

УТВЕРЖДЕНА
Приказом Росздравнадзора от
«11» июля 2007г.
№ ФСР 2007/00348

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ ФЕМИДАСЕРА®

Сыворотки анти-Н адсорбированной диагностической для судебно-медицинских целей (Сыворотка анти-Н), раствор для диагностических целей

Состав. Действующее начало сыворотки - иммунные гемагглютинины анти-Н, вступающие в реакцию гемагглютинации с антигеном Н системы АВО крови человека.

Назначение. Выявление антигена Н в жидкой крови, пятнах крови и слюны человека.

Описание. Сыворотка представляет собой прозрачную или слабо опалесцирующую жидкость от светло-желтого до красновато-бурого цвета, допускается наличие мутности, устраняемой центрифугированием в течение (30 ± 1) мин при 3000 об/мин.

Фармакотерапевтическая группа. МИБП диагностические препараты.

Код АТХ. V04.

Способ применения.

Специфическая активность. Включает в себя гемагглютинирующую активность, титр и авидность.

Гемагглютинирующая активность. Сыворотка анти-Н должна агглютинировать эритроциты группы О в течение 25 сек с образованием агглютината, оцениваемого не менее чем 3 плюса.

Титр сыворотки анти-Н должен быть не ниже 1:16.

Авидность. Сыворотка анти-Н должна быть авидна к гомологичному антигену, а в пятнах крови и слюны на марле иметь следующие показатели авидности в реакции адсорбции агглютининов (РАА): с пятнами крови группы О - не менее 6 ступеней поглощения, с пятнами крови группы А₁В-2-3 ступени поглощения, с пятнами слюны группы OSe - не менее 6 ступеней поглощения. с пятнами слюны группы OSe не более 4.

С контрольными образцами марли-носителя число ступеней поглощения не должно превышать 2.

Гемагглютинирующую активность, титр и специфичность определяют в реакции гемагглютинации (РГА).

Методика определения гемагглютинирующей активности

В качестве антигена используют осадок стандартных эритроцитов группы О, однократно отмытых натрия хлорида раствором 0,9 % (ГОСТ 4233-77, х.ч.). На фарфоровую плоскость (тарелку) наносят 200 мкл сыворотки и 10 мкл осадка эритроцитов, смешивают стеклянной палочкой. Плоскость постоянно покачивают и отмечают время появления агглютинации. Учет результатов реакции проводят невооруженным глазом при ярком электрическом освещении.

Для контроля на плоскость наносят 200 мкл натрия хлорида раствора 0,9% и 10 мкл осадка эритроцитов. В контроле агглютинация эритроцитов должна отсутствовать в течение 5 мин. Учет результатов проводят при помощи 7 кратной лупы при ярком электрическом освещении.

Методика определения титра

Готовят разведения исследуемой сыворотки натрия хлорида раствором 0,9% в 2, 3, в 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 20, 24, 28, 32, 48, 64 раза в пробирках. Для этого в каждую пробирку кроме второй, помещают по 4 капли натрия хлорида раствора 0,9%, во вторую пробирку 8 капель, затем в первую и вторую пробирки добавляют по 4 капли сыворотки, ингредиенты смешивают. Из первой пробирки (разведение в 2 раза) переносят 4 капли в третью пробирку (разведение в 4 раза), а из нее последовательно по 4 капли в пробирки с разведениями 8, 16, 32, 64. Из второй пробирки (разведение в 3 раза) переносят 4 капли в четвертую пробирку (разведение в 6 раз), а из нее последовательно по 4 капли в пробирки с разведениями 6, 12, 24, 48 раз.

По 200 мкл каждого разведения переносят на плоскость, добавляют по 10 мкл осадка однократно отмытых натрия хлорида раствором 0,9 % стандартных эритроцитов группы О. Плоскость непрерывно покачивают, результат учитывают через 5 мин при помощи 7-кратной лупы при ярком электрическом освещении.

Титром сыворотки считают последнее разведение, которое обуславливает агглютинацию не менее, чем 2 плюса.

Методика определения специфичности

На фарфоровую плоскость (тарелку) наносят 200 мкл сыворотки анти-Н, добавляют 10 мкл осадка однократно отмытых натрия хлорида раствором 0,9% эритроцитов группы А₁В не содержащих антиген Н. перемешивают стеклянной палочкой. Плоскость постоянно покачивают в течение 5 мин. Отсутствие агглютинации к указанному сроку свидетельствует о специфичности сыворотки.

Методика определения авидности

Исследование сыворотки анти-Н на авидность проводят в реакции адсорбции агглютининов в количественной модификации (РАА).

Авидность проверяют не менее чем с 11 образцами пятен крови и слюны на марле. Количество пятен по группам: пятна крови - группа О-3, группа А₁В - 3, пятна слюны - группа ОSe - 2, группа Оse - 3. В качестве контроля используют образец марли-носителя.

Исследуемую сыворотку разводят натрия хлорида раствором 0,9 % до титра 1:16. Материал из каждого пятна, а также из контрольного образца марли-носителя, измельчают ножницами и приготавливают навески по 50 мг. Навески помещают в пробирки. в каждую добавляют по 0,3 мл исследуемой сыворотки, тщательно перемешивают, закрывают пробками и оставляют на (20±2) ч при температуре от 2 до 8 °С. Сыворотки отсасывают, переносят в другие пробирки, центрифугируют в течение 15 мин при 1500 об/мин $g=350$, затем титруют как описано в п. 5.4.5. (Методика определения титра). Таким же образом титруют исходную сыворотку, не находившуюся в контакте с образцами крови на марле и контрольным образцом марли-носителя.

Титры сывороток, адсорбированных кровью или слюной, сравнивают с титром исходной сыворотки.

Результат реакции выражают в ступенях поглощения. Степенью поглощения считают снижение титра адсорбированной кровью или слюной сыворотки на одно разведение по сравнению с титром исходной сыворотки.

Выраженность агглютинации на плоскости при определении гемагглютинирующей активности, титра, специфичности и авидности сыворотки регистрируют по системе четырех плюсов:

4 плюса - крупнолепестковая агглютинация, четко различимая невооруженным глазом;

3 плюса - пескообразная агглютинация, четко различимая невооруженным глазом;

2 плюса - агглютинация, четко различимая с помощью 7-кратной лупы;

1 плюс – агглютинация, слабо различимая с помощью 7-кратной лупы;

минус - отсутствие агглютинации.

Методика определения категории выделительства.

Материал из исследуемых пятен слюны доноров группы О измельчают ножницами и приготавливают навески по 50 мг. Навески помещают в пробирки и проводят РАА как описано в разделе «Методика определения авидности». Доноры, дающие не менее 6 ступеней поглощения, считаются выделителями (Se), остальные - невыделителями (Se).

Методика приготовления пятен крови и слюны на марле.

Пятна крови получают путем свободного нанесения капель крови из пальца микродонора на четырехслойный кусок марли до ее полного пропитывания. Пятна слюны готовят, смачивая марлю слюной, предварительно отцентрифугированной в течение (30±1) мин при 3000 об/мин $G = 700$. Пятна высушивают в полуоткрытых чашках Петри при температуре (20±2) °С в отсутствии прямого солнечного света. Образцы пятен используют не ранее чем через 1 месяц и не позднее чем через 3 мес. после изготовления, сохраняя их в бумажных конвертах в темном месте.

Форма выпуска. По 1,0 мл сыворотки в ампуле. По 1, 2, 3 или 5 ампул в контурной упаковке или по 5 или 10 ампул вместе с инструкцией по применению и скарификатором ампульным в коробку или пачку из картона. При упаковке ампул с насечками, кольцами и точками излома скарификаторы ампульные не вкладывают.

Условия хранения и транспортирования. Сыворотки хранят в соответствии с СПЗ.3.2.1248-03 при температуре от 2 до 8 °С в сухом месте.

Транспортирование осуществляют в соответствии с СП 3.3.2.1248-03 при температуре от 2 до 8 °С.

Срок годности. 1 год. Препарат с истекшим сроком годности использованию не подлежит.

Рекламации направлять в адрес предприятия - изготовителя: Федеральное государственное унитарное предприятие «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт вакцин и сывороток и предприятие по производству бактериальных препаратов» Федерального медико-биологического агентства (198320, Санкт-Петербург, г. Красное Село, ул. Свободы, д. 52, тел.: (812) 741-10-58, факс: (812) 741-28-95, www.spbniiivs.ru).