

ВЕКТОР



Набор реагентов  
для иммуноферментного  
выявления HBsAg

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

---

---

**Вектоген В – HBs-антиген**  
(комплект 1)

НАБОР РЕАГЕНТОВ  
**D-0555**

**«Вектоген В – HBs-антиген (комплект 1)»** 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 антителами, иммобилизованными на поверхности лунок полистиролового планшета. Комплекс «антиген-антитело» выявляют с помощью иммуноферментного конъюгата.

Набор содержит все необходимые для проведения анализа реагенты, кроме дистиллированной воды. Один набор рассчитан на проведение 192 анализов, включая контроли (по 7 лунок каждого планшета используют для постановки контролей).

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 1)» предназначен для выявления HBs-антигена в образцах сыворотки (*плазмы*) крови человека 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<sup>+</sup>), содержит 4±2 МЕ/мл HBsAg ауw 2 субтипа, прозрачная жидкость красного цвета – 1 фл., 1,5 мл;
- слабоположительный контрольный образец, инактивированный (K<sup>+</sup><sub>слаб</sub>), содержит 0,2±0,1 МЕ/мл HBsAg ауw 3 субтипа (*лиофильно высушенная масса кремового цвета*) – 2 фл.;
- отрицательный контрольный образец, инактивированный (K<sup>-</sup>), прозрачная или с лёгкой опалесценцией жидкость жёлтого цвета – 1 фл., 1 мл;
- конъюгат, концентрат – поликлональные антитела к HBsAg, конъюгированные с пероксидазой хрена; (*жидкость синего цвета*) – 1 фл., 1,2 мл;
- раствор для разведения конъюгата (PK), прозрачная опалесцирующая жидкость – 2 фл. по 5 мл;
- субстратный буферный раствор (СБР), прозрачная бесцветная жидкость – 2 фл. по 13 мл;
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 1 фл., 28 мл;
- тетраметилбензидин (ТМБ), концентрат – 1 фл., 1,5 мл;
- стоп-реагент – 1 фл., 21 мл;
- плёнка для заклеивания планшета – 2 шт.;
- ванночка для реагентов – 2 шт.;
- наконечники для пипетки – 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)°C не более 5 суток, либо при минус (20-40)°C, 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, гемолизированные, гиперлипидные сыворотки или подвергавшиеся многократному замораживанию и оттаиванию.
- Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать не менее 30 мин при комнатной температуре (18-25)°C.
- Лиофилизированные компоненты должны быть восстановлены, как минимум, за 15 минут до их использования.
- Сразу после постановки реакции неиспользованный планшет и плотно закрытые флаконы с исходными компонентами необходимо поместить в холодильник (2-8)°C.
- Растворы ТМБ и конъюгата готовить непосредственно перед использованием. Необходимо исключить воздействие прямого света на раствор ТМБ.
- При промывке лунки (*стрипа, планшета*) заполнять полностью (**400 мкл промывочного раствора**), 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. Для автоматических промывателей рекомендуется режим промывки с переполнением (**overflow**).
- При использовании автоматического или руч-

ного промывателя необходимо следить за состоянием 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, СБР, 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.
- Ванночки, используемые для работы с растворами конъюгата и ТМБ, не обрабатывать дезинфицирующими растворами и моющими средствами.
- В случае повторного использования ванночки для раствора конъюгата промыть дистиллированной водой; 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 во время проведения ИФА обрабатывать 70% раствором этилового спирта. Не использовать во время проведения ИФА перекись водорода, хлорамин и т.д.

### 3.1. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

*Для проведения ИФА на 1 планшете*

#### 3.1.1. Промывочный раствор

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  $K^+$ <sub>слаб</sub> добавить **500 мкл дистиллированной воды** и тщательно пере-

мешать до полного растворения сыворотки. Выдержать при комнатной температуре в течение 15 мин.

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

Слабоположительный контрольный образец  $K^+$ <sub>слаб</sub> 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.

В 1 флакон с **РК** добавить **500 мкл конъюгата** (концентраата) и тщательно перемешать пипетированием.

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

### 3.1.4. Раствор ТМБ в рабочем разведении

**Внимание!** Раствор ТМБ готовить непосредственно перед использованием!

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

К содержимому флакона с СБР добавить **650 мкл раствора ТМБ**, тщательно перемешать.

Раствор стабилен в защищённом от света месте при (18-25)°С до 3-х ч.

## 3.2. ПРОВЕДЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

3.2.1. Приготовить промывочный раствор (п. 3.1.1), слабоположительный контрольный образец (п. 3.1.2) и раствор конъюгата (п. 3.1.3).

3.2.2. В любые лунки планшета внести контрольные образцы: в 3 лунки – по **100 мкл  $K^-$** , в 2 лунки – по **100 мкл  $K^+$ <sub>слаб</sub>**, в 2 лунки – по **100 мкл  $K^+$** . В остальные лунки – по **100 мкл исследуемых сывороток**.

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

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

3.2.4. Планшет заклеить плёнкой, инкубировать в соответствии с выбранной процедурой:

процедура 1 — 44°С 1 час, шейкер, 500 об/мин;

процедура 2 — 37°С 2 часа, шейкер, 500 об/мин;

процедура 3 — 37°С 18±0,5 часов.

3.2.5. По окончании инкубации содержимое лунок собрать в сосуд с дезинфицирующим раствором. Лунки планшета промыть 5 раз промывочным раствором. Затем необходима однократная промывка дистиллированной водой для удаления остатков солевого буфера с твином.

**Внимание!** При ручной промывке планшета каждую лунку 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.

По окончании промывки необходимо тщательно удалить влагу из лунок, постукивая перевернутым планшетом по сложенной в несколько слоев фильтровальной бумаге. Не допускать высыхания лунок планшета между отдельными операциями при постановке реакции.

При использовании автоматического промывателя рекомендуется режим промывки с переполнением (*overflow*) и крестообразная аспирация (*crosswise*).

3.2.6. Приготовить раствор ТМБ в рабочем разведении (п. 3.1.4).

Внести во все лунки по 100 мкл раствора ТМБ в рабочем разведении.

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

Выдержать планшеты в защищенном от света месте при (18-25)°C 30 мин или при 37°C 20 мин.

3.2.7. Реакцию остановить добавлением

в лунки по 100 мкл стоп-реагента и через 2-3 мин измерить оптическую плотность (ОП).

**Внимание!** Следует избегать попадания стоп-реагента (0,5 М H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 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. Выведения 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<sup>-</sup> (ОП<sub>cp</sub> K<sup>-</sup>), K<sup>+</sup> (ОП<sub>cp</sub> K<sup>+</sup>) и K<sup>+ слаб</sup> (ОП<sub>cp</sub> K<sup>+ слаб</sup>).

4.1.2. Значение ОП<sub>cp</sub> K<sup>+</sup> должно быть не менее 1,0 ед. опт. пл.

4.1.3. Значение ОП<sub>cp</sub> K<sup>-</sup> 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  $0,6 \times \text{ОП}_{\text{ср}} K^-$  до  $1,4 \times \text{ОП}_{\text{ср}} K^-$ . Исключить ОП  $K^-$ , выходящие из этих пределов, и пересчитать ОП  $K^-$ . При этом должно остаться больше половины отрицательных контролей.

4.1.5. Вычислить критический уровень оптической плотности (ОП<sub>крит</sub>) по формуле:

$$\text{ОП}_{\text{крит}} = \text{ОП}_{\text{ср}} K^- + 0,04.$$

4.1.6. Значение ОП<sub>ср</sub>  $K^+$  *слаб* должно превышать ОП<sub>крит</sub>.

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<sub>крит</sub>. 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<sub>крит</sub>. **Отрицательный**

результат указывает, что тестируемая сыворотка **не содержит HBsAg** или содержит HBsAg в концентрации ниже определяемого тест-системой уровня.

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

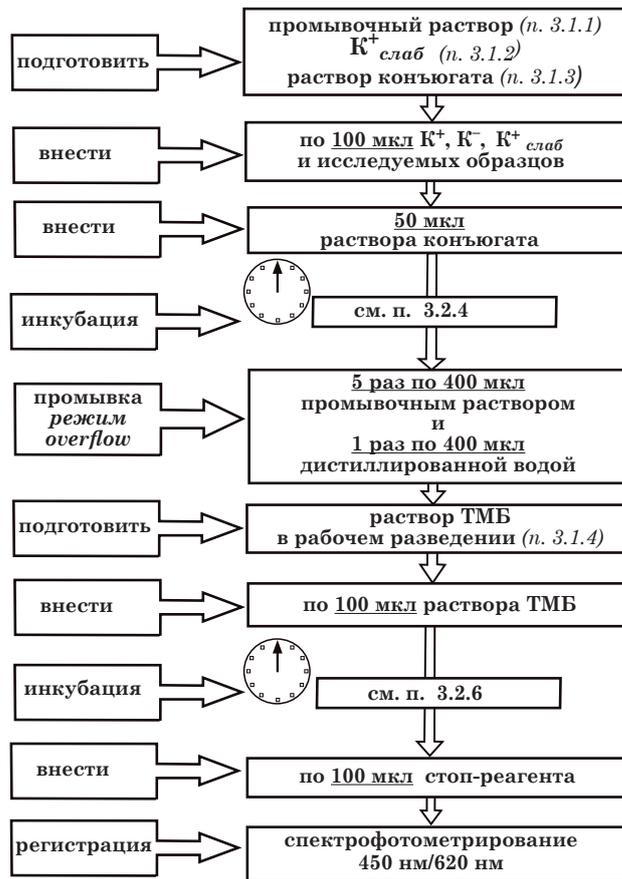
*в ЗАО «Вектор-Бест» по адресу:*

*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.*

**24.09.10**

## Схема анализа D-0555



**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)