УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
АО «Вектор-Бест»
_____ М.Д. Хусаинов
«26» февраля 2024 г.
м.п.

ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов для иммуноферментного выявления HBsAg
(Вектоген HBsAg плюс)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для иммуноферментного выявления HBsAg **«Вектоген HBsAg плюс»** *(далее по тексту – набор)* предназначен для качественного определения поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg) в сыворотке, плазме, препаратах (*иммуноглобулины, криопреципитат, альбумин*) крови человека методом твёрдофазного иммуноферментного анализа. Набор может быть использован для скрининга, включая скрининг доноров крови и её компонентов, тканей и органов, и в комплексной диагностике гепатита В вне зависимости от популяционных и демографических аспектов.

1.2. Набор реагентов выпускается в трёх комплектациях, эквивалентных по назначению, свойствам и функциональным характеристикам.

Комплект 1 рассчитан на проведение **96 определений**, включая контроли (*по 5 лунок в каждой постановке*). Предусмотрено дробное использование набора.

Комплект 2 рассчитан на проведение **192 определений**, включая контроли (*по 5 лунок в каждой постановке*). Предусмотрено дробное использование набора.

Комплект 3 рассчитан на проведение **480 определений**, включая контроли (*по 5 лунок в каждой постановке*). Предусмотрено дробное использование набора.

1.3. Набор может быть использован для ручной постановки анализа и для постановки в автоматических ИФА анализаторах открытого типа *(например, анализатор иммуноферментный автоматический «Лазурит» (LAZURITE) с принадлежностями).*

2. КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ТЕСТА

Возбудителем сывороточного гепатита является **вирус гепатита В (ВГВ)**, который представляет собой оболочечный ДНК-вирус. Во время протекания инфекции вирус производит избыток поверхностного антигена гепатита В (HBsAg), также известного как австралийский антиген, который обнаруживается в крови инфицированных лиц. Белковые молекулы HBsAg (L, M, S) имеют две основные функции: обеспечивают белковую часть вирусной поверхности, а также собираются в агрегаты и секретируются как субвирусные частицы [1]. HBsAg является структурной мишенью для вируснейтрализующих антител, а Pre-S1 домен белка L-HBsAg отвечает за связывание вируса с рецептором на базолатеральной мембране гепатоцита [2]. HBsAg – первый серологический маркер, который обнаруживается в крови после инфицирования ВГВ. Он появляется через 1–10 недель после заражения *(в среднем – 5 недель)* [3,4]. HBsAg обнаруживается в крови во время острой фазы и исчезает в конце периода выздоровления. Обнаружение HBsAg в течение шести месяцев и более указывает на хроническую инфекцию ВГВ (ХГВ). В мировом масштабе большинство лиц с ХГВ были инфицированы при рождении или в раннем детстве.

Тесты на HBsAg используют для выявления людей, инфицированных ВГВ [5], и предотвращения передачи вируса с кровью и продуктами крови [6,7], а также мониторинга состояния инфицированных лиц в сочетании с другими серологическими маркерами гепатита В [8, 9]. В большинстве стран тестирование на HBsAg является частью программы предродового скрининга женщин для

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

выявления матерей, инфицированных ВГВ, и предотвращения перинатальной инфекции ВГВ с последующей иммунизацией [10], а с 2016 года – частью глобальной стратегии сектора здравоохранения по ВИЧ, вирусным гепатитам и инфекциям, передаваемым половым путем [11] с целью элиминации вирусных гепатитов к 2030 году.

Сообщалось о кратковременном *(2–3 недели)* выявлении HBsAg после вакцинации [12,13], в связи с чем не рекомендуется проводить исследование на выявление HBsAg после вакцинации против гепатита В в течение примерно 1 месяца.

3. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

3.1. Принцип метода.Принцип метода заключается во взаимодействии HBsAg с моноклональными антителами, иммобилизованными на поверхности лунок полистиролового планшета. Комплекс «антиген-антитело» выявляют с помощью конъюгата поликлональных антител к HBsAg с пероксидазой хрена. Во время инкубации с раствором тетраметилбензидина, происходит окрашивание раствора в лунках, содержащих образовавшиеся комплексы «антиген-антитело». Интенсивность окрашивания зависит от количества HBsAg, содержащегося в исследуемом образце. После остановки реакции добавлением стоп-реагента результаты ИФА регистрируются измерением **оптической плотности (ОП)** в лунках планшета.

3.2. Состав набора.

Набор комплектуется готовыми к использованию реагентами и концентрированным раствором ФСБ-Т×25. Компоненты набора имеют цветовую индикацию, флаконы с готовыми к использованию реагентами маркированы штрих-кодами.

Таблица 1

Компонент набора (сокращение) *Описание*	**Комплект 1 Σ 96**	**Комплект 2 Σ 192**	**Комплект 3 Σ 480**
Планшет разборный с иммобилизованными моноклональными антителами к HBsAg	1 шт.	2 шт.	5 шт.
Отрицательный контрольный образец ($К^-$) *Жидкость светло-жёлтого цвета.* *Не содержит HBsAg.* ***Содержит натрия мертиолят (0,01%), натрия азид (0,01%).***	1 фл., 3,0 мл	2 фл. по 3,0 мл	2 фл. по 3,0 мл
Слабоположительный контрольный образец ($К^+_{слаб}$) *Жидкость малинового цвета.* *Содержит HBsAg (0,2±0,1) МЕ/мл.* ***Содержит Proclin 300 (0,04%).***	1 фл., 2,5 мл	1 фл., 2,5 мл	1 фл., 2,5 мл
Положительный контрольный образец ($К^+$) *Жидкость красного цвета.* *Содержит HBsAg (2,0±1,0) МЕ/мл.* ***Содержит натрия мертиолят (0,02%).***	1 фл., 2,5 мл	1 фл., 2,5 мл	1 фл., 2,5 мл
Конъюгат Жидкость синего цвета. *Поликлональные антитела к HBsAg с пероксидазой хрена.* ***Содержит фенол (0,05%), натрия мертиолят (0,01%).***	1 фл., 8,0 мл	1 фл., 15,0 мл	2 фл. по 15,0 мл
Концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) *Бесцветная жидкость.* ***Содержит ProClin 300 (0,25%).***	1 фл., 28,0 мл	1 фл., 28,0 мл	1 фл., 100,0 мл

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

Раствор тетраметилбензидина (Раствор ТМБ) *Бесцветная или светло-жёлтого цвета жидкость.* ***Содержит 3,3',5,5' – тетраметилбензидин (0,025%).***	1 фл., 13,0 мл	2 фл. по 13,0 мл	3 фл. по 20,0 мл
Стоп-реагент *Бесцветная жидкость.* ***Содержит кислоту серную (4,9%).***	1 фл., 12,0 мл	2 фл. по 12,0 мл	3 фл. по 21,0 мл
Плёнки для заклеивания планшета	1 шт.	2 шт.	5 шт.
Наконечники для дозаторов	16 шт.	16 шт.	16 шт.
Ванночки для реагентов	2 шт.	2 шт.	2 шт.

4. ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ И АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

4.1. Предел обнаружения:

– минимальная концентрация HBsAg, определяемая по стандартному образцу предприятия*, содержащему HBsAg субтипов ad/ay, не превышает 0,05 МЕ/мл при процедуре 1 и не превышает 0,01 МЕ/мл при процедуре 2.

**аттестован относительно WHO International Standard Third International Standard for HBsAg (HBV genotype B4, HBsAg subtypes ayw1/adw2) NIBSC code: 12/226.*

4.2. Диагностическая чувствительность:

– при исследовании 500 серопозитивных образцов сыворотки *(плазмы)* крови составила 100% *(интервал 99,26%–100% с доверительной вероятностью 95%).*

4.3. Сероконверсионные панели:

– чувствительность набора **«Вектоген HBsAg плюс»** в период сероконверсии оценивалась путём тестирования 2 коммерческих сероконверсионных панелей:

4.3.1. HBV *Seroconversion Panel*, BIOMEX, Германия, Cat. No: SCP-HBV-007 *(3 образца)*.

Таблица 2

№№ образца	**День забора**	**«Вектоген HBsAg плюс»**		**Abbott Architect HBsAg qualitative II**
		Коэффициент позитивности		
		Процедура 1	**Процедура 2**	**Информация из паспорта к панели**
1	0	0,32	0,74	0,21
2	41	**62,10**	**46,64**	**179,35**
3	45	**63,77**	**64,72**	**977,29**

Из 3 образцов плазмы крови, полученных от инфицированного ВГВ пациента в течение 45 дней, 2 образца определены набором **«Вектоген HBsAg плюс»** как положительные.

4.3.2. HBV *Seroconversion Panel*, Zeptometrix, США, Cat. No: 6281 *(12 образцов).*

Из 12 образцов плазмы крови, полученных от инфицированного ВГВ пациента в течение 55 дней, набором **«Вектоген HBsAg плюс»** определены как положительные шесть образцов при применении процедуры 1 и семь образцов – при применении процедуры 2.

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

Таблица 3

№№ образца	День забора	«Вектогеп HBsAg плюс»		ABBOTT AxSYM HBsAg	SORIN ETI-MAK 3 HBsAg	MUREX HBsAg Version3
		Коэффициент позитивности				
		Процедура 1	Процедура 2	Информация из паспорта к панели		
1	09.03.1996	0,47	0,33	0,57	0,21	0,52
2	09.08.1996	0,48	0,61	0,59	0,22	0,51
3	09.10.1996	0,48	0,69	0,55	0,18	0,53
4	09.16.1996	0,85	**1,97**	0,63	0,31	0,88
5	09.22.1996	**1,03**	**3,87**	0,81	0,47	**1,16**
6	09.25.1996	**3,34**	**10,08**	**1,63**	**1,08**	**3,23**
7	10.06.1996	**6,15**	**27,54**	**3,50**	**2,21**	**10,96**
8	10.09.1996	**8,74**	**39,15**	**5,11**	**4,40**	**15,94**
9	10.14.1996	**18,48**	**59,79**	**9,53**	**7,52**	**23,96**
10	10.16.1996	**5,79**	**21,77**	**2,54**	**1,70**	**7,28**
11	10.23.1996	0,47	0,66	0,55	0,24	0,53
12	10.27.1996	0,50	0,66	0,06	0,20	0,50

4.4. Выявление HBsAg разной субтиповой принадлежности и мутантных форм ВГВ.

4.4.1. **HBsAg – стандартная панель сывороток, АО «Вектор-Бест», Россия, серия 7, годен до 2029-08-31, РУ № ФСР 2012/13718** *(Таблица 4).*

В состав панели входят 8 сывороток крови человека разной субтиповой принадлежности или мутантной формы HBsAg. Каждая сыворотка представлена тремя концентрациями HBsAg. Минимальная концентрация HBsAg, определяемая набором **«Вектогеп HBsAg плюс»** в образцах, содержащих разные субтипы и мутантные формы HBsAg вируса гепатита В, не превышает 0,05 МЕ/мл при процедуре 1 и 0,01 при процедуре 2.

Таблица 4

№ сыворотки в панели	Субтип, мутантная форма HBsAg	Аттестация против WHO International Standard for HBsAg *(HBV genotype B4, HBsAg subtype ayw1/adw2)* NIBSC code: 12/226 *(МЕ/мл)*	«Вектогеп HBsAg плюс»	Коммерческий доступный тест на HBsAg
			Коэффициент позитивности	

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

			процедура 1	процедура 2	
1	ayw2	0,1	**2,69**	**6,35**	**2,37**
2	ayw2	0,05	**2,03**	**4,81**	**1,74**
3	ayw2	<0,05	0,98	**2,05**	0,9
4	adw2	0,1	**2,31**	**4,84**	**2,5**
5	adw2	0,05	**1,35**	**2,92**	**1,4**
6	adw2	<0,05	**1,08**	**2,16**	**1,2**
7	ayw3varA	0,1	**2,58**	**6,49**	**2,8**
8	ayw3varA	0,05	**1,46**	**3,70**	**1,58**
9	ayw3varA	<0,05	0,95	**2,09**	0,94
10	ayw3varB	0,1	**2,42**	**6,05**	**2,15**
11	ayw3varB	0,05	**1,75**	**4,31**	**1,52**
12	ayw3varB	<0,05	0,88	**1,86**	0,83
13	adrq+	0,1	**2,22**	**5,73**	**2,46**
14	adrq+	0,05	**1,29**	**3,20**	**1,43**
15	adrq+	<0,05	0,82	**1,82**	0,93
16	ayw4	0,1	**1,95**	**6,23**	**2,21**
17	ayw4	0,05	**1,31**	**3,11**	**1,24**
18	ayw4	<0,05	**1,00**	**2,47**	0,97
19	ayw3 S143L	0,1	**2,06**	**5,65**	**2,36**
20	ayw3 S143L	0,05	**1,25**	**3,04**	**1,36**
21	ayw3 S143L	<0,05	0,69	**2,16**	**1,06**
22	adw3 G145R	0,1	**2,88**	**12,49**	0,78
23	adw3 G145R	0,05	**1,85**	**6,43**	0,55
24	adw3 G145R	<0,05	**1,55**	**4,27**	0,44

4.4.2. 1-я международная референсная панель генотипов ВГВ для тестов на HBsAg *(Paul Erlich institute, Германия, code 6100/09) (15 образцов).*

Таблица 5

№№ сыворотки в панели	**Субтип HBsAg**	**Генотип ВГВ**	**«Вектогеп HBsAg плюс»**
			Коэффициент позитивности
1	adw 2	A1	**65,91**
2	adw 2	A1	**66,90**
3	adw 2	A2	**66,10**
4	adw 2	B2	**65,69**
5	adw 2	B2	**66,05**

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

6	adr	C2	**65,95**
7	adr	C2	**65,28**
8	adr	C2	**66,41**
9	ayw 2	D1	**66,45**
10	ayw 2	D2	**66,16**
11	ayw 2	D3	**66,00**
12	ayw 4	E	**67,09**
13	adw 4	F2	**66,97**
14	adw 4	F2	**66,10**
15	adw 4	H	**65,90**

В состав панели входят 15 образцов, содержащих различные генотипы вируса гепатита В: по 3 образца генотипов A, C, D; по 2 образца генотипов B, F и по одному образцу генотипов E и H. Все образцы 1-ой международной референсной панели генотипов ВГВ определены как положительные в наборе **«Вектоген HBsAg плюс»**.

4.5. Диагностическая специфичность:

– при исследовании 777 серонегативных образцов сыворотки *(плазмы)* крови составила 100% *(интервал 99,53%–100% с доверительной вероятностью 95%)*.

4.6. Аналитическая специфичность:

– при исследовании 202 образцов сыворотки *(плазмы)* крови пациентов, свободных от HBsAg, но содержащих ВГС или антитела к другим патогенам: к вирусам гепатитов A, E, вирусам простого герпеса 1 и 2 типа, цитомегаловирусу, ВИЧ-1,2, вирусу клещевого энцефалита, вирусу SARS-CoV-2, к *Treponema pallidum*, а также сыворотки *(плазмы)* крови беременных женщин и пациентов с антителами к ревматоидному фактору не получено ложноположительных результатов, что свидетельствует об отсутствии кросс-реактивности и высокой специфичности.

4.7. Потенциально интерферирующие вещества – триглицериды в концентрации до 40 мг/мл; билирубин в концентрации до 0,2 мг/мл, гемоглобин в концентрации до 1,0 мг/мл, общий белок в концентрации до 120 мг/мл – не оказывают влияния на получение правильных результатов выявления HBsAg в испытуемых наборах реагентов.

4.8. Воспроизводимость:

для оценки воспроизводимости были исследованы три положительных образца с разной степенью позитивности.

Воспроизводимость внутри постановки оценивалась по 15 повторам каждого образца. Воспроизводимость между постановками оценивалась в течение 5 дней, по 3 постановки в день *(3 различных серии из 3 комплектов, с интервалом не менее часа, в 3 различных помещениях)* с использованием 5 повторов каждого образца. **Среднее значение коэффициентов позитивности ($КП_{ср}$)**, стандартное отклонение, коэффициенты вариации при оценке воспроизводимости приведены в *Таблице 6*.

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

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

Таблица 6

№№ образца	Воспроизводимость					
	в пределах постановки n=15			между постановками n=75 (5×3×5)		
	$КП_{ср}$	Стандартное отклонение	Коэффициент вариации, %	$КП_{ср}$	Стандартное отклонение	Коэффициент вариации, %
1	8,64	0,351	4,1	9,55	0,948	9,9
2	2,14	0,113	5,3	2,51	0,204	8,1
3	1,54	0,050	3,2	1,61	0,110	6,8

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

5.2. Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом. Требования
безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

5.3. Стоп-реагент и раствор ТМБ обладают раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента, раствора ТМБ на кожу и слизистые необходимо промыть загрязненный участок большим количеством проточной воды. Некоторые компоненты содержат ProClin 300, фенол, натрия мертиолят, натрия азид в концентрациях, указанных в п. 3.2. «Состав набора».

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

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

5.5. При использовании набора образуются отходы классов А, Б, В, которые классифицируются и уничтожаются *(утилизируются)* 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».

5.6. Дезинфекцию наборов реагентов, посуды и материалов, контактировавших с исследуемыми и контрольными образцами, следует проводить по МУ 287–113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5.7. Противопоказаний к применению медицинского изделия нет.

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

6.1. Для ручной постановки:

- спектрофотометр, 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;
- промывочное устройство для планшетов;
- холодильник бытовой;
- термостат, поддерживающий температуру (37±1) °С;

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

– термостатируемый шейкер орбитального типа, позволяющий проводить перемешивание при 700 об/мин
и температуре (37±1) °С;
– дозаторы одноканальные и многоканальные со сменными наконечниками;
– перчатки медицинские диагностические одноразовые;
– бумага фильтровальная лабораторная;
– цилиндр мерный вместимостью 5000 мл;
– вода дистиллированная;
– дезинфицирующие средства.

6.2. Для постановки с использованием автоматических ИФА анализаторов открытого типа:
– автоматический ИФА-анализатор открытого типа *(например, анализатор иммуноферментный автоматический «Лазурит» (LAZURITE) с принадлежностями, РУ № ФСЗ 2009/03660 от 07.04.2009);*
– холодильник бытовой;
– дозаторы одноканальные со сменными наконечниками;
– перчатки медицинские диагностические одноразовые;
– цилиндр мерный вместимостью 5000 мл;
– вода дистиллированная;
– дезинфицирующие средства.

7. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

7.1. 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 изложены в ГОСТ Р 53079.4–2008 «Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа».

Взятие, транспортирование и хранение исследуемого материала осуществляется согласно МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории», утверждённым Роспотребнадзором и Рекомендациям «Организация преаналитического этапа при централизации лабораторных исследований», одобренным профильной комиссией Минздрава России по клинической лабораторной диагностике 30.05.2013.

7.2. Для анализа использовать образцы сыворотки, плазмы *(полученной с использованием в качестве антикоагулянтов цитрата, гепарина, К2-ЭДТА или К3-ЭДТА)* крови человека.

7.3. Образцы сыворотки *(плазмы)* крови следует хранить при температуре (2–8) °С не более 5 суток или при температуре минус 18 °С и ниже, если требуется более длительное хранение. Допускается однократное замораживание. После размораживания образцы следует тщательно перемешать.

7.4. Образцы сыворотки *(плазмы)* крови, содержащие взвешенные частицы, необходимо очистить центрифугированием.

7.5. Лиофильно высушенные препараты крови перед исследованием восстановить в соответствии с инструкцией по применению данного препарата. Жидкие препараты крови исследовать не разведёнными.

8. ПОДГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

8.1. **ВНИМАНИЕ! Тщательное соблюдение описанных ниже требований позволит избежать искажения результатов ИФА.**
– Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать при температуре (18–26) °С не менее 30 минут.
– Для приготовления растворов следует использовать чистую мерную посуду.
– При дробном использовании набора после отбора необходимого количества компонентов флаконы с растворами необходимо плотно закрыть, а оставшиеся стрипы сразу упаковать в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух и плотно закрыть замок; упакованные

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

стрипы, плотно закрытые флаконы с исходными компонентами хранить при температуре (2–8) °С, использовать в течение всего срока годности набора.

- *Допускается хранение ФСБ-Т×25 и стоп-реагента при температуре (2–30) °С.*
- Необходимо избегать воздействия прямого солнечного света на раствор ТМБ при подготовке и проведении ИФА.
- При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов *(ФСБ-Т×25, раствор ТМБ, стоп-реагент)*, которые взаимозаменяемы в наборах АО «Вектор-Бест».
- Нельзя использовать реагенты из наборов других фирм-изготовителей.
- Для приготовления растворов и проведения ИФА следует использовать **одноразовые** наконечники для дозаторов.
- При использовании промывочного устройства для планшетов необходимо следить за чистотой ёмкости для промывочного раствора и соединительных шлангов: в них не должно быть микробной контаминации. Для предотвращения засорения игл промывочного устройства в конце рабочего дня обязательно следует выполнить процедуру ополаскивания системы подачи жидкости дистиллированной водой. Один раз в неделю необходимо производить замачивание всей системы промывочного устройства в 70% этиловом спирте или в другом растворе, рекомендованном инструкцией к прибору.
- Для дезинфекции посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС *(четвертичных аммониевых соединений),* спиртов, третичных аминов.
- В случае повторного использования посуду *(ванночки)* для конъюгата необходимо промыть проточной водой и тщательно ополоснуть дистиллированной водой, посуду *(ванночки)* для раствора ТМБ ополоснуть водой, промыть 70% раствором этилового спирта и тщательно отмыть дистиллированной водой. Нельзя обрабатывать посуду *(ванночки)* дезинфицирующими растворами и моющими средствами.
- Дозаторы и рабочие поверхности обрабатывать только 70% раствором этилового спирта. Не использовать перекись водорода, хлорамин.

8.2. Подготовка планшета.

Вскрыть пакет с планшетом выше замка. Оставить на рамке необходимое для проведения анализа количество стрипов.

8.3. Приготовление промывочного раствора.

Перемешать содержимое флакона с ФСБ-Т×25. При выпадении в концентрате осадка солей необходимо прогреть его при температуре (30–40) °С до полного растворения осадка.

В соответствии с числом используемых стрипов внести в мерный цилиндр необходимое количество ФСБ-Т×25 *(см. таблицу расхода компонентов)* и довести дистиллированной водой до соответствующего объёма или содержимое 1 флакона 28,0 мл – до 700 мл, 100,0 мл – до 2500 мл. Тщательно перемешать.

Хранение: промывочный раствор хранить при температуре (2–8) °С не более 30 суток или при температуре (18–26) °С не более 7 суток.

8.4. Конъюгат.

Перемешать содержимое флакона, не допуская вспенивания. В соответствии с числом используемых стрипов отобрать в ванночку для реагента необходимое количество *(см. таблицу расхода компонентов)* конъюгата.

8.5. Раствор ТМБ.

Перемешать содержимое флакона, не допуская вспенивания. В соответствии с числом используемых стрипов отобрать в ванночку для реагента необходимое количество *(см. таблицу расхода компонентов)* раствора ТМБ.

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

Таблица 7

Расход компонентов

Количество используемых стрипов	Промывочный раствор		Конъюгат, мл	Раствор ТМБ, мл
	ФСБ-Т×25, мл	Дистил. вода, мл		
1	1,0	до 25	0,5	1,0
2	2,0	до 50	1,0	2,0
3	3,0	до 75	1,5	3,0
4	4,0	до 100	2,0	4,0
5	5,0	до 125	2,5	5,0
6	6,0	до 150	3,0	6,0
7	7,0	до 175	3,5	7,0
8	8,0	до 200	4,0	8,0
9	9,0	до 225	4,5	9,0
10	10,0	до 250	5,0	10,0
11	11,0	до 275	5,5	11,0
12	12,0	до 300	6,0	12,0

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

9.1. Ручная постановка.

9.1.1. 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 одном стрипе для К$^-$ использовать 2 лунки.

Контроли должны быть использованы в каждой постановке, на каждом планшете при использовании в постановке нескольких планшет.

Время внесения образцов не должно превышать 20 минут.

9.1.2. Внести во все лунки по **50 мкл конъюгата**.

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*).

9.1.3. Стрипы заклеить пленкой и инкубировать в термостатируемом шейкере, используя по выбору какой-либо из следующих режимов:

– процедура 1 – (37±1) °С, с интенсивностью перемешивания 700 об/мин, **40 минут**;

– процедура 2 – (37±1) °С, с интенсивностью перемешивания 700 об/мин, **2 часа 40 минут**.

Примечание: *для исследования препаратов крови использовать процедуру 1.*

9.1.4. По окончании инкубации снять плёнку и поместить её в сосуд с дезинфицирующим раствором. С помощью промывочного устройства промыть лунки стрипов 5 раз промывочным раствором *(см. п. 8.3)*, чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок стрипов. В каждую лунку вносить 400 мкл жидкости в процессе каждого цикла промывки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 секунд. По окончании промывки необходимо использовать перекрёстную аспирацию раствора из лунок *(режим «crosswise» или «cross aspiration»)* или тщательно удалить влагу из лунок, постукивая перевёрнутым планшетом по фильтровальной бумаге.

9.1.5. Внести во все лунки по **100 мкл раствора ТМБ**.

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

Для внесения раствора ТМБ использовать ванночку для реагента и одноразовые наконечники, входящие в состав набора. Остатки раствора ТМБ из ванночки утилизировать (*не сливать во флакон с исходным раствором ТМБ*).

9.1.6. Инкубировать в защищённом от прямого солнечного света месте: при температуре (18–26) °С **25 минут** или при температуре (37±1) °С **20 минут**.

9.1.7. Внести во все лунки по **100 мкл стоп-реагента**.

9.1.8. Измерить величину **оптической плотности (ОП)** растворов в лунках на спектрофотометре в двухволновом режиме: при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–655 нм. Допускается измерение при одной длине волны – 450 нм. Время между остановкой реакции и измерением ОП не должно превышать 10 минут.

9.2. Постановка в автоматическом ИФА-анализаторе открытого типа.

9.2.1. Подготовить ИФА-анализатор к работе в соответствии с инструкцией по эксплуатации.

9.2.2. Ввести в программу ИФА-анализатора протокол выполнения анализа *(п.9.1.1–9.1.8, если он не был введён и сохранен ранее).*

Примечание: *возможен спектрофотометрический контроль внесения в лунки планшета исследуемых образцов – при длине волны 450 нм значение ОП в каждой из лунок, содержащих исследуемые образцы, должно быть больше 0,100.*

9.2.3. Приготовить промывочный раствор *(п. 8.3)*. При подготовке компонентов необходимо учитывать «мёртвый» объём флаконов или ёмкостей, используемых для загрузки компонентов набора в ИФА-анализатор.

9.2.4. В соответствии с инструкцией по эксплуатации ИФА-анализатора поместить в него промывочный раствор, планшет, контрольные и исследуемые образцы, ёмкости с компонентами набора. Инкубация планшет в автоматических ИФА-анализаторах проводится без заклеивания плёнкой.

9.2.5. Запустить протокол анализа в соответствии с инструкцией по эксплуатации автоматического ИФА-анализатора.

10. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ

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

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

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

$$\mathbf{ОП_{крит.} = ОП_{ср.}\ К^- + 0{,}04.}$$

10.3. Результаты исследований учитывать только при соблюдении следующих условий:

– значение $ОП_{ср.}\ К^-$ не более 0,10 *($ОП_{ср.}\ К^- \le 0{,}10$)* при использовании двухволнового режима измерения или 0,15 *($ОП_{ср.}\ К^- \le 0{,}15$)* при измерении на одной длине волны;

– значение ОП $К^+$ не менее 1,5 (ОП $К^+ \ge 1{,}5$);

– значение ОП $К^+_{слаб.}$ превышает $ОП_{крит.}$ *($ОП\ К^+_{слаб.} > ОП_{крит.}$)*.

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

10.4. Для исследуемого образца рассчитать **коэффициент позитивности (КП)** по формуле:

$$\mathbf{КП = ОП_{обр.} / ОП_{крит.},}$$

где: $ОП_{обр.}$ – оптическая плотность в лунке с исследуемым образцом.

10.5. Исследуемый образец расценивают как отрицательный, если соответствующее ему значение КП меньше 1 (КП < 1).

Исследуемый образец расценивают как первично положительный, если соответствующее ему значение КП превышает или равно 1 (КП ≥ 1).

10.6. При использовании набора в диагностических целях первично положительный результат образца следует подтвердить тестом нейтрализации с помощью набора реагентов, зарегистрированного в установленном порядке.

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

11. ОГРАНИЧЕНИЯ ТЕСТА

11.1. Для достижения максимальных характеристик теста необходимо строгое соблюдение инструкции.

11.2. Применение теста строго ограничено обнаружением HBsAg в сыворотке или плазме, а также в некоторых препаратах крови человека *(иммуноглобулины, альбумин, криопреципитат)*. Характеристики теста в отношении проб другой природы не установлены.

11.3. HBsAg может быть обнаружен в сыворотке *(плазме)* крови человека методом иммуноферментного анализа у подавляющего большинства пациентов с инфекцией ВГВ, однако результаты выявления HBsAg могут быть отрицательными в начале острого гепатита В *(до 10 недель после заражения),* в период сероконверсии *(когда HBsAg исчезает, а антитела анти-HBs еще не выявляются)*, а также при оккультной *(скрытой)* инфекции ВГВ *(отсутствие HBsAg в сыворотке/плазме крови при наличии вирусной ДНК в гепатоцитах)*.

11.4. Специфичность при получении первично положительного результата должна быть проверена дополнительным тестированием в подтверждающем тесте с помощью реакции нейтрализации.

11.5. Отрицательный результат означает, что тестируемый образец не содержит HBsAg или содержит HBsAg в концентрации ниже определяемого набором уровня.

12. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

12.1. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре (2–8) °С в течение всего срока годности в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

12.2. Транспортировать изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, при температуре (2–8) °С. Допускается транспортирование при температуре до 26 °С не более 10 суток.

12.3. Срок годности набора реагентов – 15 месяцев со дня выпуска. Не допускается применение набора по истечении срока его годности.

12.4. При дробном использовании набора вскрытые компоненты набора хранить плотно закрытыми в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности набора.

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

12.6. Набор предназначен для однократного применения.

12.7. Изделие не требует технического обслуживания и не подлежит ремонту.

12.8. Изделие нестерильно и не требует стерилизации.

13. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

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

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

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

13.3. 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.

14. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Fields Virology: DNA Viruses. Seventh edition. 2021. Chapter 18. Hepadnaviridae. P. 641-682.
2. Yan H, Zhong G, Xu G, He W, Jing Z, Gao Z, Huang Y, Qi Y, Peng B, Wang H, Fu L, Song M, Chen P, Gao W, Ren B, Sun Y, Cai T, Feng X, Sui J, Li W. Sodium taurocholate cotransporting polypeptide is a functional receptor for human hepatitis B and D virus. Elife. 2012;1:e00049 Erratum in: Elife. 2014;3:e05570. PMID: 23150796; PMCID: PMC3485615. https://doi.org/10.7554/eLife.00049.

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

3. Krugman S, Giles JP. Viral hepatitis, type B (MS-2-Strain) – further observations on natural history and prevention. N Engl J Med 1973; 288:755-60. https://doi.org/10.1056/NEJM197304122881503.
4. Krugman S, Overby LR, Mushahwar IK et al. Viral hepatitis, type B – studies on natural history and prevention re-examined. N Engl J Med 1979;300:101-6. https://doi.org/10.1056/NEJM197901183000301.
5. Руководство ВОЗ по тестированию на гепатиты B и C [Guidelines on hepatitis B and C testing]. Женева: Всемирная организация здравоохранения. 2017. Available at: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/260130/9789244549988-rus.pdf?sequence=1&isAllowed=y *(accessed 06 December 2021)*.
6. Скрининг донорской крови на гемотрансмиссивные инфекции. Рекомендации. Всемирная Организация Здравоохранения. 2010. Available at: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44202/9789244547885_rus.pdfsequence=8 *(accessed 06 December 2021)*.
7. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации №1148н от 26.10.2020 «Об утверждении требований к организации системы безопасности деятельности субъектов обращения донорской крови и *(или*) её компонентов при заготовке, хранении, транспортировке и клиническом использовании донорской крови и *(или)* её компонентов».
8. Глобальные Практические Рекомендации Всемирной Гастроэнтерологической Организации. Гепатит В. Версия 2.0, Февраль 2015. Available at: https://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/hepatitis-b-russian-2015.pdf *(accessed 06 December 2021)*.
9. Ивашкин В.Т., Ющук Н.Д., Маевская М.В., Знойко О.О., Дудина К.Р., Кареткина Г.Н. и др. Клинические рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации и Российского общества по изучению печени по диагностике и лечению взрослых больных гепатитом В. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2014; 3:58–88.
10. CDC. A comprehensive immunization strategy to eliminate transmission of Hepatitis B virus infection in the United States: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) Part 1: Immunization of Infants, children, and adolescents. MMWR 2005;54(RR-16): 1–23. Available at: https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5416a1.htm *(accessed 06 December 2021)*.
11. GLOBAL HEALTH SECTOR STRATEGY ON VIRAL HEPATITIS 2016–2021. World Health Organization. JUNE 2016. Available at: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/246177/WHO-HIV-2016.06-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y *(accessed 06 December 2021).*
12. Kloster B, Kramer R, Eastlund T, Grossman B, Zarvan. B. Hepatitis B surface antigenemia in blood donors following vaccination. Transfusion. 1995; 35:475-7. https://doi.org/10.1046/j.1537-2995.1995.35695288765.x.
13. Lunn ER, Hoggarth BJ, Cook WJ. Prolonged hepatitis B surface antigenemia after vaccination. Pediat-rics. 2000;105:E81. https://doi.org/10.1542/peds.105.6.e81.

*По вопросам, касающимся качества набора **«Вектоген HBsAg плюс»**, обращаться в **АО «Вектор-Бест»** по адресу:*

630117, г. Новосибирск-117, а/я 492,
тел.: (383) 252-51-62, 227-60-30;
тел./факс: (383) 252-51-81, 252-51-77;
E-mail: plkobtk@vector-best.ru

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

КРАТКАЯ СХЕМА АНАЛИЗА
Набор реагентов «Вектоген HBsAg плюс»
Использовать только после внимательного ознакомления с инструкцией!

Внести:	по 1**00 мкл К$^{-}$, К$^{+}$, К$^{+}_{слаб.}$** и **исследуемых образцов**
Внести:	по **50 мкл конъюгата**
Инкубировать:	40 минут, (37±1) °С, 700 об/мин или 2 часа 40 минут, (37±1) °С, 700 об/мин
Промыть:	промывочным раствором, **400 мкл**, 5 раз
Внести:	по **100 мкл раствора ТМБ**
Инкубировать:	25 минут (18–26) °С или 20 минут (37±1) °С в темноте
Внести:	по **100 мкл стоп-реагента**
Измерить:	ОП при 450 нм / референсная длина волны 620–655 нм

ГРАФИЧЕСКИЕ СИМВОЛЫ

Символ	Описание	Символ	Описание
REF	Номер по каталогу		Осторожно!
Σ	Содержимого достаточно для проведения n тестов	IVD	Медицинское изделие для диагностики *in vitro*
LOT	Код партии		Предел температуры
	Изготовитель		Дата изготовления
	Использовать до...		Обратитесь к инструкции по применению
YYYY-MM-DD YYYY-MM	Дата в формате: Год-Месяц-День Год-Месяц		Не допускать воздействия солнечного света

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 252-51-70.