

ВЕКТОР



Набор реагентов  
для иммуноферментного выявления  
иммуноглобулинов класса G  
к HBe-антигену вируса гепатита В

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

---

---

**ВекторHBe-IgG**

НАБОР РЕАГЕНТОВ  
**D-0578**



## **1. НАЗНАЧЕНИЕ**

**1.1.** Набор реагентов «ВектоНВе-IgG» (далее по тексту – набор) предназначен для выявления иммуноглобулинов класса G (IgG) к НВе-антигену вируса гепатита В (НВеAg) в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

**1.2.** Набор рассчитан на проведение 96 анализов, включая контроли.

**1.3.** Набор адаптирован для постановки ИФА на аналитических анализаторах открытого типа («LAZURITE», производитель «DYNEX TECHNOLOGIES»; «TECAN Freedom EVOlyzer», производитель «TECAN»; «EVOLIS», производитель «BIO-RAD» и др.).

## **2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА**

### **2.1. ПРИНЦИП МЕТОДА**

Метод определения представляет собой твердофазный иммуноферментный анализ. Специфическими реагентами набора являются: рекомбинантный НВеAg, сорбированный на поверхности лунок полистиролового разборного планшета, конъюгат моноклональных антител к IgG человека с пероксидазой хрена, положительный и отрицательный контрольные образцы.

На первой стадии анализа исследуемые и контрольные образцы инкубируют в лунках планшета с иммобилизованным НВеAg. Имеющиеся в сыворотке специфические антитела

к НВеАg связываются с антигеном, формируя комплекс антиген-антитело. На второй стадии связавшиеся специфические IgG взаимодействуют с конъюгатом моноклональных антител против IgG человека с пероксидазой хрена. Комплекс «антиген-антитело-конъюгат» выявляется цветной реакцией с использованием субстрата пероксидазы – перекиси водорода и хромогена – тетраметилбензидина. После добавления раствора стоп-реагента измеряют оптическую плотность растворов в лунках при длине волны 450 нм, референс-фильтр в диапазоне 620–655 нм. Интенсивность окрашивания пропорциональна количеству содержащихся в исследуемом образце IgG к НВеАg.

## 2.2. СОСТАВ НАБОРА

- планшет разборный (12 восьмилуночных стрипов) с иммобилизованным на внутренней поверхности лунок рекомбинантным НВе-антигеном, готовый для использования – 1 шт.;
- положительный контрольный образец, инактивированный ( $K^+$ ; прозрачная жидкость красного цвета) – 1 фл., 1,5 мл;
- слабopоложительный контрольный образец, инактивированный ( $K^+$ <sub>слаб.</sub>; прозрачная жидкость зеленого цвета) – 1 фл., 1,5 мл;
- отрицательный контрольный образец, инактивированный ( $K^-$ ; прозрачная жидкость желтого цвета) – 1 фл., 3,0 мл;

- конъюгат (моноклональные антитела к IgG человека, меченные пероксидазой хрена; прозрачная жидкость синего цвета) – 1 фл., 13 мл;
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25; прозрачная бесцветная жидкость, допускается наличие небольшого осадка солей, исчезающего при нагревании) – 2 фл. по 28 мл;
- раствор для разведения сывороток (PPC; прозрачная жидкость фиолетового цвета) – 1 фл., 12 мл;
- раствор ТМБ (прозрачная бесцветная или светло-желтого цвета жидкость) – 1 фл., 13 мл;
- стоп-реагент (прозрачная бесцветная жидкость) – 1 фл., 12 мл;
- пленка для заклеивания планшета – 2 шт.;
- пластиковая ванночка для реагентов – 2 шт.;
- наконечники для пипетки – 16 шт.;
- инструкция по применению – 1 шт.

### **3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ**

**3.1.** Специфичность выявления IgG к HBeAg по Стандартной панели предприятия (СПП), % – 100.

**3.2.** Чувствительность выявления IgG к HBeAg по СПП, % – 100.

## 4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2б (ГОСТ Р 51609-2000, приказ Минздравсоцразвития России №735 от 30 октября 2006 г.).

4.2. Все компоненты набора, за исключением стоп-реагента, 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.*

4.3. 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.).

4.4. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как исследуемые образцы сыворотки крови человека следует рассматривать как потенциально инфекционные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатитов и возбудителей других инфекций.

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

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

**4.7.** Для дезинфекции исследуемых образцов, посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, следует использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, например, комбинированные средства на основе ЧАС (четвертичных аммониевых соединений), спиртов, третичных аминов.

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

**4.8. 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, 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, кото-

рые могут менять ферментативную активность конъюгатов;

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

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

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

- 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 конъюгата и раствора ТМБ;

- перед отбором раствора ТМБ из флакона необходимо протирать конус пипетки (внутреннюю и внешнюю поверхности) 70% этиловым спиртом, так как малейшее загрязнение пипеток конъюгатом может привести к контаминации всего содержимого флакона с раствором ТМБ;

- проверяйте 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.

**Качество промывки лунок планшета играет важную роль для получения правильных результатов анализа:**

1. Для аспирации анализируемых образцов и последующей промывки рекомендуется использовать автоматическое или ручное промывочное устройство.

2. Используйте указанный в инструкции режим промывки.

3. Не допускайте высыхания лунок планшета в перерыве между завершением промывки и внесением реагентов.

4. Добивайтесь полного заполнения и опорожнения всех лунок планшета в процессе промывки.

5. Недостаточная аспирация жидкости в процессе промывки может привести к понижению чувствительности и специфичности анализа.

6. Следите за состоянием промывочного устройства – регулярно (1 раз в неделю) обрабатывайте шланги и емкости 70% этиловым спиртом.

7. Для предотвращения засорения игл промывочного устройства в конце рабочего дня обязательно выполните процедуру ополаскивания системы подачи жидкости дистиллированной водой.

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

- спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках стрипов в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–655 нм или в одноволновом режиме при длине волны 450 нм;
- промыватель планшетов ручной или автоматический любых типов;
- холодильник бытовой;
- термостат, поддерживающий температуру  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ ;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 5 до 5000 мкл;
- пипетка полуавтоматическая многоканальная со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объемы жидкостей до 350 мкл;
- перчатки резиновые хирургические;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- флаконы стеклянные вместимостью 15 мл (ТУ 64-2-10-87);
- цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 100 мл и 1000 мл (ГОСТ 1770-74Е);
- вода дистиллированная.

## **6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ**

**6.1.** Для проведения анализа не следует использовать гемолизованную, мутную сыворотку крови.

**6.2.** Образцы сыворотки крови можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 5 суток, либо при температуре минус 20°C (и ниже) в течение 3 месяцев при условии отсутствия микробной контаминации. Полученные образцы можно замораживать/оттаивать только один раз, т.к. повторное замораживание/оттаивание приводит к получению неправильных результатов. После размораживания образцы следует тщательно перемешать. Замороженные образцы хранить при температуре минус 20°C (и ниже).

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

**6.4.** Для отбора исследуемых образцов и реагентов использовать пипетки, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (погрешность не более 3%).

## **7. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ**

**7.1.** Перед работой извлечь набор из холодильника, вскрыть упаковку и выдержать все компоненты набора, в том числе и запечатанный пакет с планшетом, при температуре от 18 до 25°C не менее 60 мин.

**7.2.** Контрольные образцы ( $K^+$ ,  $K^+$ <sub>слаб.</sub> и  $K^-$ ), конъюгат, раствор ТМБ и стоп-реагент готовы к использованию и не требуют дополнительного разведения.

### 7.3. ПРАВИЛА РАБОТЫ ПРИ ДРОБНОМ ИСПОЛЬЗОВАНИИ НАБОРА

**7.3.1.** Растворы из флаконов отбирать только одноразовыми индивидуальными наконечниками для пипеток.

**7.3.2.** После отбора части содержимого флаконы сразу плотно закрыть завинчивающимися крышками, поместить в холодильник и хранить при 2–8°C в течение всего срока годности набора.

### 7.4. ПОДГОТОВКА ПЛАНШЕТА

Вскрыть пакет выше замка и установить на рамку необходимое для проведения анализа количество стрипов. Оставшиеся неиспользованные стрипы немедленно поместить вновь в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух, плотно закрыть замок и поместить в холодильник.

*Хранение:* при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора.

### 7.5. ПРИГОТОВЛЕНИЕ ПРОМЫВОЧНОГО РАСТВОРА

Промывочный раствор приготовить разведением исходного концентрата фосфатно-солевого буферного раствора с твином в 25 раз.

**Таблица расхода компонентов набора реагентов  
для ручной постановки**

Количество исполь- зуемых стрипов	Конъюгат, мл	Раствор ТМБ, мл	Промывочный раствор	
			ФСБ-Т, концентрат, мл	Дистил. вода, мл
1	1,0	1,0	2,0	до 50
2	2,0	2,0	4,0	до 100
3	3,0	3,0	6,0	до 150
4	4,0	4,0	8,0	до 200
5	5,0	5,0	10,0	до 250
6	6,0	6,0	12,0	до 300
7	7,0	7,0	14,0	до 350
8	8,0	8,0	16,0	до 400
9	9,0	9,0	18,0	до 450
10	10,0	10,0	20,0	до 500
11	11,0	11,0	22,0	до 550
12	12,0	12,0	24,0	до 600

Для этого в соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) внести в мерный цилиндр необходимое количество концентрата ФСБ-Т и довести до соответствующего объема дистиллированной водой.

При выпадении осадка солей в концентрате необходимо прогреть его при температуре от 30 до 40°С до полного растворения осадка.

Хранение: не более 5 суток при 2–8°С.

## 7.6. ПОДГОТОВКА КОНЬЮГАТА

В зависимости от числа используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) отобрать в чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента необходимое количество конъюгата.

Остатки конъюгата из флакона или ванночки утилизировать (*не сливать во флакон с исходным конъюгатом*).

## 7.7. ПОДГОТОВКА РАСТВОРА ТМБ

В зависимости от числа используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов), отобрать в чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента необходимое количество раствора ТМБ.

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

**Внимание!** Для работы с раствором ТМБ необходимо использовать только одноразовые наконечники. Посуду, предназначенную для раствора ТМБ, нельзя отмывать с применением синтетических моющих средств, поскольку даже их следы ведут к неконтролируемому разложению ТМБ в ходе реакции. После работы посуду ополоснуть водой, промыть 70% этиловым спиртом и тщательно отмыть дистиллированной водой.

## 8. ПРОВЕДЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

**Внимание!** При постановке ИФА на автоматических анализаторах в случае дробного использования набора не помещать флаконы, входящие в состав набора, в камеру анализатора, а для каждой постановки необходимое количество компонентов отбирать в отдельную чистую емкость. Исключение составляет стоп-реагент – взаимозаменяемый компонент для всех наборов ЗАО «Вектор-Бест», не требующий хранения в холодильнике в течение всего срока годности.

*Внесение контрольных и исследуемых образцов проводить достаточно быстро, в течение 5–7 мин, так как при длительном времени внесения образцов в лунки планшета времени инкубации первого и последнего образцов значительно отличаются, что может привести к неправильной оценке результатов.*

**8.1.** Внести контрольные образцы:

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

В остальные лунки внести по 90 мкл РРС и по 10 мкл цельных исследуемых сывороток, тщательно перемешать, при этом цвет раствора меняется с фиолетового на синий. Таким образом, исследуемая сыворотка в лунке разбавляется в 10 раз.

**8.2.** Отрезать пленку для заклеивания планшета требуемого размера. Стрипы закрыть, плотно прижав пленку. Инкубировать 30 мин в термостате при температуре 37°C.

**8.3.** По окончании инкубации снять липкую пленку и поместить ее в сосуд с дезинфицирующим раствором. С помощью промывочного устройства промыть лунки планшета 5 раз промывочным раствором (п. 7.5.), чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок каждого стрипа. В каждую лунку вносить не менее 400 мкл жидкости в процессе каждого цикла промывки. *Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого их заполнения.* По окончании промывки остатки влаги из лунок тщательно удалить, постукивая перевернутым планшетом по фильтровальной бумаге.

**8.4.** Внести во все лунки по 100 мкл конъюгата,

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

**8.5.** Планшет закрыть липкой пленкой и инкубировать 30 мин в термостате при температуре 37°C.

**8.6.** По окончании инкубации стрипы промыть 5 раз, как описано в п. 8.3.

**8.7.** Внести во все лунки по 100 мкл раствора ТМБ и инкубировать в темноте в течение 25 мин при температуре 18–25°C.

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

**8.8.** Внести во все лунки по 100 мкл стоп-реактента.

## **9. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ**

Измерить величину оптической плотности растворов в лунках на спектрофотометре вертикального сканирования в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр в диапазоне 620–655 нм. Допускается измерение оптической плотности на одной длине волны – 450 нм.

Время между остановкой реакции и измерением оптической плотности не должно превышать 5 мин.

## 10. КРАТКАЯ СХЕМА ИФА

*Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!*

**Внести:** по 100 мкл  $K^+$ ,  $K^+$ <sub>слаб.</sub>,  $K^-$ ;  
по 90 мкл РРС и по 10 мкл  
цельных исследуемых сыворо-  
ток.

**Инкубировать:** 30 мин, 37°C.

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

**Внести:** по 100 мкл конъюгата.

**Инкубировать:** 30 мин, 37°C.

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

**Внести:** по 100 мкл раствора ТМБ.

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

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

**Измерить:** ОП при 450 нм / референсная  
длина волны 620–655 нм.

## 11. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

11.1. Рассчитать среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом ( $ОП_{ср} K^-$ ).

11.2. На основании полученных данных вычислить критическое значение оптической плотности ( $ОП_{крит}$ ) по формуле:

$$ОП_{крит} = ОП_{ср} K^- + 0,2$$

Результаты анализа учитывать при соблюдении следующих условий:

- значение  $ОП_{ср} K^-$  должно быть не более 0,2;
- значение оптической плотности в лунке со слабopоложительным контрольным образцом должно не менее  $ОП_{крит}$ .
- значение оптической плотности в лунке с положительным контрольным образцом должно не менее чем в 5 раз превышать  $ОП_{ср} K^-$ .

11.3. Результат анализа считать **положительным**, если  $ОП_{обр} \geq ОП_{крит}$ .

Результат анализа считать **отрицательным**, если  $ОП_{обр} < ОП_{крит}$ , где  $ОП_{обр}$  – оптическая плотность в лунке с исследуемым образцом.

11.4. Слабopоложительный контрольный образец служит для контроля качества поставки ИФА.  $K^+_{слаб}$  можно использовать для оценки воспроизводимости результатов измерений в лаборатории.

**11.5.** При динамическом наблюдении пациента для получения результатов, адекватно отражающих изменение концентрации иммуноглобулинов класса G к HBe-антигену вируса гепатита В в крови, необходимо использовать наборы реагентов одного наименования (одного предприятия-изготовителя).

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

**12.1.** Набор реагентов «ВектоHBe-IgG» следует хранить и транспортировать в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности (12 мес.). Допускается транспортирование набора при температуре до 25°C не более 10 суток.

Замораживание компонентов набора не допускается.

**12.2.** Дробное использование набора может быть реализовано в пределах всего срока годности.

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

**По вопросам, касающимся качества набора реагентов, следует обращаться в ЗАО «Вектор-Бест»**

по адресу:

630559, Новосибирская обл.,

Новосибирский район,

п. Кольцово, а/я 121,

тел. (383) 336-73-46,

тел./факс (383) 332-67-49,

e-mail: vbobtk@vector-best.ru

**За справками и консультацией обращаться:**

в лабораторию маркеров вирусных инфекций,

тел. (383) 227-75-40

10.03.10.





**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)