

ВЕКТОР



Набор реагентов  
для иммуноферментного  
выявления HBsAg

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

---

**Вектогел В-НВs-антиген**  
(комплект 4)

НАБОР РЕАГЕНТОВ  
**D-0584**



## **1. НАЗНАЧЕНИЕ**

**1.1.** Набор реагентов «Вектогеп В-НВs-антиген» (комплект 4) (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 96 неизвестных образцов, включая контроли. Для исследования небольшой партии проб возможны 12 независимых постановок ИФА по 8 анализов, включая контроли.

## **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 620–655 нм.

Интенсивность окрашивания пропорциональна концентрации HBsAg в анализируемых образцах.

### 3. СОСТАВ НАБОРА

- иммуносорбент – планшет разборный с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок моноклональными антителами к HBsAg, 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>; концентрация HBsAg (0,2±0,1) МЕ/мл; прозрачная жидкость желто-коричневого цвета) – 1 фл., 1,5 мл;
- отрицательный контрольный образец, инактивированный ( $K^-$ ; прозрачная или с легкой опалесценцией жидкость желтого цвета) – 1 фл., 2,5 мл;
- конъюгат, концентрат (антитела к HBs-антигену, конъюгированные с пероксидазой хрена; прозрачная жидкость синего цвета) – 1 фл., 4,0 мл;
- раствор для разведения конъюгата (РРК; прозрачная бесцветная жидкость) – 1 фл., 13,0 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) – 1 фл., 28,0 мл;
- субстратный буферный раствор (СБР; прозрачная бесцветная жидкость) – 1 фл., 13,0 мл;
- тетраметилбензидин, концентрат (ТМБ; прозрачная бесцветная или светло-желтого цвета жидкость) – 1 фл., 1,0 мл;

- стоп-реагент (прозрачная бесцветная жидкость) – 1 фл., 12,0 мл.
- пленка для заклеивания планшета – 2 шт.;
- пластиковая ванночка для реагентов – 2 шт.;
- наконечники для пипеток – 16 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-эпидеми-

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

Использование дезинфицирующих средств, содержащих активный кислород и хлор ( $H_2O_2$ , 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;

– 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;

– 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 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;

– проверяйте пипетки и другое оборудование на точность и правильность работы;

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

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

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.

## **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 620–655 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;
- вода дистиллированная.

## **7. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ**

**7.1.** Для проведения анализа не следует использовать гемолизованную, 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**

**8.1.** Перед проведением анализа исследуемые образцы и все компоненты набора, в том числе и запечатанный пакет с планшетом, следует выдержать при температуре от 18 до 25°C не менее 60 мин.

## 8.2. ПРАВИЛА РАБОТЫ ПРИ ДРОБНОМ ИСПОЛЬЗОВАНИИ НАБОРА

**8.2.1.** Растворы из флаконов отбирать только одноразовыми индивидуальными накопечниками для пипеток.

**8.2.2.** После первого вскрытия флаконы сразу плотно закрыть заворачивающимися крышками, поместить в холодильник и хранить при 2–8°C в течение всего срока годности набора.

## 8.3. 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.*

## 8.4. ПРИГОТОВЛЕНИЕ ПРОМЫВОЧНОГО РАСТВОРА

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

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

**Таблица расхода компонентов набора реагентов**

Количество одно- временно исполь- зуемых стрипов	Рабочий раствор конъюгата		Рабочий раствор ТМБ		Промывочный раствор	
	Конъюгат, концентрат, мл	РРК, мл	ТМБ, концентрат, мл	СБР, мл	ФСБ-Т, концентрат, мл	Дистил. вода, мл
1	0,25	1,0	0,05	1,0	2,0	до 50
2	0,50	2,0	0,10	2,0	4,0	до 100
3	0,75	3,0	0,15	3,0	6,0	до 150
4	1,00	4,0	0,20	4,0	8,0	до 200
5	1,25	5,0	0,25	5,0	10,0	до 250
6	1,50	6,0	0,30	6,0	12,0	до 300
7	1,75	7,0	0,35	7,0	14,0	до 350
8	2,00	8,0	0,40	8,0	16,0	до 400
9	2,25	9,0	0,45	9,0	18,0	до 450
10	2,50	10,0	0,50	10,0	20,0	до 500
11	2,75	11,0	0,55	11,0	22,0	до 550
12	3,00	12,0	0,60	12,0	24,0	до 600

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

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

#### 8.5. ПОДГОТОВКА КОНТРОЛЬНЫХ ОБРАЗЦОВ

Контрольные образцы готовы к использованию и не требуют дополнительного разведения.

## 8.6. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧЕГО РАСТВОРА КОНЬЮГАТА

**Внимание!** При приготовлении рабочего раствора конъюгата использовать пластиковую ванночку для реагентов и одноразовые наконечники для пипетки!

В соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) в пластиковую ванночку для реагентов, входящую в состав набора, внести необходимое количество РРК и добавить соответствующее количество концентрата конъюгата, тщательно перемешать.

Хранение: до 8 часов при 18–25°C.

## 8.7. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧЕГО РАСТВОРА ТЕТРАМЕТИЛБЕНЗИДИНА

**Внимание!** Рекомендуется выделить наконечники для пипеток, которые использовать только для работы с тетраметилбензидином. Посуду и наконечники для пипетки, контактирующие с раствором ТМБ, нельзя отмывать с применением синтетических моющих средств, поскольку даже их следы ведут к неконтролируемому разложению ТМБ в ходе реакции. После работы посуду и наконечники ополоснуть водой, промыть 70% этиловым спиртом и тщательно отмыть дистиллированной водой.

В соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) в отдельный чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента внести необходимое количество СБР,

добавить соответствующее количество концентрата ТМБ, 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.

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

## 9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

**9.1.** Внести контрольные образцы:

- 1 лунка – 100 мкл  $K^+$ ;
- 1 лунка – 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 лунку D-1 – 100 мкл  $K^+$ ; в лунку E-1 – 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 снять лишнюю пленку и поместить ее в сосуд с дезинфицирующим раствором. С помощью промывочного устройства промыть лунки планшета 5 раз промывочным раствором (п. 8.4.), 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.

**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 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. 8.6.).

**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° С 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. 8.7.) и инкубировать в темноте в течение 25 мин при температуре 18–25°С.

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

**9.8.** Внести во все лунки по 100 мкл стоп-реagensта.

## **10. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ**

Измерить величину оптической плотности растворов в лунках стрипов на спектрофотометре вертикального сканирования в двухволновом режиме: при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–655 нм; или при длине волны 450 нм.

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

## **11. 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:** промывочным раствором, 400 мкл, 5 раз.

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

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

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

- Внести:** по 100 мкл рабочего раствора тетраметилбензидаина.
- Инкубировать:** 25 мин при 18–25°C в темноте.
- Внести:** по 100 мкл стоп-реагента.
- Измерить:** ОП при 450 нм / референсная длина волны 620–655 нм.

## 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<sub>ср</sub> К<sup>-</sup> пересчитать.

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

**12.2.4.** Значение оптической плотности в лунке со слабоположительным контрольным образцом должно быть больше ОП<sub>крит</sub>.

**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.

**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» (комплект 4) 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,  
тел./факс (383) 332-67-49.  
e-mail: vbobtk@vector-best.ru

и в Федеральное государственное учреждение науки  
«Государственный НИИ стандартизации и контроля  
медицинских биологических препаратов  
им. Л.А.Тарасевича» Роспотребнадзора по адресу:  
119002, Москва,  
пер. Сивцев Вражек, 41,  
тел. 241-39-22.

За справками и консультацией обращаться:  
в лабораторию маркеров вирусных инфекций,  
тел. (383) 227-75-40

14.07.10.

**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)