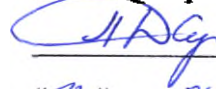


«УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»

 М.Д. Хусайнов

« 22 » 04 2022 г.

М.П.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для иммуноферментного выявления Е-антигена вируса гепатита В в сыворотке (плазме) крови (ВектоНВе-антиген) по ТУ 9398-400-23548172-2012

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «ВектоНВе-антиген» (далее по тексту – набор) предназначен для выявления Е-антигена вируса гепатита В в сыворотке (плазме) крови человека методом иммуноферментного анализа.

1.2. Выявление НВеАг может быть использовано в клинических исследованиях для диагностики гепатита В, определения активности инфекционного процесса, прогнозирования исхода инфекции.

1.3. Набор рассчитан на проведение анализа 96 неизвестных образцов, включая контроли. Возможны 12 независимых постановок ИФА по 8 определений, включая контроли.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Метод определения основан на одностадийном твердофазном иммуноферментном анализе.

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

Инструкция составлена сотрудниками АО «Вектор-Бест»: директором НИИ СД М.Ю. Рукавишниковым и Нач. лаборатории И.Н. Кувшиновой.

После удаления несвязавшихся компонентов сыворотки и конъюгата и добавления в лунки планшета раствора тетраметилбензидина образуется окрашенный продукт, интенсивность окраски которого пропорциональна концентрации НВеАg в анализируемом образце.

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

- планшет разборный (12 восьмилуночных стрипов) с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок моноклональными антителами к НВеАg, готовый для использования – 1 шт.;
- положительный контрольный образец (K^+) на основе рекомбинантного НВеАg, готовый для использования – 1 флакон (1,5 мл);
- отрицательный контрольный образец (K^-) на основе инактивированной сыворотки крови человека, не содержащий НВеАg, готовый для использования – 1 флакон (2,5 мл);
- конъюгат моноклональных антител к НВеАg с пероксидазой хрена, готовый для использования – 1 флакон (13 мл);
- 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 1 флакон (28 мл);
- раствор тетраметилбензидина (раствор ТМБ), готовый для использования – 1 флакон (13 мл);
- стоп-реагент, готовый для использования – 1 флакон (12 мл).

Набор дополнительно комплектуется:

- пленками для заклеивания планшета – 2 шт.;
- ванночками для реагента – 2 шт.;
- наконечниками для пипеток на 4–200 мкл – 16 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Чувствительность выявления НВеАg – соответствие результатов выявления набором НВеАg требованиям стандартной панели предприятия (рег. № 05-2-275), аттестованной ОБТК АО «Вектор-Бест», включающей образцы сывороток крови, содержащие НВеАg – составляет 100%.

3.2. Специфичность выявления НВеАg – соответствие результатов выявления набором НВеАg требованиям стандартной панели предприятия (рег. № 05-2-275), аттестованной ОБТК АО «Вектор-Бест», включающей образцы сывороток крови, не содержащие НВеАg – составляет 100%.

3.3. Диагностическая чувствительность: клинические испытания, проведенные на 115

положительных образцах сывороток и плазм крови больных гепатитом В в острой и хронической формах, показали 100% чувствительность (интервал 97%-100%, с доверительной вероятностью 90%);

3.4. Диагностическая специфичность: клинические испытания, проведенные на 149 отрицательных образцах сывороток и плазм крови условно здоровых доноров, беременных женщин, больных гепатитом С, ВИЧ инфицированных пациентов, показали 100% специфичность (интервал 98%-100%, с доверительной вероятностью 90%).

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

4.2. Все компоненты набора являются нетоксичными. Стоп-реагент обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента на кожу и слизистые необходимо промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.

4.3. При работе с исследуемыми образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом. Основные правила работы изложены в «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР 17 января 1991 г. и в методических указаниях МУ-287-113 («Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения», утв. департаментом госсанэпиднадзора Минздрава РФ от 30.12.1998 г).

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

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

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

4.7. 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. Использование дезинфицирующих средств, содержащих активный кислород и хлор (H_2O_2 , деохлор, хлорамин), приводит к серьезному искажению результатов.

4.8. Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- 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 длине волны 450 нм;
- термостат, поддерживающий температуру $(37 \pm 1) ^\circ C$;
- термостатируемый шейкер орбитального типа на 400–800 об/мин, поддерживающий температуру $(37 \pm 1) ^\circ C$;
- холодильник бытовой;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным объёмом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 10 до 5000 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования;
- пипетки полуавтоматические многоканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкостей от 10 мкл до 300 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования;
- промывочное устройство для планшетов;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- флаконы стеклянные вместимостью 15 мл;
- цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;

– дезинфицирующий раствор.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

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

6.2. Образцы сыворотки (плазмы) крови можно хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 5 суток или при температуре минус 20°С (и ниже) не более 3 мес. Допускается однократное замораживание-размораживание образцов сыворотки крови. После размораживания образцы тщательно перемешать.

6.3. Образцы сыворотки (плазмы) крови, содержащие осадок, необходимо очистить центрифугированием при 5000-10000 об/мин в течение 5 мин при температуре от 18 до 25 °С.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Перед работой извлечь набор из холодильника, вскрыть упаковку и выдержать все компоненты при температуре от 18 до 25 °С не менее 60 мин.

7.2. Подготовка планшета.

Вскрыть пакет с планшетом выше замка. Оставить на рамке необходимое для проведения анализа количество стрипов. Оставшиеся неиспользованными стрипы немедленно поместить вновь в пакет, удалить из него воздух и плотно закрыть замок.

Неиспользованные стрипы можно хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора.

7.3. Приготовление промывочного раствора.

Внести в мерный цилиндр необходимое количество ФСБ-Т×25 и добавить соответствующее количество дистиллированной воды (см. таблицу расхода реагентов). При выпадении осадка солей в концентрате необходимо прогреть его при температуре от 30 до 40 °С до полного растворения осадка.

Приготовленный промывочный раствор можно хранить при температуре от 2 до 8°С не более 5 суток.

7.4. Приготовление положительного и отрицательного контрольных образцов.

Положительный и отрицательный контрольные образцы готовы к использованию и не требуют дополнительных разведений.

После отбора части содержимого тщательно укупоренные флаконы хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора.

7.5. Приготовление конъюгата.

Конъюгат готов к использованию.

В соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода реагентов) в пластиковую ванночку для реагента внести необходимое количество конъюгата.

После отбора части содержимого тщательно укупоренный флакон хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора.

7.6. Приготовление раствора тетраметилбензидина

Раствор тетраметилбензидина готов к использованию.

В соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода реагентов) в пластиковую ванночку для реагента внести необходимое количество раствора тетраметилбензидина.

После отбора части содержимого тщательно укупоренный флакон хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора.

Таблица

Количество используемых стрипов	Промывочный раствор		Конъюгат, мл	Раствор ТМБ, мл
	ФСБ-Т×25, концентрат, мл	Дистиллированная вода, мл		
1	2,0	До 50	1,0	1,0
2	4,0	До 100	2,0	2,0
3	6,0	До 150	3,0	3,0
4	8,0	До 200	4,0	4,0
5	10,0	До 250	5,0	5,0
6	12,0	До 300	6,0	6,0
7	14,0	До 350	7,0	7,0
8	16,0	До 400	8,0	8,0
9	18,0	До 450	9,0	9,0
10	20,0	До 500	10,0	10,0
11	22,0	До 550	11,0	11,0
12	24,0	До 600	12,0	12,0

7.7. Стоп-реагент готов к использованию.

7.8. Внесение контрольных образцов и исследуемых сывороток

В любые две лунки внести по 50 мкл отрицательного контрольного образца (K^-), в одну лунку – 50 мкл положительного контрольного образца (K^+). Во все остальные лунки внести по 50 мкл исследуемых сывороток.

Внесение образцов необходимо производить быстро, в течение не более 10 мин.

7.9. Внести во все лунки по 100 мкл конъюгата (см. п. 7.5). Для внесения конъюгата использовать ванночку для реагента и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

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

7.10. Планшет заклеймить пленкой и инкубировать: в термостатируемом шейкере в течение 30 мин при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ с интенсивностью перемешивания 700 об/мин либо в термостате в течение 60 мин при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$.

7.11. По окончании инкубации снять липкую пленку и поместить ее в сосуд с дезинфицирующим раствором. С помощью промывочного устройства промыть лунки планшета 5 раз промывочным раствором (см. п. 7.3), чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок каждого стрипа. В каждую лунку вносить не менее 400 мкл жидкости в процессе каждого цикла промывки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого их заполнения. По окончании промывки остатки влаги из лунок тщательно удалить, постукивая перевернутым планшетом по фильтровальной бумаге.

7.12. Внести во все лунки по 100 мкл раствора тетраметилбензидина (см. п. 7.6), инкубировать в темноте в течение 25 мин при температуре от 18 до 25 $^\circ\text{C}$.

Для внесения раствора тетраметилбензидина использовать ванночку для реагента и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

Остатки раствора тетраметилбензидина из ванночки утилизировать (не сливать во флакон с исходным раствором тетраметилбензидина).

7.13. Внести во все лунки по 100 мкл стоп-реагента.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

8.1. Измерить величину оптической плотности растворов в лунках на спектрофотометре вертикального сканирования в двухволновом режиме: при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620 – 655 нм; допускается измерение при длине волны 450 нм (выведение спектрофотометра на нулевой уровень («бланк»)) осуществлять по воздуху). Измерение проводить не позднее 5 мин после остановки реакции.

9. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

9.1. Рассчитать среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом (ОП_{CK^-}).

9.2. Среднее значение ОП в лунках с K^- не должно превышать 0,15 ед. опт. пл.

Значение ОП в лунке с K^+ должно быть не менее, чем 1,0 ед. опт. пл.

9.3. Только при соблюдении положений п. 9.2 можно учитывать результаты, полученные для анализируемых образцов сыворотки (плазмы) крови.

9.4. На основании полученных данных вычислить критическое значение оптической плотности ($ОП_{крит.}$).

$$ОП_{крит.} = ОП_{ср. K^-} + 0,2$$

где: $ОП_{ср. K^-}$ – среднее значение оптической плотности в лунке с отрицательным контрольным образцом.

9.5. Результат анализа считается положительным, если $ОП_{обр.} \geq ОП_{крит.}$

Результат анализа считается отрицательным, если $ОП_{обр.} < ОП_{крит.}$

где: $ОП_{обр.}$ – оптическая плотность в лунке с анализируемым образцом сыворотки крови.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Транспортирование набора должно проводиться при температуре от 2 до 8 °С. Допускается транспортирование при температуре до 25 °С не более 10 сут. Замораживание компонентов набора не допускается.

10.2. Набор реагентов должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности (12 мес). Замораживание компонентов набора не допускается.

10.3. Дробное использование набора может быть реализовано в пределах срока годности. В случае дробного использования набора:

- неиспользованные стрипы можно хранить в плотно закрытом пакете при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора;

- положительный, отрицательный контрольные образцы, конъюгат, раствор тетраметилбензидина можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора;

- 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином и стоп-реагент после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора;

- промывочный раствор можно хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 5 суток.

10.4. Для получения надёжных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

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

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 «ВектоНВе-антиген», следует обращаться в АО «Вектор-Бест» по адресу:

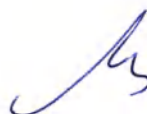
630559, Новосибирская область, Новосибирский район, п. Кольцово, а/я 121, тел. (383) 336-73-46, 227-75-43, тел./факс (383) 336-60-30.

Нач. лаборатории маркеров
вирусных инфекций НИИ СД
АО «Вектор-Бест»



И.Н. Кувшинова

Директор НИИ СД
АО «Вектор-Бест»



М.Ю. Рукавишников

Всего прошито, пронумеровано и
скреплено печатью 9 листов.
Директор по технологии и качеству
АО "Вектор-Бест"



Масяго А.В.

20 22 г.