ТУ 9398-[illegible]

УТВЕРЖДАЮ

Главный государственный
санитарный врач
Российской Федерации

_____ Онищенко Г.Г.

"15" 02 2008 г.

№ 01-11/125-08

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Диагностикума эритроцитарного дифтерийного антигенного жидкого

Диагностикум эритроцитарный дифтерийный антигенный жидкий (далее диагностикум) представляет собой 3 % взвесь формалинизированных танизированных эритроцитов барана, сенсибилизированных очищенным концентрированным дифтерийным анатоксином. Консервант – формальдегид.

Диагностикум имеет вид однородной взвеси коричневого цвета. При хранении образуются два слоя: прозрачная надосадочная жидкость и осадок коричневого цвета, разбивающийся при встряхивании.

Выпускается в комплекте с эритроцитами барана формалинизированными 50 %, эритроцитами барана контрольными, сывороткой противодифтерийной контрольной, фосфатно-солевым буферным раствором, фосфатно-солевым буферным раствором с твином.

Назначение

Диагностикум используется для определения содержания дифтерийного антитоксина в сыворотках крови человека.

Способ применения

Определения содержания дифтерийного антитоксина в сыворотке крови человека осуществляют в реакции пассивной гемагглютинации (РПГА) микрометодом или макрометодом.

Для проведения реакции необходимы следующие ингредиенты и оснащение:

– испытуемые сыворотки крови человека;

– 0,85 % свежеприготовленный раствор натрия хлорида (хч по ФС 42-2572-95) – для разведения испытуемых сывороток;

– фосфатно-солевой буферный раствор концентрированный (ФБР) – для разведения диагностикума и контрольных эритроцитов;

Взамен Инструкции, утвержденной 14.04.03 г.

Информация получена с официального сайта Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения www.roszdravnadzor.ru

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

Согласовано
Директор ФГУН
ГИСК им. Л. А. Тарасевича
Роспотребнадзора
Руководитель ИСК МИБП

_____ Н. В. Медуницын

«9» 07 2008 г.

Информация получена с официального сайта
федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения
www.roszdravnadzor.ru

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

– фосфатно-солевой буферный раствор концентрированный (ФБР) – для разведения диагностикума и контрольных эритроцитов;

– фосфатно-солевой буферный раствор концентрированный с твином (ФБР с твином) – для разведения сыворотки противдифтерийной контрольной и для проведения РПГА;

– диагностикум эритроцитарный дифтерийный (ДЭД) 3 %;

– эритроциты барана формалинизированные 50 % – для адсорбции гетерогемагглютининов в испытуемых сыворотках;

– эритроциты барана контрольные – для определения полноты адсорбции гетерогемагглютининов к эритроцитам барана в испытуемых сыворотках;

– сыворотка противодифтерийная контрольная с активностью 4 МЕ/мл;

– пластины полистироловые для микрометода и/или макрометода;

– пипеточные дозаторы.

1. Подготовка оснащения, растворов и диагностикума к проведению РПГА

1. Полистироловые пластины перед употреблением тщательно промывают теплой водопроводной водой с помощью ватно-марлевого тампона. Затем их ополаскивают несколько раз теплой водой и погружают на 24-48 часов в дистиллированную воду. После этого пластины высушивают при комнатной температуре или в термостате при температуре от 35 до 40 °С. Перед проведением реакции протирают каждую лунку ватно-марлевым тампоном, смоченным в разведенном ФБР с твином. Наконечники к пипеточным дозаторам тщательно промывают теплой водопроводной водой, затем дистиллированной водой и высушивают.

2. Содержимое флакона с ФБР разводят до объема 62,5 мл дистиллированной водой. Используют в день проведения реакции, pH готового раствора должен быть от 7,15 до 7,25.

3. Содержимое флакона с ФБР с твином разводят до объема 125 мл дистиллированной водой, pH готового раствора должен быть от 7,15 до 7,25. Разведенный раствор можно разлить по флаконам, герметически укупорить хранить при температуре от 5 до 8 °С в течение 70-72 ч.

4. Сыворотку противодифтерийную контрольную разводят в 40 раз до содержания 0,1 МЕ в 1 мл. Для этого к 3,9 мл разведенного ФБР с твином добавляют 0,1 мл сыворотки (для микро- и макрометода).

5. При проведении РПГА микрометодом СЭД разводят в 8 раз. Для этого к 7,0 мл разведенного ФБР без твина добавляют 1,0 мл 3 % взвеси диагностикума. При проведении РПГА макрометодом используют не разведенный СЭД.

6. Эритроциты барана контрольные (КЭ). При проведении РПГА микрометодом разводят в 8 раз. Для этого к 7,0 мл разведенного ФБР без

Информация получена с официального сайта Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения www.roszdravnadzor.ru

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

твина добавляют 1 мл КЭ. КЭ при проведении РПГА макрометодом не разводят.

2. Подготовка исследуемых сывороток

Исследуемую сыворотку человека перед определением уровня дифтерийного антитоксина разводят 0,85 % свежеприготовленным раствором натрия хлорида в 5 раз следующим образом:

– для микрометода к 0,1 мл исследуемой сыворотки добавляют 0,4 мл 0,85 % раствора натрия хлорида;

– для макрометода к 0,2 мл исследуемой сыворотки добавляют 0,8 мл 0,85 % раствора натрия хлорида.

Разведенную сыворотку прогревают в течение 30-31 мин в водяной бане при температуре 55-56 °С. Разведенную и прогретую сыворотку адсорбируют эритроцитами барана формалинизированными 50 %, которые перед использованием встряхивают до получения однородной взвеси. Эритроциты добавляют из расчета 0,05-0,1 мл на 1 мл разведенной сыворотки, выдерживают 15-20 часов при температуре от 2 до 8 °С. После сорбции прозрачная надосадочная жидкость готова к исследованию (без предварительного центрифугирования).

3. Проведение серологических реакций

1. РПГА – микрометод

В 12 лунок полистироловой пластины с V – образными лунками вносят по 0,025 мл разведенного ФБР с твином, затем в первую лунку вносят 0,025 мл разведенной в 5 раз испытуемой прогретой, адсорбированной сыворотки, тщательно перемешивают, получают разведение 1:10 и, перенося по 0,025 мл раствора из предыдущей лунки в последующую, делают двукратные разведения сыворотки до 10 лунки включительно. Из 10 лунки 0,025 мл раствора удаляют. Флаконы с разведенным диагностикумом встряхивают до образования однородной взвеси и в каждую лунку вносят по 0,025 мл диагностикума.

Проведение реакции сопровождают следующими контролями:

– испытуемой сыворотки на отсутствие агглютининов к эритроцитам барана. В 11 лунку каждого ряда вносят 0,025 мл испытуемой сыворотки, разведенной 1:5, прогретой, адсорбированной из 11 лунки 0,025 мл переносят, в 12 лунку из 12 лунки 0,025 мл удаляют, и добавляют в обе лунки по 0,025 мл разведенной в 8 раз 3 % взвеси эритроцитов барана контрольных.

– контроль на активность диагностикума и отсутствие спонтанной агглютинации: РПГА проводят с сывороткой противодифтерийной контрольной, разведенной в 100 раз. В два ряда по 12 лунок полистироловой пластины вносят по 0,025 мл разведенного ФБР с твином. В первую лунку каждого ряда добавляют по 0,025 мл разведенной сыворотки, получают разведение 1:200, содержимое лунок тщательно перемешивают и, перенося

Информация получена с официального сайта федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения www.roszdravnadzor.ru

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

по 0,025 мл раствора из предыдущей лунки в последующую, делают двукратные разведения сыворотки до 10 лунки включительно. Из 10 лунки 0,025 мл раствора удаляют.

Флакон с разведенным диагностикумом тщательно встряхивают до образования однородной взвеси эритроцитов и вносят по 0,025 мл разведенного диагностикума в каждую лунку до конца ряда. 11 и 12 лунки являются контролем диагностикума на отсутствие спонтанной агглютинации.

Равномерное распределение эритроцитов в лунках пластин достигается путем постукивания по углам пластины. Пластины оставляют на ровной поверхности в течение 2,5-3,5 часов при температуре 20-22 °С (перемещение пластин до учета реакции исключается). Допускается учет реакции через 18-22 часа.

2. РПГА – макрометод

В 12 лунок полистироловой пластины вносят 0,4 мл раствора разведенного ФБР с твином. В первую лунку добавляют 0,4 мл разведенной в 5 раз испытуемой прогретой, адсорбированной сыворотки, получают разведение 1:10, тщательно перемешивают и, перенося по 0,4 мл раствора из предыдущей лунки в последующую, делают двукратные разведения сыворотки до 10 лунки включительно. Из 10 лунки 0,4 мл раствора удаляют. Флаконы с диагностикумом тщательно встряхивают до образования однородной взвеси эритроцитов. Вносят по 0,05 мл 3 % взвеси диагностикума в каждую лунку с разведенной сывороткой.

Реакцию сопровождают следующими контролями:

– на отсутствие в испытуемой сыворотке агглютининов к эритроцитам барана. В 11 лунку каждого ряда вносят 0,4 мл испытуемой сыворотки, разведенной в 5 раз, прогретой, адсорбированной, содержимое лунки перемешивают и переносят в 12 лунку 0,4 мл. Из 12 лунки 0,4 мл удаляют и добавляют в обе лунки по 0,05 мл 3 % взвеси эритроцитов барана контрольных.*

– на активность диагностикума и отсутствие спонтанной агглютинации. РПГА проводят с сывороткой противодифтерийной контрольной, разведенной в 100 раз. В два ряда по 12 лунок полистироловой пластины наливают по 0,4 мл разведенного ФБР с твином. В первые лунки каждого ряда добавляют по 0,4 мл разведенной сыворотки, получают разведение 1:200, содержимое лунок тщательно перемешивают и, перенося по 0,4 мл раствора из предыдущей лунки в последующую, делают двукратные разведения сыворотки до 10 лунки включительно, Из 10 лунки 0,4 мл раствора удаляют.

* При параллельном испытании сывороток на наличие противодифтерийных и противостолбнячных антител контроль сывороток на отсутствие гетерогемагглютининов к эриторoцитам барана проводят только один раз.

Информация получена с официального сайта Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения www.roszdravnadzor.ru

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

Флакон с диагностикумом тщательно встряхивают до образования однородной взвеси эритроцитов. Вносят по 0,05 мл диагностикума в каждую лунку до конца ряда. 11 и 12 лунки являются контролем диагностикума на отсутствие спонтанной агглютинации.

Пластины оставляют на ровной поверхности в течение 2,5-3,5 часов при температуре 20-22 °С (перемещение пластин до учета реакции исключается). Допускается учет реакции через 18-22 часов.

Учет результатов

Учет реакции проводят визуально по степени агглютинации эритроцитов, которую оценивают по следующей схеме:

++++ – агглютинировавшие эритроциты ровным слоем выстилают все дно лунки, образуя по форме перевернутый купол; края купола иногда заворачиваются;

+++ – в верхней части агглютината отмечается узкое, плотное кольцо;

++ – в верхней части агглютината отмечается более широкое плотное кольцо из эритроцитов, но меньшее по диаметру;

+ – на дне лунки образуется широкое плотное кольцо из эритроцитов барана с признаками агглютинации по краю осадка;

— – на дне лунки образуется плотный диск или плотное широкое кольцо с полностью гладким краем.

Реакция в контрольных лунках на отсутствие в испытуемой сыворотке агглютининов к эритроцитам барана и на отсутствие спонтанной агглютинации диагностикума должна быть отрицательной.*

За титр испытуемой и контрольной сывороток принимают последнее разведение, дающее агглютинацию эритроцитов на два креста (++).

При определении специфической активности диагностикума агглютинация на два креста с сывороткой противодифтерийной контрольной должна быть при ее разведении не ниже 1:3200 и не выше 1:12800, что соответствует 5-7 лункам. В противном случае диагностикум бракуют и реакцию не учитывают.

Форма выпуска

Комплект № 1 для микрометода (160 анализов):

1. Диагностикум эритроцитарный дифтерийный антигенный жидкий – по 5 мл во флаконах – 2 флакона;

* Если в лунках с контрольными эритроцитами отмечается реакция на «+» или «++», необходимо провести повторную адсорбцию испытуемой сыворотки.

Информация получена с официального сайта Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения www.roszdravnadzor.ru

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

2. Эритроциты барана формалинизированные 50 % – по 5 мл во флаконах – 2 флакона;

3. Эритроциты барана контрольные – по 5 мл во флаконах – 1 флакон;

4. ФБР – по 3,2 мл во флаконах – 4 флакона;

5. ФБР с твином – по 6,4 мл во флаконах – 4 флакона;

6. Сыворотка противодифтерийная контрольная с активностью 10 МЕ/мл – по 1 мл во флаконах – 1 флакон.

Комплект № 2 для макрометода (80 анализов):

1. Диагностикум эритроцитарный дифтерийный антигенный жидкий – по 20 мл во флаконах – 5 флаконов;

2. Эритроциты барана формалинизированные 50 % – по 20 мл во флаконах – 1 флакон;

3. Эритроциты барана контрольные – по 20 мл во флаконах – 1 флакон;

4. ФБР с твином – по 6,4 мл во флаконах – 4 флакона;

5. Сыворотка противодифтерийная контрольная с активностью 10 МЕ/мл – по 1 мл во флаконах – 1 флакон.

Срок годности

Срок годности комплекта – 1 год. Препарат с истекшим сроком годности применению не подлежит.

Условия хранения и транспортирования

Препарат хранят при температуре от 2 до 8 °С. Препарат перевозят всеми видами крытого транспорта при температуре от 2 до 10 °С.

Рекламации следует направлять во ФГУН ГИСК Л.А.Тарасевича Роспотребнадзора (119002, г.Москва, Сивцев Вражек, д.41,тел.241-39-22, факс 241-92-38).

Предприятие-производитель ОАО "Биомед" им. И.И.Мечникова. Адрес: Российская Федерация, Московская область, Красногорский район, с.Петрово-Дальнее, телефон/факс – тел.: 635-45-45, тел/факс: 630-15-68.

Генеральный директор
ОАО "Биомед" им. И.И.Мечникова **Михайлов В.А.**

СОГЛАСОВАНО:

Информация получена с официального сайта федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения www.roszdravnadzor.ru

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

Пронумерован

...крепление и ...тью

6 (Шесть) (листов)

Ген. директор

Михайлов В.А.

Информация получена с официального сайта
федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения
www.roszdravnadzor.ru

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