест не может быть использован для постановки диагноза. Все клинические и лабораторные данные должны быть рассмотрены в совокупности.

## 5. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Набор хранить и транспортировать при температуре от 2 до 8°C. Допускается транспортирование при температуре до 25°C не более 10 суток.

Не допускать замораживания!

Срок годности набора – 9 месяцев со дня выпуска.

По вопросам, касающимся качества набора, обращаться

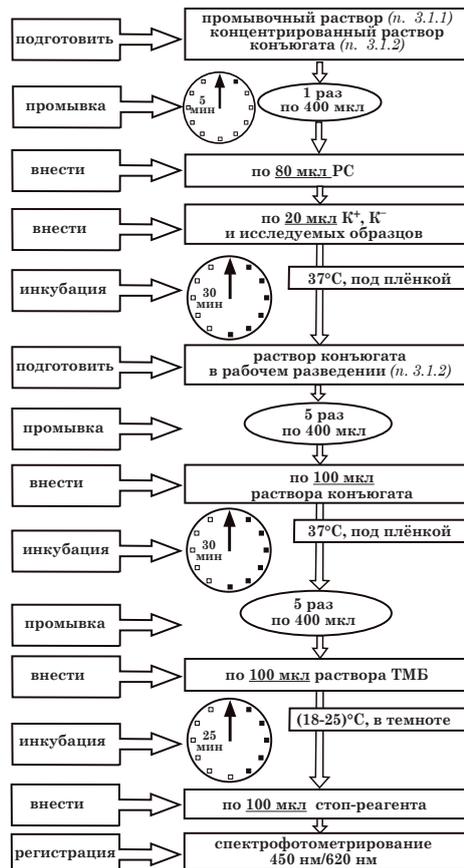
в ЗАО «Вектор-Бест» по адресу:

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) 332-81-44.

06.04.10

## Схема анализа D-3752



**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](mailto:vbmarket@online.nsk.su)

Internet: [www.vector-best.ru](http://www.vector-best.ru)