«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»

_____М.Д. Хусаинов

«___» _____ 2021 г.

м.п.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для иммуноферментного выявления HBsAg

«Вектоген В-HBs-антиген»

(Комплект 1)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор «Вектоген В-HBs-антиген» 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 2 независимых постановок анализа. Возможно использование набора в автоматических ИФА-анализаторах открытого типа.

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 цельный с иммобилизованными моноклональными антителами к HBsAg – 2 шт.;

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

–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;

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

– 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) – 2 фл., по 13,0 мл;

–стоп-реагент – 1 фл., 21,0 мл.

Набор дополнительно комплектуется:

–пленками для заклеивания планшета – 2 шт.;

–ванночками для реагентов – 2 шт.;

–наконечниками для пипеток на 4-200 мкл – 16 шт.

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).

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

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

- 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

- 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;
- автоматический промыватель для планшетов;
- холодильник бытовой;
- термостатируемый шейкер орбитального типа на 400–800 об/мин, поддерживающий температуру (37±1) °С и (44±1) °С;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным объёмом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 5 до 5000 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (погрешность не более 5%);
- 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%);
- перчатки медицинские диагностические одноразовые (ГОСТ Р 52239-2004);
- бумага фильтровальная лабораторная (ГОСТ 12026-76);
- цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 100 мл и 1000 мл (ГОСТ 1770 -74Е);
- вода дистиллированная (ГОСТ 6709-72);
- дезинфицирующие средства, разрешенные к применению в соответствии с указанием СанПиН 2.1.7.2790-10 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).

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

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).

Образцы, 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 тетраметилбензидина.

При промывке лунки планшета 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 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.

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

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

Наконечники для пипеток (автоматических дозаторов) следует использовать однократно.

Посуду (ванночки), используемые для работы с конъюгатом и тетраметилбензидином в рабочих разведениях, не обрабатывать дезинфицирующими растворами и моющими средствами.

В случае повторного использования посуду (ванночки) для конъюгата в рабочем разведении промыть проточной водой и тщательно ополоснуть дистиллированной водой, посуду (ванночки) для тетраметилбензидина в рабочем разведении сразу после работы необходимо промыть 50% раствором этилового спирта, а затем дистиллированной водой.

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

<u>Внимание!</u> Для работы с конъюгатом рекомендуем использовать одноразовые наконечники для пипеток.

В пластиковую ванночку отобрать 7 или 14 мл раствора для разведения конъюгата (РК), и добавить 0,7 или 1,4 мл концентрата конъюгата для одного или двух планшетов соответственно, тщательно перемешать.

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

7.2.3. Раствор ТМБ в рабочем разведении

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

<u>Внимание</u>! Для работы с раствором ТМБ использовать одноразовые наконечники для пипеток.

Во флакон с субстратным буферным раствором (СБР) добавить 0,65 мл концентрата ТМБ и тщательно перемешать.

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 2 лунки – по 100 мкл $К^+_{слаб}$, в 2 лунки – по 100 мкл $К^+$. В остальные лунки внести по 100 мкл исследуемых образцов.

7.3.3. Во все лунки внести по 50 мкл раствора конъюгата в рабочем разведении.

<u>Внимание!</u> Для внесения раствора конъюгата использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

7.3.4. Планшет заклеить пленкой и инкубировать, используя по выбору какой-либо из следующих режимов:

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 (п. 7.2.3).

<u>Внимание!</u> Для внесения раствора ТМБ использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, прилагаемые к набору.

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).

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

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-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$_{обр}$ ≥ 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

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

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.

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.

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

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**», 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

«___» _____ 2021 г.

м.п.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для иммуноферментного выявления HBsAg

«Вектоген B-HBs-антиген»

(Комплект 3)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

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

1.2. Комплект 3 набора рассчитан на проведение 96 определений, включая контроли, с возможностью 12 независимых постановок анализа. Возможно использование набора в автоматических ИФА-анализаторах открытого типа.

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;

–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;

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

– конъюгат, концентрат – поликлональные антитела к HBsAg, меченые пероксидазой хрена – 1 фл., 0,7 мл;

– раствор для разведения конъюгата (РК) – 1 фл., 7,0 мл;

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

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

–субстратный буферный раствор (СБР) – 1 фл., 13,0 мл;

–стоп-реагент – 1 фл., 12,0 мл.

Набор дополнительно комплектуется:

–пленками для заклеивания планшета – 2 шт.;

–ванночками для реагентов – 2 шт.;

–наконечниками для пипеток на 4-200 мкл – 16 шт.

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 (СПП, 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

- 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;
- автоматический промыватель для планшетов;
- холодильник бытовой;
- термостатируемый шейкер орбитального типа на 400–800 об/мин, поддерживающий температуру (37±1) °С и (44±1) °С;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным объёмом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 5 до 5000 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (погрешность не более 5%);
- 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%);
- перчатки медицинские диагностические одноразовые (ГОСТ Р 52239-2004);
- бумага фильтровальная лабораторная (ГОСТ 12026-76);
- цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 100 мл и 1000 мл (ГОСТ 1770 -74Е);
- вода дистиллированная (ГОСТ 6709-72);
- дезинфицирующие средства, разрешенные к применению в соответствии с указанием СанПиН 2.1.7.2790-10 и МУ-287-113.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

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

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 тетраметилбензидина 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 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.

При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их в процессе приготовления растворов, кроме неспецифических компонентов

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

(ФСБ-Т×25, стоп-реагент, СБР, ТМБ), которые взаимозаменяемы в наборах ЗАО «Вектор-Бест».

Наконечники для пипеток (автоматических дозаторов) следует использовать однократно.

Посуду (ванночки), используемые для работы с конъюгатом и тетраметилбензидином в рабочих разведениях, не обрабатывать дезинфицирующими растворами и моющими средствами.

В случае повторного использования посуду (ванночки) для конъюгата в рабочем разведении промыть проточной водой и тщательно ополоснуть дистиллированной водой, посуду (ванночки) для тетраметилбензидина в рабочем разведении сразу после работы необходимо промыть 50% раствором этилового спирта, а затем дистиллированной водой.

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.

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

<u>Внимание!</u> Для работы с конъюгатом рекомендуем использовать одноразовые наконечники для пипеток.

В соответствии с числом стрипов (см. таблицу) в пластиковую ванночку отобрать необходимое количество раствора для разведения конъюгата (РК) и добавить соответствующее количество концентрата конъюгата, тщательно перемешать.

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

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

7.2.3. Раствор ТМБ в рабочем разведении

Внимание! Для работы с раствором ТМБ использовать одноразовые наконечники для пипеток.

В пластиковую ванночку отобрать необходимое количество концентрата ТМБ и добавить требуемое количество СБР (см. таблицу), тщательно перемешать пипетированием.

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

Таблица расхода реагентов

	Количество используемых стрипов											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Промывочный раствор												
ФСБ-Т×25, мл	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Дистиллированная вода, мл	до 25	до 50	до 75	до 100	до 125	до 150	до 175	до 200	до 225	до 250	до 275	до 300
Раствор конъюгата в рабочем разведении												
Конъюгат (концентрат), мкл	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500	550	600
РК, мл	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	5,5	6,0
Раствор ТМБ в рабочем разведении												
ТМБ (концентрат), мкл	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500	550	600
СБР, 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

7.3. Проведение анализа

7.3.1. 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 застежкой. Упакованные таким образом стрипы хранить при температуре (2–8) ºС в течение 12 месяцев.

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

7.3.3. Во все лунки внести по 50 мкл раствора конъюгата в рабочем разведении.

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

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

7.3.4. Планшет заклеить пленкой и инкубировать, используя по выбору какой-либо из следующих режимов:

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.

Внимание! 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. Если остаточный объём в лунке больше 10 мкл, удалить влагу из лунок, постукивая перевёрнутым планшетом по сложенной в несколько слоёв фильтровальной бумаге.

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

Внимание! Для внесения раствора ТМБ использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, прилагаемые к набору.

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-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$^-$).

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

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 B-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 B-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.

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

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. По вопросам, касающимся качества набора «**Вектоген B-HBs-антиген**», 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

«___» _____ 2021 г.

м.п.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для иммуноферментного выявления HBsAg

«Вектоген В-HBs-антиген»

(Комплект 2)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор «Вектоген В-HBs-антиген» 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 набора рассчитан на проведение 192 определений, включая контроли, с возможностью 24 независимых постановок анализа. Возможно использование набора в автоматических ИФА-анализаторах открытого типа.

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;

–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;

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

–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) – 2 фл., по 28,0 мл;

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

–субстратный буферный раствор (СБР) – 2 фл., по 13,0 мл;

–стоп-реагент – 1 фл., 21,0 мл.

Набор дополнительно комплектуется:

–пленками для заклеивания планшета – 4 шт.;

–ванночками для реагентов – 4 шт.;

–наконечниками для пипеток на 4-200 мкл – 32 шт.

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 (СПП, 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

- 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;
- автоматический промыватель для планшетов;
- холодильник бытовой;
- термостатируемый шейкер орбитального типа на 400–800 об/мин, поддерживающий температуру (37±1) °С и (44±1) °С;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным объёмом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 5 до 5000 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (погрешность не более 5%);
- 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%);
- перчатки медицинские диагностические одноразовые (ГОСТ Р 52239-2004);
- бумага фильтровальная лабораторная (ГОСТ 12026-76);
- цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 100 мл и 1000 мл (ГОСТ 1770 -74Е);
- вода дистиллированная (ГОСТ 6709-72);
- дезинфицирующие средства, разрешенные к применению в соответствии с указанием СанПиН 2.1.7.2790-10 и МУ-287-113.

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 тетраметилбензидина.

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 в процессе приготовления растворов, кроме неспецифических компонентов (ФСБ-Т×25, стоп-реагент, СБР, ТМБ), которые взаимозаменяемы в наборах ЗАО «Вектор-Бест».

Наконечники для пипеток (автоматических дозаторов) следует использовать однократно.

Посуду (ванночки), используемые для работы с конъюгатом и тетраметилбензидином в рабочих разведениях, не обрабатывать дезинфицирующими растворами и моющими средствами.

В случае повторного использования посуду (ванночки) для конъюгата в рабочем разведении промыть проточной водой и тщательно ополоснуть дистиллированной водой, посуду (ванночки) для тетраметилбензидина в рабочем разведении сразу после работы необходимо промыть 50% раствором этилового спирта, а затем дистиллированной водой.

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.

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

<u>Внимание!</u> Для работы с конъюгатом рекомендуем использовать одноразовые наконечники для пипеток.

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

В соответствии с числом стрипов (см. таблицу) в пластиковую ванночку отобрать необходимое количество раствора для разведения конъюгата (РК) и добавить соответствующее количество концентрата конъюгата, тщательно перемешать.

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

7.2.3. Раствор ТМБ в рабочем разведении

Внимание! Для работы с раствором ТМБ использовать одноразовые наконечники для пипеток.

В пластиковую ванночку отобрать необходимое количество концентрата ТМБ и добавить требуемое количество СБР (см. таблицу), тщательно перемешать пипетированием.

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

Таблица расхода реагентов

	Количество используемых стрипов											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Промывочный раствор												
ФСБ-Т×25, мл	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Дистиллированная вода, мл	до 25	до 50	до 75	до 100	до 125	до 150	до 175	до 200	до 225	до 250	до 275	до 300
Раствор конъюгата в рабочем разведении												
Конъюгат (концентрат), мкл	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500	550	600
РК, мл	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	5,5	6,0
Раствор ТМБ в рабочем разведении												
ТМБ (концентрат), мкл	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500	550	600
СБР, 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

7.3. Проведение анализа

7.3.1. 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 застежкой. Упакованные таким образом стрипы хранить при температуре (2–8) ºС до конца срока годности набора.

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

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

7.3.3. Во все лунки внести по 50 мкл раствора конъюгата в рабочем разведении.

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

7.3.4. Планшет заклеить пленкой и инкубировать, используя по выбору какой-либо из следующих режимов:

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.

Внимание! 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. Если остаточный объём в лунке больше 10 мкл, удалить влагу из лунок, постукивая перевёрнутым планшетом по сложенной в несколько слоёв фильтровальной бумаге.

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

Внимание! Для внесения раствора ТМБ использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, прилагаемые к набору.

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-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 $К^-$ ($ОП_{ср}$ $К^-$).

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

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 B-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 B-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.

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

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.

По вопросам, касающимся качества набора «**Вектоген В-HBs-антиген**», 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

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

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»

_____М.Д. Хусаинов

«___» _____ 2021 г.

м.п.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для иммуноферментного выявления HBsAg

«Вектоген В-HBs-антиген»

(Комплект 4)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

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

1.2. Комплект 4 набора рассчитан на проведение 480 определений, включая контроли. Допускается дробное использование набора (от одного стрипа) с возможностью проведения до 16 независимых аналитических серий. Возможно использование набора в автоматических ИФА-анализаторах открытого типа.

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 – 5 шт.;

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

–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;

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

–конъюгат, концентрат – поликлональные антитела к HBsAg, меченые пероксидазой хрена – 3 фл., по 1,4 мл;

–раствор для разведения конъюгата (РК) – 3 фл., 14,0 мл;

–концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 1 фл., 100,0 мл;

–тетраметилбензидин, концентрат (ТМБ) – 3 фл., по 1,5 мл;

–субстратный буферный раствор (СБР) – 3 фл., по 20,0 мл;

–стоп-реагент – 3 фл., по 21,0 мл.

Набор дополнительно комплектуется:

–пленками для заклеивания планшета – 10 шт.;

–ванночками для реагентов – 10 шт.;

–наконечниками для пипеток на 4-200 мкл – 80 шт.

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 (СПП, 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

- 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;
- автоматический промыватель для планшетов;
- холодильник бытовой;
- термостатируемый шейкер орбитального типа на 400–800 об/мин, поддерживающий температуру (37±1) °С и (44±1) °С;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным объёмом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 5 до 5000 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (погрешность не более 5%);
- 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%);
- перчатки медицинские диагностические одноразовые (ГОСТ Р 52239-2004);
- бумага фильтровальная лабораторная (ГОСТ 12026-76);
- цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 100 мл и 1000 мл (ГОСТ 1770 -74Е);
- вода дистиллированная (ГОСТ 6709-72);
- дезинфицирующие средства, разрешенные к применению в соответствии с указанием СанПиН 2.1.7.2790-10 и МУ-287-113.

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 тетраметилбензидина 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 в процессе приготовления растворов, кроме неспецифических компонентов (ФСБ-Т×25, стоп-реагент, СБР, ТМБ), которые взаимозаменяемы в наборах ЗАО «Вектор-Бест».

Наконечники для пипеток (автоматических дозаторов) следует использовать однократно.

Посуду (ванночки), используемые для работы с конъюгатом и тетраметилбензидином в рабочих разведениях, не обрабатывать дезинфицирующими растворами и моющими средствами.

В случае повторного использования посуду (ванночки) для конъюгата в рабочем разведении промыть проточной водой и тщательно ополоснуть дистиллированной водой, посуду (ванночки) для тетраметилбензидина в рабочем разведении сразу после работы необходимо промыть 50% раствором этилового спирта, а затем дистиллированной водой.

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.

В соответствии с числом используемых стрипов отобрать необходимое количество ФСБ-Т×25 (см. таблицу) и развести дистиллированной водой до указанного в таблице объёма.

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

<u>Внимание!</u> Для работы с конъюгатом рекомендуем использовать одноразовые наконечники для пипеток.

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

В соответствии с числом стрипов (см. таблицу) в пластиковую ванночку отобрать необходимое количество раствора для разведения конъюгата (РК) и добавить соответствующее количество концентрата конъюгата, тщательно перемешать.

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

7.2.3. Раствор ТМБ в рабочем разведении

Внимание! Для работы с раствором ТМБ использовать одноразовые наконечники для пипеток.

В пластиковую ванночку отобрать необходимое количество концентрата ТМБ и добавить требуемое количество СБР (см. таблицу), тщательно перемешать пипетированием.

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

Таблица расхода реагентов

	Количество используемых стрипов											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Промывочный раствор												
ФСБ-Т×25, мл	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Дистиллированная вода, мл	до 25	до 50	до 75	до 100	до 125	до 150	до 175	до 200	до 225	до 250	до 275	до 300
Раствор конъюгата в рабочем разведении												
Конъюгат (концентрат), мкл	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500	550	600
РК, мл	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	5,5	6,0
Раствор ТМБ в рабочем разведении												
ТМБ (концентрат), мкл	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500	550	600
СБР, 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

При необходимости использования планшета целиком выбрать в таблице данные для 12 стрипов.

7.3. Проведение анализа

7.3.1. Подготовить необходимое количество стрипов к работе. Оставшиеся – сразу упаковать во избежание губительного воздействия влаги. Для этого стрипы поместить в цефлеровый пакет с влагопоглотителем, тщательно закрыть пакет пластиковой застежкой. Упакованные таким образом стрипы хранить при температуре (2–8) ºС до конца срока годности набора.

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

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 сывороток.

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

7.3.3. Во все лунки внести по 50 мкл раствора конъюгата в рабочем разведении.

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

7.3.4. Планшет заклеить пленкой и инкубировать, используя по выбору какой-либо из следующих режимов:

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.

Внимание! 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. Если остаточный объём в лунке больше 10 мкл, удалить влагу из лунок, постукивая перевёрнутым планшетом по сложенной в несколько слоёв фильтровальной бумаге.

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

Внимание! Для внесения раствора ТМБ использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, прилагаемые к набору.

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

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

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.

10.УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

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

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.

По вопросам, касающимся качества набора «**Вектогеп В-HBs-антиген»**, обращаться в **АО**

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

«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