

«УТВЕРЖДАЮ»
Главный государственный
санитарный врач
Российской Федерации

Г.Г. Онищенко
«21» 09 2009 г.

№ 01-11/148-09

ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов
«ДС-СО-НВsAg»
Стандартный образец поверхностного антигена вируса гепатита В

1. Общие указания

1.1. Инструкция устанавливает порядок и условия применения стандартного образца (СО) поверхностного антигена вируса гепатита В (НВsAg), предназначенного для оценки чувствительности иммуноферментных тест-систем, выявляющих НВsAg, для контроля тест-систем на стадиях производства и выпуска, для научно-производственных целей, внешнего и внутреннего контроля качества работы диагностических лабораторий, а так же для количественного определения НВsAg в исследуемой сыворотке (плазме) крови человека методом ИФА.

1.2. В состав набора входят следующие реагенты:

СО-НВsAg - лиофильно-высушенный препарат поверхностного НВsAg в 1% альбумине. СО помещен в стеклянный флакон вместимостью 3 см³.

Реагент 1 - пул негативных сывороток (плазм) крови человека, инактивированных прогреванием; лиофильно-высушенный, используемый для разведения СО – НВsAg.

1.3. Наличие и правильность маркировки и целостность флаконов СО-НВsAg и Реагента 1 следует проводить путем внешнего осмотра. Не допускаются к использованию поврежденные флаконы.

1.4. Флаконы со СО-НВsAg вскрывать непосредственно перед использованием.

2. Подготовка к применению и условия применения

2.1. Все измерительные приборы и устройства используемые при работе с данным СО, должны быть аттестованы и поверены.

2.2. Подготовка стандартного образца.

2.2.1. Приготовление рабочего раствора Реагента 1: во флакон с сухим Реагентом 1 внести 1,0 мл дистиллированной воды и тщательно перемешать до полного растворения содержимого флакона. Регидратированный Реагент 1 представляет собой прозрачный бесцветный или светло-желтого цвета раствор, без осадка, допускается опалесценция. Хранить при температуре (6 ± 2) °С не более 1 недели.

2.2.2. Приготовление раствора СО-НВsAg концентрации $20\pm 0,5$ МЕ/мл: во флакон с СО-НВsAg внести 0,8 мл рабочего раствора Реагента 1 и тщательно перемешать до полного растворения содержимого флакона. Регидратированный СО-НВsAg представляет собой прозрачный бесцветный или желтоватого цвета раствор, без осадка, допускается опалесценция. Возможно хранение раствора СО-НВsAg, предварительно розлитого по аликвотам, при температуре не выше минус 20 °С в течение 1 мес или при минус 70 °С до конца срока годности набора. Допускается однократное оттаивание-замораживание препарата.

2.2.3. Приготовление разведений СО-НВsAg: для определения чувствительности диагностических наборов, предназначенных для выявления поверхностного антигена вируса гепатита В или количественного содержания НВsAg в испытуемых образцах, готовят ряд разведений СО-НВsAg на регидратированном Реагенте 1 с концентрацией антигена например, 0,01; 0,05; 0,1; 0,125; 0,25; 0,5; 1,0; МЕ/мл. Таких разведений готовят не менее 3-х и каждое разведение не менее чем в 3-х повторностях.

2.2.4. Приготовление разведений исследуемого образца: для определения количественного содержания НВsAg величина оптической плотности образца (ОП) при используемых длинах волн должна находиться строго в диапазоне от 0,1 до 2,5 оптических единиц. Если ОП исследуемого образца выходит за рамки указанного диапазона подбирают эмпирическим путем разведение образца, например 1:10; 1:100; 1:1000; 1:10000.

Готовят последовательные разведения так, чтобы оптические плотности приготовленных разведений (не менее 3-х повторностей) лежали в линейной области данного прибора.

Каждое разведение стандартного и исследуемого образца следует готовить в отдельном флаконе или пробирке. При этом каждую повторность готовят отдельно из

исходного стандартного образца, чтобы оценить разброс результатов анализа при разведении стандартного/исследуемого образца.

3. Постановка иммунологических тестов

3.1. При определении чувствительности иммуноферментной тест-системы и количества HBsAg в исследуемом образце, ИФА проводят в соответствии с требованиями, изложенными в инструкции по применению используемой тест-системы.

3.2. Для определения чувствительности иммуноферментной тест-системы разведения СО-HBsAg (п.2.3.) вносят не менее чем в 3 лунки иммуносорбента.

3.3. Для оценки количественного содержания HBsAg в пробе, в лунки иммуносорбента исследуемый образец необходимо вносить не менее чем в 3-х повторностях, на этом же планшете параллельно аналогично исследуется каждое разведение СО-HBsAg (п.2.3.)

4. Учет и обработка результатов

4.1. При оценке чувствительности тест-системы этот показатель соответствует среднему наименьшему количеству HBsAg, которое определяется данной тест-системой.

4.2. Для ориентировочной оценки количественного содержания HBsAg строят график, на оси абсцисс которого откладывают логарифмы концентраций СО-HBsAg, на оси ординат – значения логарифмов ОПср. соответствующее этим концентрациям HBsAg, и получают кривую, по которой вычисляют концентрацию HBsAg в исследуемом образце, исходя из величины логарифма его оптической плотности. Если образец предварительно разводился, то в этом случае значение концентрации, полученной на оси абсцисс, умножают на кратность разведения. При этом надо иметь в виду, что погрешность данной оценки может достигать значительных величин (до 20% и более).

Для точного количественного определения концентрации HBsAg в исследуемых образцах необходимо использовать метод серийных разведений этих образцов параллельно с серийными разведениями СО. При этом для расчета концентрации HBsAg и ее 95% доверительного интервала следует использовать метод дисперсионного анализа [В.Г.Петухов, «Биопрепарат», №1 (13),с.19-23, 2004]. Ввиду

сложности расчетов и во избежание ошибок при вычислениях рекомендуется использовать компьютерную программу.

5. Форма выпуска

В состав набора входят:

1. СО HBsAg 20 МЕ/мл, лиофильно высушенный – 1 фл.
2. Реагент 1 - сыворотка крови человека негативная, лиофильно высушенная - 9 фл.

6. Меры предосторожности

При проведении работ с СО-HBsAg и иммуноферментными тест-системами в лаборатории необходимо соблюдать меры безопасности: работать в резиновых перчатках, не пипетировать ртом.

Твердые отходы (использованные планшеты, наконечники к дозаторам и флаконы из-под реагентов) обеззараживать погружением в 6% раствор перекиси водорода с 0,5% СМС или в 3% раствор хлорамина Б. Длительность дезактивации - не менее 1 ч. Твердые отходы можно обезвреживать автоклавированием в течение 1 ч при температуре от 124 до 128 °С под давлением 1,5 кгс/см². Жидкие отходы (промывные воды) обезвреживать в емкости для инфицированного материала добавлением сухого хлорамина Б из расчета 30,0 г/л (длительность дезактивации не менее 1 ч), или кипячением в течение 30 мин., или автоклавированием в течение 1ч при температуре от 124 до 128 °С под давлением 1,5 кгс/см². Инструменты и оборудование до и после работы протирать 2 раза 70 % этиловым спиртом.

7. Условия хранения и транспортирования

1. Хранение - в соответствии с СП 3/3.2.1248-03 в защищенном от света месте при температуре от 2 до 8 °С и влажности воздуха не выше 60%.

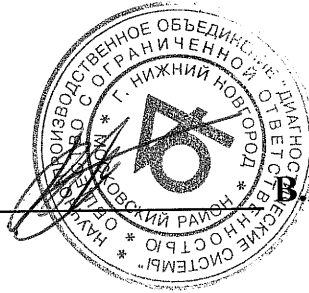
2. Транспортирование - в соответствии с СП 3.3.2.1248-03 при температуре от 2 до 8 °С (допустимо транспортирование при температуре от 9 до 20 °С не более 5 сут). Замораживание не допускается.

3. Срок годности – 5 лет. После истечения срока годности препарат использованию не подлежит.

Условие отпуска - для диагностики «in vitro». Для лечебно - профилактических и санитарно – профилактических учреждений

Рекламации на специфические и физические свойства препарата направлять в ФГУН ГИСК им. Л. А. Тарасевича Роспотребнадзора по адресу 119002, Россия, г. Москва, пер. Сивцев Вражек, д. 41, тел.: (499) 241-39-22, факс: (499) 241-92-38 и в адрес предприятия-изготовителя - ООО «Научно-производственное объединение «Диагностические системы» 603093, Россия, г. Нижний Новгород, ул. Яблонева, 22, тел./факс: (831) 434-86-83 или тел.: (831) 434-97-12, 8-800-555-0300. E-mail: info@npods.nnov.ru; www.npods.ru.

**Директор ООО
«Научно-производственное объединение
«Диагностические системы»
по производству**



В.К. Пименов

**Руководитель Государственных
Испытаний, зав. лаборатории вирусных гепатитов
и контаминантов, д.м.н.**

Н.В. Шалунова

«7» июля 2009г.