



Рapid Био

Быстрая диагностика

Инструкция по применению медицинского изделия

Набор реагентов для качественного определения
поверхностного антигена вируса гепатита В
методом иммуноферментного анализа

«РАПИД-НВsAg-ИФА»

для диагностики *in vitro*

по ТУ 21.20.23-024-44090553-2024

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Полное наименование медицинского изделия

Набор реагентов для качественного определения поверхностного антигена вируса гепатита В методом иммуноферментного анализа «РАПИД-НВsAg-ИФА» для диагностики *in vitro* по ТУ 21.20.23-024-44090553-2024. Далее по тексту – «РАПИД-НВsAg-ИФА», набор реагентов, медицинское изделие, набор реагентов «РАПИД-НВsAg-ИФА», изделие.

1.2. Назначение набора

Набор реагентов «РАПИД-НВsAg-ИФА» предназначен для качественного определения поверхностного НВs-антигена вируса гепатита В в сыворотке, плазме (с антикоагулянтами К2ЭДТА, К3ЭДТА, Li-гепарин, Na-гепарин, цитрат натрия) крови человека (Комплекты №1.1, 1.2, 1.3, 2.1, 2.2, 2.3, 3), а также в препаратах крови человека (Комплект №3) (иммуноглобулины, лейкоцитарные интерфероны, криопреципитат, альбумин) методом иммуноферментного анализа на твердофазном носителе с чувствительностью 0,01 МЕ/мл.

Набор может быть использован для массового скрининга образцов крови на станциях переливания крови и в составе специфической лабораторной диагностики вирусного гепатита В. Предназначен для «ручной» постановки и для постановки на автоматических ИФА-анализаторах.

1.3. Состав медицинского изделия

Набор реагентов «РАПИД-НВsAg-ИФА» выпускается в семи базовых вариантах исполнения:

- 1. Комплекты № 1.1 и 2.1 рассчитаны на проведение анализа 96 образцов сыворотки, плазмы крови человека, включая контрольные образцы;
- 2. Комплекты № 1.2 и 2.2 рассчитаны на проведение анализа 192 образцов сыворотки, плазмы крови человека, включая контрольные образцы;
- 3. Комплекты № 1.3 и 2.3 рассчитаны на проведение анализа 480 образцов сыворотки, плазмы крови человека, включая контрольные образцы;
- 4. Комплект №3 рассчитан на проведение анализа 96 образцов сыворотки, плазмы крови человека и препаратов крови человека, включая контрольные образцы.

Возможно дробное использование набора.

Таблица 1

Наименование (сокращенное название) и характеристика компонента набора	Компонентов в наборе						
	Комплект №1.1	Комплект №1.2	Комплект №1.3	Комплект №2.1	Комплект №2.2	Комплект №2.3	Комплект №3
Микропланшет разборный (МТП) Состоит из двенадцати восьмилучночных стрипов в рамке с иммобилизованными на внутренней поверхности моноклональными антителами к НВsAg.	1	2	5	1	2	5	1

Положительный контрольный образец (K+) Содержит рекомбинантный HBsAg. Прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость красного цвета. Готов к использованию.	1 фл.* x 1,5 мл	1 фл. x 3,0 мл	2 фл. x 3,0 мл	1 фл. x 1,5 мл	1 фл. x 3,0 мл	2 фл. x 3,0 мл	1 фл. x 1,5 мл
Слабоположительный контрольный образец (K+сл) Содержит рекомбинантный HBsAg в концентрации 0,04±0,02 МЕ/мл. Прозрачная жидкость желтого цвета. Готов к использованию.	1 фл. x 1,5 мл	1 фл. x 3,0 мл	2 фл. x 3,0 мл.	1 фл. x 1,5 мл	1 фл. x 3,0 мл	2 фл. x 3,0 мл.	1 фл. x 1,5 мл
Отрицательный контрольный образец (K-) Не содержит HBsAg. Прозрачная жидкость зеленого цвета. Готов к использованию.	1 фл. x 2,5 мл	2 фл. x 2,5 мл	3 фл. x 4,0 мл	1 фл. x 2,5 мл	2 фл. x 2,5 мл	3 фл. x 4,0 мл	1 фл. x 2,5 мл
(25х) концентрат для приготовления промывочного раствора ((25х) ПР) (25х) концентрат солевого буферного раствора с твином. Прозрачная или опалесцирующая бесцветная жидкость.	1 фл. x 40,0 мл	2 фл. x 40,0 мл	2 фл. x 100,0 мл	1 фл. x 40,0 мл	2 фл. x 40,0 мл	2 фл. x 100,0 мл	1 фл. x 40,0 мл
Раствор для разведения препаратов крови (РРП) Опалесцирующая жидкость оранжевого цвета. Готов к использованию.	—	—	—	—	—	—	1 фл. x 7,0 мл
Раствор для разведения конъюгата-1 (РРК-1) Опалесцирующая жидкость красного или малинового цвета. Готов к использованию.	1 фл. x 8,0 мл	2 фл. x 8,0 мл	2 фл. x 20,0 мл	1 фл. x 8,0 мл	2 фл. x 8,0 мл	2 фл. x 20,0 мл	1 фл. x 8,0 мл
Раствор для разведения конъюгата-2 (РРК-2) Опалесцирующая жидкость желтого цвета. Готов к использованию.	1 фл. x 14,0 мл	2 фл. x 14,0 мл	5 фл. x 14,0 мл	1 фл. x 14,0 мл	2 фл. x 14,0 мл	5 фл. x 14,0 мл	1 фл. x 14,0 мл

(11х) концентрат конъюгата-1 ((11х) Kг-1) Моноклональные антитела к HBsAg, меченые биотином. Прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость фиолетового цвета.	1 мпр.** x 1,0 мл	1 мпр. x 1,5 мл	1 фл. x 3,5 мл	1 мпр. x 1,0 мл	1 мпр. x 1,5 мл	1 фл. x 3,5 мл	1 мпр. x 1,0 мл
(101х) концентрат конъюгата-2 ((101х) Kг-2) Стрептавидин, меченый пероксидазой хрена. Прозрачная жидкость с желтым оттенком.	1 мпр. x 0,2 мл	1 мпр. x 0,5 мл	1 мпр. x 1,0 мл	1 мпр. x 0,2 мл	1 мпр. x 0,5 мл	1 мпр. x 1,0 мл	1 мпр. x 0,2 мл
Цитратно-фосфатный буферный раствор (ЦФБ) Прозрачная бесцветная жидкость. Готов к использованию.	1 фл. x 14,0 мл	2 фл. x 14,0 мл	5 фл. x 14,0 мл	—	—	—	1 фл. x 14,0 мл
(11х) концентрат тетраметилбензидина ((11х) ТМБ) Содержит 3,3',5,5'-тетраметилбензидин и перекись водорода. Прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная жидкость.	1 фл. x 1,5 мл	1 фл. x 3,0 мл	1 фл. x 7,5 мл	—	—	—	1 фл. x 1,5 мл
Раствор индикаторный (РИ) Стабилизированный водно-органический буферный раствор, содержащий тетраметилбензидин и пероксид водорода. Прозрачная бесцветная или светло-голубого цвета жидкость. Готов к использованию.	—	—	—	1 фл. x 14,0 мл	2 фл. x 14,0 мл	5 фл. x 14,0 мл	—
Стоп-реагент 0,5М раствор серной кислоты. Прозрачная бесцветная жидкость. Готов к использованию.	1 фл. x 13,0 мл	1 фл. x 26,0 мл	2 фл. x 26,0 мл	1 фл. x 13,0 мл	1 фл. x 26,0 мл	2 фл. x 26,0 мл	1 фл. x 13,0 мл
Клейкие пленки для заклеивания планшетов Изделие для запечатывания планшетов по ТУ 32.50.50-009-48072026-2022: 1. Пленка клейкая для планшетов с одной насечкой, РУ № РЗН 2022/19122	2	4	10	2	4	10	2

Наконечники одноразовые к дозаторам пипеточным Наконечник универсальный для пипеточных дозаторов по ТУ 32.50.50-002-72241324-2018: 1. Наконечник объемом до 250 мкл универсальный, нейтральный, 1001, РУ № РЗН 2019/9159	16	32	80	16	32	80	16
Ванночки для реагентов Изделия полимерные для медицинских лабораторий по ТУ 32.50.50-001-01813981-2018: 1. Ванночка для реагентов (для многоканальных пипеток-дозаторов) вместимостью 30 мл (артикул Т-0100), РУ № РЗН 2019/8202	2	4	10	2	4	10	2
Планшет для предварительного разведения образцов Планшет иммунологический по ТУ 32.50.50-003-01813981-2020: 7. Планшет иммунологический (разборный) 96 лунок, РУ № РЗН 2021/16228	—	—	—	—	—	—	1
Инструкция по применению	1	1	1	1	1	1	1

*фл. — флакон;

**мпр. — микропробирка.

К+, К+сл и К- содержат натрия мертиолят 0,01 %.

РРК-1, РРК-2 содержат натрия мертиолят 0,001 %, Proclin 0,03 %.

Примечание: (25х) ПР, РРП, ЦФБ, Стоп-реагент, Клейкие пленки для заклеивания планшетов, Наконечники одноразовые к дозаторам пипеточным, Ванночки для реагентов, Планшет для предварительного разведения образцов являются универсальными вспомогательными компонентами для всех иммуноферментных тест-систем производства ООО «РАПИД БИО».

1.4. Область применения медицинского изделия

Клиническая лабораторная диагностика, включая, но не ограничиваясь: медицинские организации, клиничко-диагностические лаборатории, станции переливания крови, научно-исследовательские учреждения, имеющие лицензию на оказание медицинских услуг.

Только для профессионального использования.

Только для диагностики *in vitro*.

1.5. Показания и противопоказания к применению

Набор реагентов «РАПИД-НВsAg-ИФА» предназначен для применения по назначению. Противопоказания и побочные действия отсутствуют.

1.6. Потенциальные потребители

Набор реагентов «РАПИД-НВsAg-ИФА» применяется врачами-специалистами клинико-диагностических лабораторий и медицинскими лабораторными техниками.

1.7. Клиническое назначение

Вирусный гепатит В (ВГВ) — это инфекционное антропонозное заболевание, вызываемое вирусом гепатита В, с преимущественно парентеральным механизмом передачи, характеризующееся в клинически выраженных случаях симптомами острого поражения печени и интоксикацией (с желтухой и без нее) и протекающее с выраженным полиморфизмом клинических проявлений болезни и исходов от выздоровления до возможности развития хронического гепатита В, цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы [1, 2].

Вирус гепатита В (Hepatitis B virus, HBV) — ДНК-геномный вирус рода *Orthohepadnavirus* семейства *Hepadnaviridae*. Снаружи вирус гепатита В имеет суперкапсид — фосфолипидную мембрану со встроенными молекулами поверхностного НВs-антигена (НВsAg — «австралийский» антиген), который имеет 4 подтипа (adw, adr, аyw, аур). Под суперкапсидом располагается ядро (core), в состав которого входит сердцевинный НВс-антиген (НВсAg), геном (ДНК, связанная с ДНК-полимеразой) и белок капсида — НВе-антиген (НВеAg).

На поверхности НВsAg имеется полимеризованный альбуминовый рецептор, который служит для прикрепления антигена к аналогичному альбуминовому рецептору гепатоцита. Именно этим обеспечивается гепатотропность вируса. Проникая в печень, возбудитель скапливается в гепатоцитах и начинает активно размножаться, вызывая изменения в тканях. Часть НВsAg используется для сборки вируса, другая часть секретируется в межклеточное пространство и циркулирует в крови [3, 4, 5].

НВsAg обнаруживается в крови через 1,5 месяца после инфицирования. Наличие НВs-антигена свидетельствует об инфицированности организма вирусом гепатита В. Наличие антител к НВs-антигену связано с невосприимчивостью к гепатиту В в результате формирования постинфекционного или поствакцинального иммунитета.

Источниками инфекции при ВГВ являются больные с различными формами заболевания. Вирус у инфицированных лиц содержится в крови, сперме, вагинальном секрете. Механизм инфицирования — гемоконтактный (парентеральный). Пути инфицирования: естественные (половой, бытовой, перинатальный) и искусственные, связанные с парентеральными вмешательствами. Восприимчивость к ВГВ — всеобщая, обусловленная наличием специфических рецепторов к НВsAg на гепатоцитах [1, 2, 3].

Специфическая лабораторная диагностика рекомендуется всем пациентам с подозрением на острый ВГВ посредством проведения серологических исследований определения антител и антигенов HBV методом иммуноферментного анализа для подтверждения этиологического фактора заболевания как критерий установления диагноза ВГВ [1, 6].

1.8. Информация о стерильности

Не применимо. Набор реагентов не содержит стерильных компонентов.

1.9. Описание измерительных характеристик и программного обеспечения

Не применимо. Набор реагентов «РАПИД-НВsAg-ИФА» не автоматизирован и не содержит программного обеспечения.

1.10. Популяционные, демографические аспекты применения медицинского изделия

Предназначен для обследования всех групп населения. Популяционные, демографические особенности применения медицинского изделия отсутствуют.

1.11. Классификация медицинского изделия

Код Общероссийского классификатора продукции по видам экономической деятельности ОКПД2 – 20.59.52.195.

Класс потенциального риска применения медицинского изделия в соответствии с номенклатурной классификацией (по Приказу Минздрава России от 06.06.2012 N 4н) – 3.

Вид медицинского изделия – 287290, «Вирус гепатита В поверхностный антиген ИВД, набор, иммуноферментный анализ (ИФА)».

1.12. Риски применения медицинского изделия

Риски применения набора реагентов «РАПИД-НВsAg-ИФА» проанализированы в соответствии с ГОСТ ISO 14971.

Все риски, связанные с изделием, снижены до приемлемого уровня с помощью мер управления рисками. В области недопустимой зоны риски не выявлены.

Польза применения набора реагентов «РАПИД-НВsAg-ИФА» превалирует над рисками для пациента, производящего и эксплуатирующего персонала, третьих лиц и окружающей среды. Полный остаточный риск является допустимым.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

2.1. Описание принципа метода

Метод определения НВsAg основан на использовании двухстадийного «сэндвич»-метода твердофазного иммуноферментного анализа.

Основой набора реагентов «РАПИД-НВsAg-ИФА» являются моноклональные антитела к НВsAg, сорбированные в лунках разборного полистиролового планшета.

При наличии в исследуемых образцах НВsAg на первой стадии инкубации происходит взаимодействие содержащегося в образце НВsAg с сорбированными на поверхности лунок планшета анти-НВs-антителами и с конъюгатом-1 из моноклональных анти-НВs-антител, меченных биотином. Образовавшиеся комплексы «анти-НВs-антитела – НВs-антиген – анти-НВs-антитела с биотином» на второй стадии связываются с конъюгатом-2, состоящим из стрептавидина, меченого пероксидазой хрена. Визуализация результата происходит при добавлении к комплексу хромогена с развитием окрашивания раствора, интенсивность которого прямо зависит от количества выявленных комплексов.

После остановки реакции добавлением стоп-реагента проводят учет результатов анализа путем измерения оптической плотности с помощью планшетного спектрофотометра при длинах волн 450 нм (основная) и 620-655 нм (вспомогательная).

2.2. Необходимые материалы и оборудование, не входящие в комплект поставки

- Термостат, позволяющий проводить инкубацию при температуре до 45 °С;
- Термостат-шейкер со скоростью вращения платформы 400-800 об/мин, поддерживающий температуру (37±1) °С и (44±1) °С;

- Спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения оптической плотности в лунках планшета при 450 нм и/или в двухволновом режиме при основной длине волн 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620-655 нм;
- Холодильник бытовой;
- Промывочное устройство для планшетов;
- Пипетки одноканальные со сменными наконечниками с изменяемым объемом отбора жидкостей (5-50 мкл, 20-200 мкл, 200-1000 мкл, 1000-5000 мкл), аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (погрешность не более 3%);
- Пипетка восьмиканальная со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объемы жидкости до 300 мкл, аттестованная по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (погрешность не более 3%);
- Центрифуга лабораторная на 1800-2200 g;
- Дистиллированная или деионизированная вода;
- Цилиндр мерный 2-го класса точности объемом – 500 мл;
- Стакан стеклянный объемом – 1000 мл;
- Перчатки резиновые или перчатки медицинские одноразовые;
- Бумага фильтровальная лабораторная;
- Дезинфицирующие средства, разрешенные к применению СанПин 3.3686, кроме хлорсодержащих;
- ИФА-анализатор открытого типа, зарегистрированный на территории РФ (в случае необходимости автоматической постановки набора).

ИФА-анализатор открытого типа должен соответствовать следующим требованиям:

- Анализатор с рабочей площадкой под размещение планшетов;
- Спектральный диапазон: 400-700 нм;
- Предусмотрен производителем для работы с наборами реагентов различных производителей с программным обеспечением, позволяющим корректировать протокол исследования пользователем и реализовывать любую методику, определяя качественные и количественные характеристики материалов.

Испытания набора были проведены на автоматических иммуноферментных анализаторах: «Анализатор иммуноферментный автоматический «Еволис» (Evolis), производитель «БИО-РАД», Франция, № ФСЗ 2009/05133 и «Анализатор иммуноферментный автоматический «Лазурит» (LAZURITE)», производитель «Дайнекс Текнолоджис», США, № ФСЗ 2009/03660.

2.3. Информация о наличии в медицинском изделии лекарственного средства, материалов животного и (или) человеческого происхождения

В состав набора «РАПИД-НВsAg-ИФА» не входят лекарственные препараты, фармацевтические субстанции и материалы животного происхождения.

Сыворотки крови человека и компоненты сыворотки крови, входящие в состав контрольных материалов (K+, K+сл, K-), инактивированы.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Чувствительность

Чувствительность набора реагентов определяли с использованием следующих материалов:

- Набор образцов сывороток крови, содержащий разные субтипы и мутантные формы HBsAg вируса гепатита В «HBsAg — стандартная панель сывороток» по ТУ 9398-136-23548172-2011, производства АО «Вектор-Бест», ФСР 2012/13718. Чувствительность набора составила 100 %.
- Калибровочные образцы и положительные контрольные образцы стандартной панели предприятия СПП «РАПИД-HBsAg-ИФА». Чувствительность набора составила 100 %.

3.2. Специфичность

Специфичность набора реагентов «РАПИД-HBsAg-ИФА» определяется по контрольным образцам стандартной панели предприятия (СПП «РАПИД-HBsAg-ИФА»), которые не содержат HBsAg, как процентное содержание отрицательных образцов, определенных набором к общему количеству истинно отрицательных образцов, и составляет 100 %.

3.3. Аналитическая чувствительность (предел обнаружения)

Предел обнаружения HBs-антигена был подтвержден с использованием калибровочного образца предприятия СПП «РАПИД-HBsAg-ИФА», содержащего HBsAg, подтвержденного относительно Третьего международного стандарта ВОЗ «WHO International Standard Third International Standard for HBsAg (HBV genotype B4, HBsAg subtypes ayw1/adw2) (NIBSC code: 12/226, Соединенное Королевство). Калибровочный образец с концентрацией HBsAg 0,01 МЕ/мл определяется в наборе «РАПИД-HBsAg-ИФА» как положительный образец. Установлено, что предел обнаружения «РАПИД-HBsAg-ИФА» составляет 0,01 МЕ/мл.

3.4. Перекрестная реактивность

Перекрестная реактивность не наблюдалась при тестировании образцов, содержащих антитела к *Borrelia burgdorferi*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *Trichomonas vaginalis*, возбудителю ВИЧ-инфекции, HSV1, HSV2, CMV, HCV, ВЭБ, *Treponema pallidum*, вирусам краснухи, гриппа А и В, микобактериям туберкулеза, токсоплазме, SARS-CoV-2, а также образцов, полученных от беременных женщин и образцов пациентов с положительным ревматоидным фактором.

3.5. Интерференция

Интерференция не наблюдалась при исследовании образцов, содержащих вещества в следующих концентрациях: гемоглобин — до 200 г/л, билирубин до — 300 мг/л, триглицериды — до 250 мг/дл, холестерол — до 4 г/л, общий белок в концентрации до 160 г/л, биотин — до 5 мг/л, глюкоза — до 2,0 г/л, этанол — до 2,0 г/л, молочная кислота — до 400,0 мг/л, мочевина — до 800,0 мг/л.

В рамках проведения клинических испытаний влияние антикоагулянтов (К2ЭДТА, К3ЭДТА, Li-гепарин, Na-гепарин, цитрат натрия) на результаты анализа не выявлено.

3.6. Воспроизводимость

Внутрисерийный и межсерийный коэффициент вариации измерения оптической плотности не превышает 8 %.

3.7. Хук-эффект

Ложноотрицательные результаты выявления HBsAg, обусловленные высокими концентрациями (хук-эффект высоких концентраций), не были получены вплоть до концентрации HBsAg 1000000 МЕ/мл.

3.8. Диагностические характеристики

Для подтверждения диагностических характеристик были проведены внутренние (валидация) и клинико-лабораторные испытания. В совокупности было исследовано 1804 биологических образцов сыворотки, плазмы и препаратов крови человека. По результатам проведенных испытаний диагностическая чувствительность «РАПИД-HBsAg-ИФА» составила 100 % (с доверительной вероятностью 95 %, доверительный интервал 99,7 – 100 %), диагностическая специфичность – 100 % (с доверительной вероятностью 95 %, доверительный интервал 99,8 – 100 %).

Дополнительно диагностическая чувствительность была исследована при тестировании двух коммерческих сероконверсионных панелей «AccuVert™ HBV Seroconversion Panel PHM940 (0605-0059)» производства SeraCare, США и «HBV Seroconversion Panel Donor No. 65524 (HBV11001)» производства ZeptoMetrix, США. В панели PHM940 с генотипом В один образец из восьми показал положительный результат, в панели HBV11001 – четыре из восьми были положительные.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Лабораторная диагностика ВГВ в субъектах Российской Федерации может проводиться в лабораториях организаций, имеющих санитарно-эпидемиологическое заключение на работу с возбудителями III-IV групп патогенности с использованием методов диагностики, не предполагающих накопление возбудителя, соответствующие условия работы и обученный персонал.

Взятие, транспортировка и хранение клинического материала должны осуществляться согласно МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории», утвержденным Роспотребнадзором, и Рекомендациям «Организация преаналитического этапа при централизации лабораторных исследований», одобренным профильной комиссией Минздрава России по клинической лабораторной диагностике.

Требования к условиям и процедурам ведения преаналитического этапа клинических лабораторных исследований с целью исключения или ограничения влияния эндогенных, экзогенных, ятрогенных и иных факторов, мешающих правильному отражению состояния внутренней среды обследуемых пациентов в результатах клинических лабораторных исследований описаны в ГОСТ Р 53079.4 «Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа».

Все компоненты набора, содержащие в своем составе материалы человеческого происхождения инаktivированы.

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

Растворы, содержащие тетраметилбензидин, РИ, (11х) ТМБ, (11х) Кг-1, (101х) Кг-2, ЦФБ являются светочувствительными и должны быть защищены от света.

Стоп-реагент, РИ, (11х) ТМБ и ЦФБ обладают раздражающим действием на кожу и слизистые. В случае контакта с кожей и/или слизистыми промойте большим количеством проточной воды и при необходимости обратитесь за медицинской помощью.

Не используйте набор реагентов после истечения срока годности.

Не смешивайте компоненты из разных серий наборов реагентов «РАПИД-HBsAg-ИФА», за исключением (25х) ПР, РРП, ЦФБ и стоп-реагента. Совместное использование набора реагентов с компонентами наборов других производителей запрещено.

5. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

5.1. Анализируемые образцы

Для проведения анализа используются образцы сыворотки, плазмы крови человека и препараты, приготовленные из крови человека (иммуноглобулины, лейкоцитарные интерфероны, криопреципитат, альбумин). Лиофильно высушенные препараты предварительно приготовить, восстановив согласно инструкции по их применению, затем провести стандартный иммуноферментный анализ по методике, описанной в инструкции.

Минимальный объем исследуемого образца сыворотки/плазмы крови 100 мкл. Антикоагулянты (К2ЭДТА, К3ЭДТА, Li-гепарин, Na-гепарин, цитрат натрия) и активатор свертывания не влияют на результаты анализа.

Образцы сыворотки/плазмы крови допускается хранить не более 7 суток при температуре от +2 °С до +8 °С. Длительное хранение (до 6 месяцев) анализируемых образцов осуществлять при температуре минус 20 °С.

Замороженные образцы перед исследованием необходимо довести до комнатной температуры (от +18 °С до +25 °С), тщательно перемешать для устранения возникающего при замораживании градиента концентраций. При работе с размороженными образцами следует учитывать, что каждый следующий цикл замораживания и размораживания снижает качество исследуемого материала. Рекомендуется однократное замораживание и размораживание образцов с целью получения достоверных результатов исследования, а также хранение нескольких замороженных аликвот образца.

Не допускается использование для исследования образцов с повышенным содержанием липидов и (или) с признаками гемолиза, и (или) с видимым микробным проростом.

Мутные образцы перед анализом необходимо отцентрифугировать в течение 10-15 мин при 1800-2200 g.

5.2. Подготовка к проведению анализа

Привести все компоненты набора реагентов к комнатной температуре перед использованием.

При дробном использовании набора оставшиеся реагенты тщательно закрыть соответствующими крышками, а планшет повторно упаковать в оригинальный пакет с силикагелем,

удалив воздух нажатием, и тщательно закрыть замок. Хранить при температуре от +2 °C до +8 °C в течение срока годности. (25x) ПР и стоп-реагент допускается хранить при комнатной температуре.

5.2.1. Приготовление промывочного раствора

При наличии во флаконе (25х) ПР осадка солей необходимо прогреть его при температуре от +30 °С до +40 °С до полного растворения осадка и перед разведением охладить до комнатной температуры. В зависимости от числа используемых стрипов внести в мерный цилиндр необходимый объем концентрата (25х) ПР и довести его очищенной водой до объема, указанного в таблице 2.

Таблица 2

Количество стрипов	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Реагент												
(25х) ПБР, мл	3	7	10	13	17	20	23	27	30	33	37	40
Вода очищенная, мл	до 75	до 175	до 250	до 325	до 425	до 500	до 575	до 675	до 750	до 825	до 925	до 1000

Готовый рабочий промывочный раствор хранить при температуре от +2 °С до +8 °С не более 6 месяцев, при температуре от +18 °С до +26 °С – не более 30 суток.

5.2.2. Приготовление растворов конъюгата-1 и конъюгата-2

Внимание! Рекомендуется готовить рабочий раствор непосредственно перед использованием.

При использовании всего планшета внести необходимые объемы (11х) концентрата конъюгата-1 и (101х) концентрата конъюгата-2 в РРК-1 и РРК-2 в соответствии с таблицей 3, тщательно перемешать раствор, не допуская вспенивания.

При дробной постановке применять соотношение объемов (11х) Кг-1 и (101х) Кг-2 и РРК-1, РРК-2, указанные в таблице 3, для разного числа используемых стрипов. Готовить раствор необходимо в чистой (желательно одноразовой) емкости с использованием одноразовых наконечников для дозаторов.

Таблица 3

Количество стрипов	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Реагент												
Приготовление рабочего раствора конъюгата-1												
(11х) Концентрат конъюгата-1, мкл	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500	550	600
РРК-1, мл	0,5	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4	4,5	5	5,5	6
Приготовление рабочего раствора конъюгата-2												

(101 x) Концентрат конъюгата-2, мкл	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120
РРК-2, мл	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

Готовые растворы конъюгатов хранить при температуре от +18 °С до +26 °С в защищенном от воздействия прямого солнечного света месте не более 12 часов, неиспользованные вскрытые (11х) концентрат конъюгата-1 и (101х) концентрат конъюгата-2 в течение срока годности реагентов при температуре от +2 °С до +8 °С в плотно закрытом флаконе.

5.2.3. Приготовление субстратного раствора для комплектов №1.1, 1.2, 1.3 и 3

Готовить непосредственно перед использованием в месте, защищенном от воздействия прямого солнечного света.

При использовании всего планшета внести 1,4 мл концентрата (11х) ТМБ в 14,0 мл ЦФБ, тщательно перемешать раствор, не допуская вспенивания.

При дробной постановке применять соотношение объемов концентрата ТМБ и ЦФБ, указанные в таблице 4 для разного числа используемых стрипов. Готовить раствор необходимо в чистой (желательно одноразовой) емкости с использованием одноразовых наконечников для дозаторов.

Таблица 4

Количество стрипов \ Реагент	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
(11х) ТМБ, мкл	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000	1100	1200
ЦФБ, мл	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

Готовый субстратный раствор хранить при температуре от +18 °С до +26 °С в защищенном от воздействия прямого солнечного света месте не более 12 часов.

5.2.4. Приготовление остальных компонентов набора

МТП, К+, К+сл, К-, ЦФБ, РИ, РРП, РРК-1, РРК-2 и стоп-реагент – готовы к использованию.

5.2.5. Подготовка исследуемых образцов

5.2.5.1. Подготовка образцов сыворотки/плазмы крови

В случае проведения анализа с использованием замороженных образцов сыворотки/плазмы пробирки предварительно разморозить при температуре от +2 °С до +8 °С. Образцы после разморозки тщательно перемешать.

5.2.5.2. Подготовка препаратов крови для комплекта №3

Лиюфилизированные препараты крови перед исследованием предварительно восстановить согласно инструкции по их применению.

Препараты крови перед проведением анализа необходимо развести в два раза раствором для разведения (РРП) (например, к 60 мкл РРП, предварительно внесенного в лунки

планшета для предварительных разведений, добавить 60 мкл исследуемых препаратов крови, тщательно перемешать). РРП перед применением необходимо взболтать.

5.2.5.3. Подготовка микропланшета (МТП)

1. Привести МТП к комнатной температуре.
2. Рассчитать количество стрипов, необходимых для анализа.
3. Вскрыть пакет с планшетом выше замка «zip-lock».
4. Установить в рамке планшета необходимое количество стрипов. Оставшиеся стрипы упаковать в оригинальный пакет с силикагелем, удалив воздух нажатием, и хранить при температуре от +2 °C до +8 °C в течение всего срока годности набора.

5.3. Проведение анализа

5.3.1. Процедура проведения анализа

1. Внести во все лунки МТП по 50 мкл приготовленного согласно таблице 3 рабочего раствора конъюгата-1.
2. Затем в лунки МТП необходимо внести следующие образцы, тщательно перемешивая пипетированием:
 - в лунку A1 – 100 мкл K+;
 - в лунку B1 – 100 мкл K+сл;
 - в лунки C1 и D1 – по 100 мкл K-;
 - в остальные лунки – по 100 мкл исследуемых образцов или предварительно разведенных в два раза препаратов крови (см. п.5.2.5.2 «Подготовка препаратов крови для комплекта №3»).

Примечание: процедура внесения образцов по времени не должна превышать 15 минут от момента внесения первого образца.

3. Заклеить стрипы МТП клейкой пленкой.

Инкубировать в орбитальном термощейкере со скоростью вращения платформы 700 об/мин при температуре $(44 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 40 минут.

4. По окончании инкубации снять клейкую пленку и промыть 7 раз лунки планшета, внося не менее 350 мкл промывочного раствора. При использовании промывочного устройства время между заполнением и аспирацией лунок должно быть не менее 30 секунд. По окончании промывки избавиться от остатков жидкости, постучав перевернутым планшетом о поверхность стола, покрытую фильтровальной бумагой.

5. Внести во все лунки МТП по 100 мкл приготовленного согласно таблице 3 рабочего раствора конъюгата-2.

6. Заклеить стрипы МТП клейкой пленкой.

Инкубировать в орбитальном термощейкере со скоростью вращения платформы 700 об/мин при температуре $(44 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 30 минут.

7. По окончании инкубации снять клейкую пленку и промыть 7 раз лунки планшета, как описано в пункте 4.

8. Внести в каждую лунку планшета по 100 мкл предварительно приготовленного субстратного раствора (см. п.5.2.3. «Приготовление субстратного раствора») (для комплектов №1.1, 1.2, 1.3 и 3) или РИ (для комплектов №2.1, 2.2 и 2.3) и инкубировать в защищенном

от света месте в течение 20 минут при температуре от 21 до 25 °С.

9. Остановить реакцию внесением в каждую лунку МТП по 100 мкл содержимого флакона «Стоп-реагент». Перемешать содержимое лунок легким постукиванием по рамке планшета.
10. Провести измерение оптической плотности (ОП) растворов в лунках МТП при двух длинах волн 450 нм (основная) / 620 – 650 нм (сравнения) в течение 5 минут после остановки реакции.

Примечание: перед измерением ОП убедиться, что синий цвет жидкости полностью сменился на желтый, и раствор в лунках хорошо перемешался.

Общие рекомендации к процедуре проведения анализа

- Храните все реагенты при температуре от +2 °С до +8 °С.
- НЕ ДОПУСКАЙТЕ высыхания ячеек во время процедуры.
- Для точного измерения дозирование проб и контролей должны быть максимально точными. Используйте только хорошо откалиброванное оборудование.
- Всегда заранее имейте под рукой реагенты, подготовленные для следующего шага.

5.4. Учёт результатов качественного анализа

Результаты ИФА регистрировать с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность (ОП) при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения 620-650 нм. Выведение спектрофотометра на «нулевой» уровень осуществлять по воздуху.

Рассчитать $ОП_{крит}$ по формуле:

$$ОП_{крит} = ОП(K-)_{cp} + 0,05, \quad (1)$$

где $ОП(K-)_{cp}$ – среднее значение ОП в лунках с K–.

Результаты ИФА учитываются только при следующих условиях:

- значение ОП для K+ не менее 0,8;
- значение ОП для K+сл более $ОП_{крит}$;
- среднее значение ОП для K– не выше 0,1.

При несоответствии полученных результатов заданным условиям исследование необходимо повторить.

Для оценки степени позитивности исследуемых образцов может быть рассчитан коэффициент позитивности (КП) по формуле:

$$КП = ОП_{обр} / ОП_{крит} \quad (2)$$

где $ОП_{обр}$ – значение оптической плотности исследуемых образцов,

$ОП_{крит}$ – пороговое значение, рассчитанное по формуле (1).

5.4.1. Интерпретация результатов

- Исследуемый образец учитывать, как положительный, если значение КП данного образца больше 1,1;
- Исследуемый образец учитывать, как сомнительный, если значение КП данного образца больше 0,9 и меньше 1,1;
- Исследуемый образец учитывать, как отрицательный, если значение КП данного образца меньше 0,9.

5.5. Постановка с использованием ИФА-анализатора

Подготовить прибор в соответствии с инструкцией по его эксплуатации, ввести программу анализа, соответствующую используемому набору, и провести анализ.

6. ОГРАНИЧЕНИЕ МЕТОДА

Надежные и воспроизводимые результаты будут получены, если процедура анализа осуществляется при точном следовании положениям данной инструкции.

Процедуры промывки и удаления лишней жидкости являются обязательными. Недостаточная промывка приведет к низкой точности и завышению оптической плотности образцов.

7. ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ

Набор реагентов «РАПИД-HBsAg-ИФА» должен храниться при температуре от +2 °С до +8 °С в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим в течение всего срока годности. Срок годности медицинского изделия — 24 месяца. Набор реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит.

В случае дробного использования набора реагентов, после первого вскрытия оригинальной упаковки неиспользованные компоненты следует хранить следующим образом:

- Оставшиеся неиспользованными стрипы необходимо тщательно упаковать в оригинальный пакет с замком и хранить при температуре от +2 °С до +8 °С в течение всего срока годности набора;
- Все реагенты после вскрытия флаконов следует хранить при температуре от +2 °С до +8 °С в течение всего срока годности набора. (25х) ПР и стоп-реагент допускается хранить при комнатной температуре.

Транспортирование медицинского изделия — при температуре от +2 °С до +8 °С транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. Допускается транспортирование при температуре до +26 °С не более 20 суток. Изделия, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

8. УТИЛИЗАЦИЯ

При использовании медицинского изделия образуются отходы классов А и Б, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 [7].

9. ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ И РЕМОНТ

Не применимо. Медицинское изделие техническому обслуживанию и ремонту не подлежит.

10. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ И ПРАВИЛА ПРЕДОСТАВЛЕНИЯ РЕКЛАМАЦИЙ

Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора требованиям технических условий при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения,

установленных технической документацией предприятия-изготовителя.

Срок годности медицинского изделия составляет 24 месяца с даты изготовления.

Медицинское изделие с истёкшим сроком годности применению не подлежат.

Производитель: Общество с ограниченной ответственностью «РАПИД БИО» (ООО «РАПИД БИО»).

По вопросам обращения медицинского изделия просьба обращаться к производителю. При выявлении побочных действий, не указанных в инструкции по применению, нежелательных реакций при применении, особенностей взаимодействия медицинских изделий между собой, фактов и обстоятельств, создающих угрозу жизни и здоровью граждан и медицинских работников при применении и эксплуатации, необходимо направлять сообщение, содержащее указанные сведения производителю.

11. КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Производитель:

Общество с ограниченной ответственностью «РАПИД БИО» (ООО «РАПИД БИО»).

Адрес юридического лица: Россия, 670000, Республика Бурятия, г. Улан-Удэ, ул. Свердлова, 13А, офис 4, +7 495 105 99 16, info@rapidbio.ru, www.rapidbio.ru

Место производства медицинского изделия:

Общество с ограниченной ответственностью «РАПИД БИО» (ООО «РАПИД БИО»).

Россия, 121205, г. Москва, территория инновационного центра «Сколково», Большой бульвар, д. 42, стр.1.

12. СИМВОЛЫ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ
МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

Символ	Описание	Символ	Описание
	Изготовитель		Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>
	Дата изготовления		Содержимого достаточно для проведения n тестов
	Температурный диапазон		Цитратно-фосфатный буферный раствор
	Использовать до		Содержит кровь человека или производные плазмы крови
	Код партии		Хрупкое, обращаться осторожно
	Номер по каталогу		Микропланшет разборный
	Не допускать воздействия влаги		Положительный контрольный образец
	Не допускать воздействия солнечного света		Слабopоложительный контрольный образец
	Осторожно		Отрицательный контрольный образец
	Обратитесь к инструкции по применению		

Символ	Описание
(25x)ПР	(25x) концентрат для приготовления промывочного раствора
РРК-1	Раствор для разведения конъюгата-1
РРК-2	Раствор для разведения конъюгата-2
(11x)Кг-1	(11x) концентрат конъюгата-1
ПЛЕНКА	Клейкие пленки для заклеивания планшетов Изделие для запечатывания планшетов по ТУ 32.50.50-009-48072026-2022: 1. Пленка клейкая для планшетов с одной насечкой, РУ № РЗН 2022/19122
НК	Наконечники одноразовые к дозаторам пипеточным Наконечник универсальный для пипеточных дозаторов по ТУ 32.50.50-002-72241324-2018: 1. Наконечник объемом до 250 мкл универсальный, нейтральный, 1001, РУ № РЗН 2019/9159

Символ	Описание
(101x)Кг-2	(101x) концентрат конъюгата-2
(11x)ТМБ	(11x) концентрат тетраметилбензидина
РИ	Раствор индикаторный
РРП	Раствор для разведения препаратов крови
ПЛАНШЕТ	Планшет для предварительного разведения образцов Планшет иммунологический по ТУ 32.50.50-003-01813981-2020: 7. Планшет иммунологический (разборный) 96 лунок, РУ № РЗН 2021/16228
ВАННОЧКА	Ванночки для реагентов Изделия полимерные для медицинских лабораторий по ТУ 32.50.50-001-01813981-2018: 1. Ванночка для реагентов (для многоканальных пипеток-дозаторов) вместимостью 30 мл (артикул Т-0100), РУ № РЗН 2019/8202

13. ЛИТЕРАТУРА

1. Клинические рекомендации Министерства здравоохранения Российской Федерации «Острый гепатит В (ГВ) у взрослых», 2021 г.
2. Инфекционные болезни и эпидемиология: Учебник / В.И. Покровский, С.Г. Пак, Н.И. Брико, Б.К. Данилкин. — 3-е изд. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2019. — 1008 с.: ил.
3. Brody H. Hepatitis B. *Nature*. 2022 Mar;603(7903): S45. doi: 10.1038/d41586-022-00811-2. PMID: 35354990.
4. Lin C. L., Kao J. H. Hepatitis B virus genotypes and variants //Cold Spring Harbor perspectives in medicine. — 2015. — Т. 5. — №. 5. — С. a021436.
5. Seeger C., Mason W. S. Hepatitis B virus biology //Microbiology and molecular biology reviews. — 2000. — Т. 64. — №. 1. — С. 51-68.
6. Приказ Минздрава России от 09.11.2012 N 786н «Об утверждении стандарта специализированной медицинской помощи при хроническом вирусном гепатите В».
7. СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению населения, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».

14. ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ ПРОИЗВОДИТЕЛЕМ (ИЗГОТОВИТЕЛЕМ) МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ

1. ГОСТ Р 51088-2013 «Медицинские изделия для диагностики *in vitro*. Реагенты, наборы реагентов, тест-системы, контрольные материалы, питательные среды. Требования к изделиям и поддерживающей документации»;
2. ГОСТ Р 51352-2013 «Медицинские изделия для диагностики *in vitro*. Методы испытаний»;
3. ГОСТ Р ИСО 15223-1-2023 «Изделия медицинские. Символы, применяемые для передачи информации, предоставляемой изготовителем. Часть 1. Основные требования»;
4. ГОСТ Р ИСО 18113-2-2015 «Медицинские изделия для диагностики *in vitro*. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 2. Реагенты для диагностики *in vitro* для профессионального применения»;
5. ГОСТ Р ИСО 18113-1-2015 «Медицинские изделия для диагностики *in vitro*. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования»;
6. ГОСТ Р ИСО 23640-2015 «Изделия медицинские для диагностики *in vitro*. Оценка стабильности реагентов для диагностики *in vitro*»;
7. ГОСТ ISO 13485-2017 «Изделия медицинские. Системы менеджмента качества. Требования для целей регулирования»;
8. ГОСТ ISO 14971-2021 «Изделия медицинские. Применение менеджмента риска к медицинским изделиям».

Внимание! Приступать к процедуре проведения анализа только после ознакомления с инструкцией по применению набора.

«РАПИД-НВsAg-ИФА»
КРАТКАЯ СХЕМА ИФА
для всех вариантов комплектации

Внести	во все лунки МТП по 50 мкл приготовленного раствора конъюгата-1
Внести	в лунки МТП: A1 – 100 мкл K+, B1 – 100 мкл K+сл., C1 и D1 – по 100 мкл K-, в остальные лунки по 100 мкл исследуемых образцов или предварительно разведенных в два раза препаратов крови
Инкубировать	40 мин при температуре (44 ± 1) °C в орбитальном термощейкере, скорость вращения платформы 700 об/мин
Промыть	7 раз промывочным раствором
Внести	во все лунки по 100 мкл приготовленного раствора конъюгата-2
Инкубировать	30 мин при температуре (44 ± 1) °C в орбитальном термощейкере, скорость вращения платформы 700 об/мин
Промыть	7 раз промывочным раствором
Внести	во все лунки по 100 мкл предварительно приготовленного субстратного раствора (для комплектов №1.1, 1.2, 1.3 и 3) или РИ (для комплектов №2.1, 2.2 и 2.3)
Инкубировать	20 мин при температуре от +21 до +25 °C, в темноте
Внести	по 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку
Измерить	ОП при двух длинах волн – 450 нм (основная) / 620 – 650 нм (сравнения)