«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»

_____ М.Д. Хусаинов

«28» _____ 2021 г.

м.п.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для иммуноферментного выявления HBsAg для автоматических ИФА анализаторов (Вектоген B-HBs-антиген-авто)

Комплект 1

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор «Вектоген B-HBs-антиген-авто» предназначен для иммуноферментного выявления поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg) в сыворотке (плазме) крови, препаратах крови человека (иммуноглобулины, интерфероны, криопреципитат, альбумин).

1.2. Комплект 1 набора рассчитан на проведение 192 определений, включая контроли, с возможностью 24 независимых постановок анализа. Набор предназначен для использования в автоматических ИФА анализаторах открытого типа. Возможна постановка анализа «вручную».

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

Принцип метода заключается во взаимодействии HBsAg с моноклональными антителами, иммобилизованными на поверхности лунок полистиролового планшета. Комплекс «антиген-антитело» выявляют с помощью конъюгата поликлональных антител с пероксидазой хрена.

2.2. Состав набора:

– планшет разборный с иммобилизованными моноклональными антителами к HBsAg – 2 шт.;

– положительный контрольный образец ($К^+$), инактивированный, содержит 4,0±2,0 МЕ/мл HBsAg – 2 фл., по 1,5 мл;

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

– слабоположительный контрольный образец ($К^{+}_{слаб}$), инактивированный, содержит 0,2±0,1 МЕ/мл HBsAg – 2 фл., по 1,5 мл;

– отрицательный контрольный образец ($К^{-}$), инактивированный – 2 фл., по 2,5 мл;

– конъюгат, концентрат – поликлональные антитела к HBsAg, меченые пероксидазой хрена – 2 фл., по 1,4 мл;

– раствор для разведения конъюгата (РК) – 2 фл., по 14,0 мл;

– концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 3 фл., по 28,0 мл;

– тетраметилбензидин, концентрат (ТМБ) – 2 фл., по 1,5 мл;

– субстратный буферный раствор (СБР) – 2 фл., по 20,0 мл;

– стоп-реагент – 2 фл., по 21,0 мл.

Набор дополнительно комплектуется:

– самоклеющимися этикетками со штрих-кодами для реагентов – 2 комплекта.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Чувствительность: минимальная концентрация HBsAg, определяемая по стандартному образцу предприятия, содержащему HBsAg субтипов ad и ay (рег. № 05-2-520), не превышает 0,05 МЕ/мл и 0,05 ед. П-Э/мл при процедуре 1; не превышает 0,01 МЕ/мл и 0,01 ед. П-Э/мл при процедуре 2.

3.2. Специфичность контролируется по стандартной панели предприятия образцов сывороток крови, не содержащих HBsAg (рег. № 05-2-527), и составляет 100 %.

3.3. Диагностическая чувствительность: клинические испытания, проведенные на 284 положительных образцах сывороток и плазм крови от 259 больных гепатитом В в острой и хронической формах, показали 100% чувствительность (интервал 98,9%-100% с доверительной вероятностью 90%);

3.4. Диагностическая специфичность: клинические испытания, проведенные на 254 отрицательных образцах сывороток и плазм крови от 229 условно здоровых доноров крови, больных с другими инфекционными заболеваниями (больные гепатитом С, гепатитом А, ВИЧ-инфицированные пациенты), пациентов с положительным ревматоидным фактором, беременных и многорожавших женщин, показали 100% специфичность (интервал 98,7%-100% с доверительной вероятностью 90%).

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 3 (Приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

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

- работать в резиновых перчатках;

- все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями с СП 1.3.2322-08 и МУ 287-113 от 30.12.98.

- Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- автоматический ИФА анализатор открытого типа;

- пипетка полуавтоматическая одноканальная со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объёмы жидкостей от 100 до 1000 мкл, аттестованная по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (погрешность не более 5%);

- холодильник бытовой;

- перчатки медицинские диагностические одноразовые (ГОСТ Р 52239-2004);

- цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 1000 мл (ГОСТ 1770-74);

- вода дистиллированная (ГОСТ 6709-72);

- дезинфицирующие средства, разрешенные к применению в соответствии с указанием СП 1.3.2322-08 и МУ 287-113.

При постановке анализа «вручную» вместо автоматического ИФА-анализатора:

- спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках стрипов при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620 - 655 нм; допускается измерение при одной длине волны – 450 нм;

- термостатируемый шейкер орбитального типа на 400–800 об/мин, поддерживающий температуру (37±1) °С и (44±1) °С;

- автоматический промыватель для планшетов;

- пипетки полуавтоматические многоканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкостей от 10 до 300 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (погрешность не более 5%);

- флаконы стеклянные вместимостью 15 мл (ТУ 64-2-10-87);

- бумага фильтровальная лабораторная (ГОСТ 12026-76).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Для анализа использовать образцы сыворотки и плазмы (полученной с использованием в качестве антикоагулянта цитрата натрия, гепарина или ЭДТА). Допускается использование образцов, хранившихся при температуре (2–8) ºС не более 5 суток, либо при температуре минус (20 ± 4) °С, если необходимо более длительное хранение (допускается однократное замораживание/размораживание).

Сыворотки, содержащие взвешенные частицы, могут дать неправильный результат. Такие образцы перед использованием следует центрифугировать в течение 10-15 мин при 3000 об./мин.

Нельзя использовать проросшие, гемолизированные, гиперлипидные сыворотки или подвергавшиеся многократному замораживанию и оттаиванию.

Лиофильно высушенные препараты крови перед исследованием растворить в соответствии с инструкцией по применению данного препарата. Жидкие препараты крови исследовать неразведенными.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

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

Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать не менее 30 мин при температуре (18-25) °С.

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 при температуре (2–8) ºС.

Необходимо исключить воздействие прямого света на раствор ТМБ в рабочем разведении.

При промывке лунки стрипа заполнять полностью, не допуская переливания промывочного раствора через край лунок, и не касаясь лунок наконечником пипетки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 с.

При использовании автоматического или ручного промывателя необходимо следить за состоянием емкости для промывочного раствора и соединительных шлангов: в них не должно быть «заростов». Раз в неделю желательно емкость для промывочного раствора и шланги промывать 70% спиртом.

Не допускать высыхания лунок планшета между отдельными операциями.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (ФСБ-Т×25, стоп-реагент, СБР, концентрат ТМБ), которые взаимозаменяемы в наборах ЗАО «Вектор-Бест».

Наконечники для пипеток (автоматических дозаторов) следует использовать однократно.

Для дезинфекции посуды и материалов, контактировавших 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, спиртов, третичных аминов (МУ 287-113 от 30.12.98).

Пипетки и рабочие поверхности обрабатывать только 70% раствором этилового спирта. Не использовать перекись водорода, хлорамин и т.д.

7.2. Приготовление реагентов.

7.2.1. 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 (28,0 мл) развести дистиллированной водой до 700 мл.

Хранение: промывочный раствор хранить при температуре (2-8) ºС не более 1 месяца или при температуре (18-25) °С не более 7 дней.

7.2.2. Раствор конъюгата в рабочем разведении

Во флакон с раствором для разведения конъюгата (РК) добавить 1,4 мл концентрата конъюгата и тщательно перемешать.

При дробном использовании набора в чистый флакон отобрать РК в количестве (1,0×V) мл, добавить концентрат конъюгата в количестве (0,1×V) мл, где V – запрашиваемый ИФА-анализатором объем раствора конъюгата в рабочем разведении.

Хранение: раствор конъюгата в рабочем разведении стабилен в течение 1 мес. при температуре (2-8) ºС.

7.2.3. Раствор ТМБ в рабочем разведении

К содержимому флакона с СБР добавить 1,0 мл концентрата ТМБ и тщательно перемешать.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

При дробном использовании набора в чистый флакон отобрать СБР в количестве (1,0×V) мл, добавить концентрат ТМБ в количестве (0,05×V) мл, где V – запрашиваемый ИФА-анализатором объем ТМБ в рабочем разведении.

Хранение: Раствор ТМБ в рабочем разведении стабилен до 10 ч в защищенном от прямого солнечного света месте при температуре (18-25) ºС.

7.3. Проведение анализа

7.3.1. Приготовить промывочный раствор (п. 7.2.1), раствор конъюгата в рабочем разведении (п. 7.2.2), раствор ТМБ в рабочем разведении (п. 7.2.3).

7.3.2. Внести в 3 лунки по 100 мкл $К^-$, в 1 лунку – 100 мкл $К^+_{слаб}$, в 1 лунку – 100 мкл $К^+$. В остальные лунки внести по 100 мкл исследуемых образцов.

При проведении анализа на 1 стрипе для $К^-$ использовать 2 лунки.

7.3.3. Во все лунки внести по 50 мкл приготовленного раствора конъюгата.

7.3.4. Планшет инкубировать, используя один из режимов в зависимости от необходимой чувствительности анализа и резерва времени:

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

процедура 2 — 37°С 3 часа, шейкер, 500 об/мин.

7.3.5. По окончании инкубации содержимое лунок собрать в сосуд с дезинфицирующим раствором, промыть планшет 5 раз промывочным раствором.

<u>Внимание!</u> Каждую лунку при промывке необходимо заполнять полностью (400 мкл промывочного раствора в режиме overflow – избыточной промывки). Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого их заполнения. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. Использовать крестообразное отсасывание жидкости из лунок, чтобы остаточный объём не превышал 10 мкл.

7.3.6. Внести в каждую лунку по 100 мкл раствора ТМБ в рабочем разведении.

Планшет поместить в защищенное от прямого солнечного света место на 25 мин при температуре (18-25) °С или на 20 мин при 37 °С.

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

Следует избегать попадания стоп-реагента на одежду и открытые участки тела. При попадании – промыть большим количеством воды.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты ИФА регистрировать с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность (ОП) в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

фильтр – в диапазоне 620-655 нм. Допустима регистрация результатов только с фильтром 450 нм.

Выведение спектрофотометра на нулевой уровень («бланк») осуществлять по воздуху.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

Вычислить среднее значение оптической плотности (ОП) в лунках с $К^-$ ($ОП_{ср}$ $К^-$).

Значение $ОП_{ср}$ $К^-$ 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.

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

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

$ОП_{крит} = ОП_{ср}$ $К^-$ + 0,04.

Значение ОП $К^+$ должно быть не менее 1,0 ед. опт. пл.

Значение ОП $К^+_{слаб}$ должно превышать $ОП_{крит}$.

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

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

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 анализируемым образцом.

Положительный результат означает, что тестируемый образец содержит HBsAg или неспецифически реагирующий агент.

Образцы, давшие положительный результат при первой постановке анализа, должны быть исследованы с помощью набора «Вектогеп В-HBs-антиген-подтверждающий тест» с целью подтверждения результата.

Отрицательными считать образцы, имеющие ОП меньше $ОП_{крит}$. Отрицательный результат указывает, что тестируемый образец не содержит HBsAg или содержит HBsAg в концентрации ниже определяемого набором реагентов уровня, а именно – 0,05 МЕ/мл при использовании процедуры 1 и 0,01 МЕ/мл – при использовании процедуры 2.

Если положительный результат образца, полученный при первичном исследовании, не подтвердился при использовании набора «Вектогеп В-HBs-антиген-подтверждающий тест», то этот образец следует признать отрицательным, не содержащим HBsAg.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

10.УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Транспортирование набора должно проводиться при температуре (2–8) ºС. Допускается транспортирование при температуре до 25 °С не более 10 сут.

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре (2–8) ºС.

10.3. Срок годности набора реагентов – 24 месяца со дня выпуска.

10.4. Дробное использование набора может быть реализовано в течение 12 месяцев после его вскрытия. В случае дробного использования набора:

– неиспользованные стрипы можно хранить в плотно закрытом пакете при температуре (2–8) ºС в течение 12 месяцев;

– контрольные образцы, концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином, субстратный буферный раствор, раствор для разведения конъюгата, концентрат конъюгата, концентрат тетраметилбензидина и стоп-реагент после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре (2–8) °С в течение 12 месяцев;

– промывочный раствор можно хранить при температуре (2-8) ºС не более 1 месяца или при температуре (18-25) °С не более 7 дней;

– раствор конъюгата в рабочем разведении можно хранить в течение 1 месяца при температуре (2-8) ºС;

– раствор ТМБ в рабочем разведении можно хранить до 10 ч в защищенном от прямого солнечного света месте при температуре (18-25) ºС.

11. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

11.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

11.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

11.3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

По вопросам, касающимся качества набора **«Вектоген В-HBs-антиген-авто»**, обращаться в **АО «Вектор-Бест»** по адресу:

630559, Новосибирская обл., р.п. Кольцово, Научно-производственная зона, корп.36, комн.211,
тел. (383) 227-67-64, тел./факс (383) 363-13-46.
E-mail: vbobtk@vector-best.ru

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»

_____ М.Д. Хусаинов

«22» _____ 2021 г.

м.п.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для иммуноферментного выявления HBsAg для автоматических ИФА анализаторов

(Вектоген B-HBs-антиген-авто)

Комплект 2/Чароит

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор «Вектоген B-HBs-антиген-авто» предназначен для иммуноферментного выявления поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg) в сыворотке (плазме) крови, препаратах крови человека (иммуноглобулины, интерфероны, криопреципитат, альбумин).

1.2. Комплект 2/Чароит набора рассчитан на проведение 96 определений, включая контроли. Набор предназначен для использования в автоматическом ИФА-анализаторе «Чароит».

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

Принцип метода заключается во взаимодействии HBsAg с моноклональными антителами, иммобилизованными на поверхности лунок полистиролового планшета. Комплекс «антиген-антитело» выявляют с помощью конъюгата поликлональных антител с пероксидазой хрена.

2.2. Состав набора:

– планшет разборный с иммобилизованными моноклональными антителами к HBsAg – 1 шт.;

– положительный контрольный образец ($К^+$), инактивированный, содержит 4,0±2,0 МЕ/мл HBsAg – 1 фл., 1,5 мл;

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

– слабоположительный контрольный образец ($К^{+}_{слаб}$), инактивированный, содержит 0,2±0,1 МЕ/мл HBsAg – 1 фл. 1,5 мл;

– отрицательный контрольный образец ($К^{-}$), инактивированный – 1 фл., 2,5 мл;

– конъюгат, концентрат – поликлональные антитела к HBsAg, меченые пероксидазой хрена – 1 фл., 1,4 мл;

– раствор для разведения конъюгата (РК) – 1 фл., 14,0 мл;

– концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 1 фл., 28,0 мл;

– тетраметилбензидин, концентрат (ТМБ) – 1 фл., 1,5 мл;

– субстратный буферный раствор (СБР) – 1 фл., 20,0 мл;

– стоп-реагент – 1 фл., 21,0 мл;

– штатив с двухмерным штрих-кодом для флаконов с компонентами – 1 шт.;

– штатив для крышек – 1 шт.

Набор дополнительно комплектуется:

– схемой расположения флаконов в штативе.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Чувствительность: минимальная концентрация HBsAg, определяемая по стандартному образцу предприятия, содержащему HBsAg субтипов ad и ay (рег. № 05-2-520), не превышает 0,05 МЕ/мл и 0,05 ед. П-Э/мл.

3.2. Специфичность контролируется по стандартной панели предприятия образцов сывороток крови, не содержащих HBsAg (рег. № 05-2-527), и составляет 100%.

3.3. Диагностическая чувствительность: клинические испытания, проведенные на 284 положительных образцах сывороток и плазм крови от 259 больных гепатитом В в острой и хронической формах, показали 100% чувствительность (интервал 98,9%-100% с доверительной вероятностью 90%);

3.4. Диагностическая специфичность: клинические испытания, проведенные на 254 отрицательных образцах сывороток и плазм крови от 229 условно здоровых доноров крови, больных с другими инфекционными заболеваниями (больные гепатитом С, гепатитом А, ВИЧ-инфицированные пациенты), пациентов с положительным ревматоидным фактором, беременных и многорожавших женщин, показали 100% специфичность (интервал 98,7%-100% с доверительной вероятностью 90%).

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 3 (Приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

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

- работать в резиновых перчатках;

- все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями с СП 1.3.2322-08 и МУ 287-113 от 30.12.98.

- Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ 287 113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- автоматический ИФА анализатор Чароит;

- холодильник бытовой;

- перчатки медицинские диагностические одноразовые (ГОСТ Р 52239-2004);

- цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 1000 мл (ГОСТ 1770-74);

- вода дистиллированная (ГОСТ 6709-72);

- дезинфицирующие средства, разрешенные к применению в соответствии с указанием СП 1.3.2322-08 и МУ 287-113.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Для анализа использовать образцы сыворотки и плазмы (полученной с использованием в качестве антикоагулянта цитрата натрия, гепарина или ЭДТА). Допускается использование образцов, хранившихся при температуре (2–8) ºС не более 5 суток, либо при температуре минус (20 ± 4) °С, если необходимо более длительное хранение (допускается однократное замораживание/размораживание).

Сыворотки, содержащие взвешенные частицы, могут дать неправильный результат. Такие образцы перед использованием следует центрифугировать в течение 10-15 мин при 3000 об./мин.

Нельзя использовать проросшие, гемолизированные, гиперлипидные сыворотки или подвергавшиеся многократному замораживанию и оттаиванию.

Лиофильно высушенные препараты крови перед исследованием растворить в соответствии с инструкцией по применению данного препарата. Жидкие препараты крови исследовать неразведенными.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. 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 (МУ 287-113 от 30.12.98).

7.2. Приготовление реагентов.

7.2.1. 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 (28,0 мл) развести дистиллированной водой до 700 мл в отдельной чистой ёмкости.

Хранение: промывочный раствор хранить при температуре (2-8) ºС не более 1 месяца или при температуре (18-25) °С не более 7 дней.

7.3. Проведение анализа

7.3.1. Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать не менее 30 мин при температуре (18-25) °С.

7.3.2. Вскрыть флаконы с компонентами, сохраняя их расположение в штативе (см. схему расположения флаконов в штативе). Крышки разместить в гнездах штатива для крышек в точном соответствии с расположением соответствующих флаконов.

Внимание! *Проверьте на соответствие схеме расположение флаконов с реактивами в штативе, поскольку прибор настроен на единственно возможное расположение флаконов!*

7.3.3. На штатив с крышками сверху надеть штатив с флаконами таким образом, чтобы три боковых выемки в основании верхнего штатива (с флаконами) оказались на той же стороне, что и три боковых выемки в основании нижнего штатива (с крышками). Поместить эту конструкцию в «картридж штатива для реагентов» автоматического ИФА анализатора «Чароит», таким образом, чтобы сторона со штрих-кодами располагалась в большом окошке картриджа (Руководство по эксплуатации анализатора «Чароит», п. 1.2).

7.3.4. Подготовить необходимое количество стрипов к работе. После отбора необходимого количества стрипов оставшиеся сразу упаковать в пакет с осушителем. Упакованные стрипы поместить в холодильник при температуре (2-8) ºС.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

7.3.5. Планшет с необходимым для работы количеством стрипов поместить в рамку-держатель планшетов, в точном соответствии с маркировкой рамки-держателя (Руководство по эксплуатации анализатора «Чароит», п. 1.4).

7.3.6. Подготовить прибор к работе, как описано в Руководстве по эксплуатации автоматического иммуноферментного анализатора «Чароит».

7.3.7. Перелить готовый промывочный раствор (п.7.2.1) в любую из ёмкостей анализатора с маркировкой A, B, C или D. По запросу прибора указать, в какой именно ёмкости (A, B, C или D) находится промывочный раствор.

Внимание! *Не заливайте промывочный раствор для промывки планшета в ёмкость с маркировкой E, предназначенную для обработки внутренних емкостей прибора моющим раствором!*

7.3.8. Загрузить в прибор штативы с исследуемыми образцами.

7.3.9. Установить в анализатор картридж с реагентами, рамку-держатель с планшетом и необходимые расходные материалы: штативы с наконечниками для образцов, наконечники для реагентов, контейнеры для перемешивания реагентов (Руководство по эксплуатации анализатора «Чароит», п. 4.5).

7.3.10. Все дальнейшие манипуляции проводить в соответствии с Руководством по эксплуатации прибора «Чароит».

7.3.11. По окончании работы, в случае дробного использования набора, флаконы с неизрасходованными реагентами плотно закрыть соответствующими крышками и хранить при температуре (2–8) °С.

8. ИНФОРМАЦИЯ О ПРОТОКОЛЕ ВЫПОЛНЕНИЯ АНАЛИЗА

8.1. Схема ИФА

Действие	Характеристика
Прогрев компонентов набора до температуры (18-25) °С	30 мин
Подготовка промывочного раствора	п.7.2.1
Подготовка конъюгата в рабочем разведении	п. 8.2.
Подготовка ТМБ в рабочем разведении	п. 8.2.
Внесение контрольных и исследуемых образцов	по 100 мкл в лунку
Внесение раствора конъюгата в рабочем разведении	по 50 мкл в каждую лунку
Инкубация	44°С , 1 час, шейкер
Промывка планшета	5 раз промывочным раствором
Внесение раствора ТМБ в рабочем разведении	по 100 мкл в каждую лунку
Инкубация	25 мин, при температуре (18-25) °С
Внесение стоп-реагента	по 100 мкл в каждую лунку
Регистрация результатов	спектрофотометрирование: основной фильтр – 450 нм, референс-

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	фильтр – в диапазоне 620-655 нм
Оценка результатов	п. 9.

8.2. Приготовление реагентов

Реагент в рабочем разведении	**Концентрат реагента**	**Разводящий раствор**	**Соотношение частей концентрата и разводящего раствора**
Промывочный раствор	Концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25)	Дистиллированная вода, отсутствует в составе набора	1+24
Раствор конъюгата в рабочем разведении	Концентрат конъюгата	Раствор для разведения конъюгата (РК)	1+10
Раствор ТМБ в рабочем разведении	Концентрат ТМБ	Субстратный буферный раствор (СБР)	1+20

8.3. Внесение реагентов:

Наименование	**Количество лунок**		**Объем в лунке**
Отрицательный контрольный образец, $К^-$	1 стрип	2	100 мкл
	> 1 стрипа	3	
Положительный контрольный образец, $К^+$	1		100 мкл
Слабоположительный контрольный образец, $К^+_{слаб}$	1		100 мкл
Исследуемый образец	1		100 мкл
Промывочный раствор	Во все лунки с контрольными и исследуемыми образцами		5 раз по 400 мкл, режим overflow, крестообразное отсасывание, остаточный объем ≤ 10мкл, время между заполнением и опорожнением лунок ≥ 30 сек
Раствор конъюгата в рабочем разведении	Во все лунки с контрольными и исследуемыми образцами		50 мкл
Раствор ТМБ в рабочем разведении	Во все лунки с контрольными и исследуемыми образцами		100 мкл
Стоп-реагент	Во все лунки с контрольными и исследуемыми образцами		100 мкл

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

8.4. Учёт результатов реакции

Объект измерения оптической плотности (ОП)	**Формулы и условия правильности ИФА**
ОП $К^-_{среднее}$	< 0,1 о.е.
ОП $_{крит.}$	= ОП $К^-_{ср.}$ + 0,04
ОП $К^+$	≥ 1,0 ед. опт. пл.
ОП $К^+_{слаб.}$	> $ОП_{крит}$.

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

9. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

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 анализируемым образцом.

Положительный результат означает, что тестируемый образец содержит HBsAg или неспецифически реагирующий агент.

Образцы, давшие положительный результат при первой постановке анализа, должны быть исследованы с помощью набора «Вектогеп В-HBs-антиген-подтверждающий тест» с целью подтверждения результата.

Отрицательный результат означает, что тестируемый образец не содержит HBsAg или содержит HBsAg в концентрации ниже определяемого набором реагентов уровня, а именно – 0,05 МЕ/мл.

Если положительный результат, полученный при первичном исследовании образца, не подтвердился при использовании набора «Вектогеп В-HBs-антиген-подтверждающий тест», то этот образец следует признать отрицательным, не содержащим HBsAg.

10.УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Транспортирование набора должно проводиться при температуре (2–8) ºС. Допускается транспортирование при температуре до 25 °С не более 10 сут.

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре (2–8) ºС.

10.3. Срок годности набора реагентов – 24 месяца со дня выпуска.

10.4. Дробное использование набора может быть реализовано в течение 12 месяцев после его вскрытия. В случае дробного использования набора:

– неиспользованные стрипы можно хранить в плотно закрытом пакете при температуре (2–8) ºС в течение 12 месяцев;

– контрольные образцы, концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином, субстратный буферный раствор, раствор для разведения конъюгата, концентрат

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

конъюгата, концентрат тетраметилбензидина и стоп-реагент после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре (2–8) °С в течение 12 месяцев;

– промывочный раствор можно хранить при температуре (2-8) ºС не более 1 месяца или при температуре (18-25) °С не более 7 дней.

11. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

11.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

11.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

11.3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

По вопросам, касающимся качества набора **«Вектоген В-HBs-антиген-авто»**, обращаться в **АО «Вектор-Бест»** по адресу:

630559, Новосибирская обл., р.п. Кольцово, Научно-производственная зона, корп.36, комн.211,
тел. (383) 227-67-64, тел./факс (383) 363-13-46.
E-mail: vbobtk@vector-best.ru

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru