

«УТВЕРЖДАЮ»

Главный государственный
санитарный врач
Российской Федерации

Г.Т. Онищенко
«*9*» _____ 2008 г.
№ *01-11/17-06*



**ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов
«ДС-ЭРИТРО-НВsAg»**

**Иммунодиагностикум эритроцитарный для выявления поверхностного
антигена вируса гепатита В, лиофилизированный**

Состав набора:

СЭ (сенсibilизированные эритроциты), лиофилизированные –
формалинизированные куриные эритроциты, сенсibilизированные козьими
антителами против НВsAg;

К+ (контрольный положительный образец), лиофилизированный - цельная
сыворотка крови человека, содержащая НВsAg, не содержащая антиген ВИЧ-1
(p24), антитела к ВИЧ-1,2 и вирусу гепатита С, инактивированная;

ИГ-1 - иммуноглобулины 1 (контрольный реагент), лиофилизированные -
иммуноглобулины козы, не содержащие антитела к НВsAg;

ИГ-2 - иммуноглобулины 2 (нейтрализующий реагент), лиофилизированные -
иммуноглобулины козы, содержащие антитела к НВsAg.

Набор выпускается в двух комплектах:

комплект 1 рассчитан на проведение 200 определений, включая контрольные;

комплект 2 - на проведение 800 определений, включая контрольные.

Описание реагентов:

СЭ - сухая пористая гигроскопичная масса коричневого цвета;

К+ - сухая пористая гигроскопичная масса белого или светло-жёлтого цвета;

Взамен инструкции № 01-11/17-06 от 01.02.2006 г.

ИГ-1 - сухая пористая гигроскопичная масса голубого цвета;

ИГ-2 - сухая пористая гигроскопичная масса розового цвета.

Назначение

Выявление поверхностного антигена вируса гепатита В в сыворотке крови человека при оценке динамики заболевания вирусным гепатитом В и контроле за проводимой терапией гепатита В.

НЕ ИСПОЛЬЗУЕТСЯ ДЛЯ СКРИНИНГА КРОВИ ДОНОРОВ.

Чувствительность диагностикума – 10 МЕ/мл.

Меры безопасности

Для изготовления контрольного образца набора использована термоинактивированная сыворотка. При работе с набором в лаборатории с исследуемыми образцами сывороток крови человека обращаться, как с потенциально инфекционным материалом: работать в резиновых перчатках, в спецодежде, не пипетировать ртом. Твёрдые отходы (использованные планшеты, наконечники к пипеткам, флаконы (пробирки) из-под реагентов, лабораторную посуду и т.д.) обеззараживать погружением в 6 % раствор перекиси водорода с 0,5 % синтетического моющего средства (СМС) или в 3 % раствор хлорамина Б, или иное разрешенное к применению дезинфицирующее средство. Длительность дезактивации - не менее 1 ч. Твёрдые отходы можно обезвреживать автоклавированием в течение часа при температуре от 124 до 128 °С под давлением 1,5 кГс/см² (0,15 МПа). Жидкие отходы (промывные воды) обезвреживать добавлением сухого хлорамина Б из расчёта 30 г/л (длительность дезактивации – не менее 2 ч) или кипячением в течение 30 мин, или автоклавированием в течение 1 ч под давлением 1,5 кГс/см² (0,15 МПа) и температуре от 124 до 128 °С. Инструменты и оборудование до и после работы необходимо протирать 2 раза 70 % этиловым спиртом.

Способ применения»

Нельзя использовать реагенты из наборов разных серий или смешивать их в процессе приготовления растворов, а также использовать набор по истечении

срока годности!

Перед использованием все реагенты набора выдержать 30 мин при температуре от 18 до 24 °С.

Все растворы необходимо отбирать новыми одноразовыми наконечниками, не допускать касания жидкости в наконечнике краем дозатора!

Для отбора проб использовать калиброванные дозаторы пипеточные с погрешностью измерения не более 5 %.

1. Перечень оборудования, материалов и реактивов, необходимых для постановки РОПГА и РНА.

1. Пипетки полуавтоматические одноканальные с изменяемым объемом отбора жидкостей: на 5–50 мкл; на 40–200 мкл; на 200–1000 мкл; на 1000–5000 мкл с наконечниками;

2. Пипетка полуавтоматическая восьмиканальная, позволяющая отбирать объемы жидкости до 300 мкл с наконечниками;

3. Вода дистиллированная;

4. Бумага фильтровальная лабораторная;

5. Перчатки резиновые или пластиковые.

2. Приготовление рабочих растворов

Все растворы необходимо отбирать одноразовыми наконечниками.

Изотонический раствор натрия хлорида (в состав набора не входит). Навеску 0,9 г натрия хлорида внести в мерную колбу с 99,10 мл воды дистиллированной и тщательно перемешать до полного растворения соли. Использовать для постановки отрицательного контроля и для регидратации компонентов иммунодиагностикума. Перед использованием раствор выдержать в течение 30 мин при температуре от 20 до 24 °С.

СЭ – сенсibilизированные эритроциты. Содержимое флакона (пробирки) с лиофилизированными СЭ развести добавлением 1,25 мл (комплект 1) или 3,0 мл (комплект 2) изотонического раствора натрия хлорида за 1 ч до начала постановки РОПГА. Раствор перед употреблением необходимо ресуспендировать до

получения гомогенной взвеси.

Регидратированные СЭ представляют собой гомогенную взвесь красновато-коричневого цвета, при отстаивании в течение 2-3 ч расслаивается на надосадочную жидкость, прозрачную с желтоватым оттенком, и гомогенный осадок красновато-коричневого цвета.

Оставшийся неиспользованным растворённый компонент допускается хранить в течение 5 сут при температуре от 2 до 8 °С.

К+ - контрольный положительный образец. Содержимое флакона (пробирки) с лиофилизированным К+ развести добавлением 1,25 мл (комплект 1) или 3,0 мл (комплект 2) изотонического раствора натрия хлорида.

Регидратированный К+ - прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость бесцветная или светло-жёлтого цвета.

Оставшийся неиспользованным растворённый компонент допускается хранить в течение 5 сут при температуре от 2 до 8 °С.

ИГ-1 – иммуноглобулины козы, не содержащие антитела к HBsAg. Содержимое флакона (пробирки) с лиофилизированными ИГ-1 развести добавлением 1,25 мл (комплект 1) или 3,0 мл (комплект 2) изотонического раствора натрия хлорида.

Регидратированные ИГ-1 – прозрачная жидкость голубого цвета.

Оставшийся неиспользованным растворённый компонент допускается хранить в течение 5 сут при температуре от 2 до 8 °С.

ИГ-2 – иммуноглобулины козы, содержащие антитела к HBsAg. Содержимое флакона (пробирки) с лиофилизированными ИГ-2 развести добавлением 1,25 мл (комплект 1) или 3,0 мл (комплект 2) изотонического раствора натрия хлорида.

Регидратированные ИГ-2 – прозрачная жидкость розового цвета.

Оставшийся неиспользованным растворённый компонент допускается хранить в течение 5 сут при температуре от 2 до 8 °С.

3. Подготовка исследуемых образцов

Для исключения ложных результатов исследуемые образцы необходимо отбирать и хранить в условиях, предотвращающих бактериальный пророст. Отобранные образцы следует хранить не более 48 ч при температуре от 2 до 8 °С. Более длительное хранение допустимо при температуре не выше минус 15 °С с замораживанием-оттаиванием не более 1 раза. Исследование образцов с выраженным бактериальным проростом, гемолизом и гиперлипидемией не допускается, т. к. может дать неправильный результат. Образцы сыворотки крови, содержащие агрегаты или осадок, необходимо осветлять центрифугированием.

При проведении РОПГА исследуемые сыворотки предварительно развести в 8 раз изотоническим раствором натрия хлорида (25 мкл сыворотки + 200 мкл изотонического раствора натрия хлорида).

При проведении РНА использовать цельные образцы.

4. Проведение РОПГА

В 2 лунки планшета с V или U образным профилем дна дозатором пипеточным внести по 25,0 мкл К+, в 1 лунку – 25,0 мкл изотонического раствора натрия хлорида (в качестве отрицательного контроля). В остальные лунки внести по 25,0 мкл исследуемых сывороток, предварительно разведенных в 8 раз. Далее, в лунки планшета с образцами дозатором пипеточным внести по 25,0 мкл взвеси СЭ. Содержимое лунок тщательно перемешать, осторожным постукиванием по краю планшета не менее 30 с. Планшет выдержать в течение 30 мин при температуре от 20 до 24 °С.

5. Учёт результатов

Учет результатов провести визуально в условиях интенсивного освещения, располагая источник освещения под планшетом. При этом планшет должен находиться на горизонтальной поверхности с белым фоном.

Визуальная оценка выявляет две степени агглютинации (полная или

частичная) или отсутствие агглютинации:

«+» - полная агглютинация – равномерно распределённый по дну и стенкам лунки осадок эритроцитов в виде «зонтика» с ровными краями.

«±» - частичная агглютинация – рыхлый с фестончатыми краями осадок эритроцитов в виде «зонтика», занимающего 1/3 и более площади лунки, в центре возможно образование слабо выраженной точки.

«-» - отсутствие агглютинации – на дне лунки образуется плотный осадок эритроцитов в виде точки или маленького колечка (последнее, чаще всего наблюдается при использовании планшетов с U-образным профилем дна лунок), или рыхлый с фестончатыми краями осадок эритроцитов, занимающий менее 1/3 площади лунки, в центре возможно образование выраженной точки.

Реакцию учитывать, если в лунке с К⁺ наблюдается «+» - полная агглютинация, а в лунке с отрицательным контролем - «-» - отсутствие агглютинации.

Положительными считать образцы, в лунках с которыми наблюдается «+» - полная агглютинация или «±» – частичная агглютинация, отрицательными считать образцы, в лунках с которыми наблюдается «-» – отсутствие агглютинации.

Сыворотки, положительные в РОПГА, подлежат подтверждению в реакции нейтрализации антигена - РНА.

6. Проведение РНА

В лунках планшета вариодозатором пипеточным приготовить последовательно два ряда двукратных разведений исследуемой сыворотки от 1 : 2 до 1 : 2048 в соответствии с приведенной схемой постановки (см. таблицу 1).

Один ряд разведений исследуемой сыворотки приготовить на ИГ-1, второй ряд этой же сыворотки – на ИГ-2 (схема постановки для ИГ-2 такая же, как для ИГ-1).

Таблица 1

Схема постановки реакции нейтрализации

№ лунки	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Разведение сыворотки	1 : 2	1 : 4	1 : 8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024	1:2048	Отрицательный контроль
ИГ-1 (мкл)	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
Сыворотка (мкл)	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	25 мкл изотонического раствора
Перенос разведённой сыворотки (мкл)	25 →	25 →	25 →	25 →	25 →	25 →	25 →	25 →	25 →	25 →	25 →	сброс

После приготовления разведений, планшет выдержать не менее 30 мин при температуре от 20 до 24 °С для нейтрализации HBsAg антителами, содержащимися в ИГ-2, затем добавить по 25 мкл взвеси СЭ во все лунки с разведениями сыворотки и отрицательным контролем.

Содержимое лунок тщательно перемешать осторожным постукиванием по краю планшета, не менее 30 с. Планшет выдержать 20-30 мин при температуре от 20 до 24 °С.

Результаты реакции считать положительными, если ИГ-2 вызывает по крайней мере 4-х кратное снижение титра исследуемой сыворотки, по сравнению с ИГ-1. В случае, когда во всех лунках с разведениями сыворотки наблюдается агглютинация, сыворотку необходимо предварительно развести в 100 раз изотоническим раствором натрия хлорида (0,025 мл сыворотки + 2,5 мл изотонического раствора натрия хлорида) и повторить титрование на планшете на ИГ-1 и ИГ-2.

Форма выпуска

Иммунодиагностикум выпускают в виде набора (комплекты 1 и 2):

	Комплект 1	Комплект 2
СЭ, лиофилизированные – (объем растворителя указан на этикетке) - во флаконе или в пробирке.	7 шт.	12 шт.
К+, инактивированный, лиофилизированный - (объем растворителя указан на этикетке) - во флаконе или в пробирке.	1 шт.	2 шт.
ИГ-1, лиофилизированные - (объем растворителя указан на этикетке) - во флаконе или в пробирке.	2 шт.	3 шт.
ИГ-2, лиофилизированные - (объем растворителя указан на этикетке) - во флаконе или в пробирке.	2 шт.	3 шт.

Реагенты помещают в коробку картонную, куда вкладывают инструкцию по применению.

Срок годности. Условия транспортирования и хранения.

Срок годности набора - 12 мес.

По истечении срока годности набор использованию не подлежит.

Транспортирование наборов должно производиться при температуре от 2 до 8 °С. Допустимо транспортирование при температуре от 9 до 20 °С не более 14 сут. Замораживание не допускается.

Набор должен храниться в сухом, защищенном от света месте при температуре от 2 до 8 °С.

Условие отпуска - Для лечебно-профилактических и санитарно-профилактических учреждений.

Рекламации на специфические и физические свойства набора направлять в ФГУН ГИСК им. Л. А. Тарасевича Роспотребнадзора по адресу: Россия, 119002, г. Москва, пер. Сивцев Вражек, д. 41, тел.: (495) 241-39-22, факс: (495) 241-92-38 и в

адрес предприятия-изготовителя ООО «Научно - производственное объединение «Диагностические системы»: Россия, 603093, г. Нижний Новгород, ул. Яблоневая, 22, тел./факс: (831) 434-86-83 или тел.: (831) 434-97-12.

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



В. К. Пименов

**Зав. лаборатории посттрансузионных
гепатитов и контаминирующих агентов
ФГУН ГИСК им. Л.А. Тарасевича
Роспотребнадзора, д.м.н.**

Н. В. Шалунова