

УТВЕРЖДЕНА
Приказом Росздравнадзора
от «11» июля 2007 г.
№ ФСР 2007/00344

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ ФЕМИДАСЕРА®

Сывороток анти-А и анти-В адсорбированной диагностических, полученных иммунизацией животных эритроцитами человека, для судебно-медицинских целей (Сыворотки анти-А и анти-В эритроцитарные), раствор для диагностических целей

Состав. Действующее начало обеих сывороток - иммунные гемагглютинины анти-А и анти-В соответственно, вступающие в реакцию гемагглютинации с антигенами А и В системы АВО крови человека.

Назначение. Выявление антигенов А и В 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-А эритроцитарная должна агглютинировать эритроциты группы A_1 в течение 15 сек, группы A_2 – в течении 20 сек с образованием агглютината, четко различимого невооруженным взглядом. Сыворотка анти-В эритроцитарная должна агглютинировать эритроциты группы В в течении 15 сек с образованием агглютината, четко различимого невооруженным взглядом.

Титр сывороток анти-А и анти-В эритроцитарных должен быть не ниже 1:64.

Авидность. Сыворотки анти-А и анти-В эритроцитарные должны быть авидны к гомологичному антигену крови и слюны в пятнах на марле и иметь следующие показатели авидности в реакции адсорбции агглютининов (РАА)

Сыворотка анти-А эритроцитарная должна иметь следующие показатели авидности: с пятнами крови и слюны группы A_1 – не менее 4 ступеней поглощения, причем с половиной образцов не менее 5 ступеней, с пятнами крови и слюны группы A_1B – не менее 3 ступеней поглощения.

Сыворотка анти-В эритроцитарная должна иметь следующие показатели авидности: с пятнами крови и слюны группы $B(Se)$ – не менее 4 ступеней поглощения, причем с половиной образцов не менее 5 ступеней, с пятнами крови и слюны группы A_1B – не менее 3 ступеней поглощения.

Сыворотки анти-А и анти-В эритроцитарные в РАА не должны давать ни одной ступени поглощения с образцами марли-носителя, с пятнами крови и слюны группы О, с пятнами крови с слюны группы В для сыворотки анти-А эритроцитарной и группы А для сыворотки анти-В эритроцитарной.

Гемагглютинирующую активность, титр и специфичность сывороток анти-А и анти-В эритроцитарных определяют в реакции гемагглютинации (РГА).

Методика определения гемагглютинирующей активности

В качестве антигена используют осадок гомологичных эритроцитов, 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, затем смешивают стеклянной палочкой. Плоскость постоянно покачивают и отмечают по секундомеру 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 эритроциты не должны агглютинироваться в течение 5 мин. Учет результатов проводят при помощи 7 кратной лупы при ярком электрическом освещении.

Для проверки гемагглютинирующей активности, титра, специфичности и авидности сывороток используют эритроциты стандартных микродоноров

Подбор стандартных микродоноров.

Кровь микродонора берут из пальца в пробирку (ГОСТ 25336-82Е) с 10 мл натрия хлорида раствора 0,9%, центрифугируют (5 ± 1) мин. при 1000 об./мин. $g=250$ для получения осадка эритроцитов. Далее проводят РГА. Если эритроциты агглютинируются сывороткой анти-А и не агглютинируются сывороткой анти-В – они относятся к группе А. Если эритроциты агглютинируются сывороткой анти-В и не агглютинируются сывороткой анти-А – они относятся к группе В. Если эритроциты агглютинируются сыворотками анти-А и анти-В – они относятся к группе АВ. Эритроциты, которые не агглютинируются ни сывороткой анти-А, ни сывороткой анти-В относятся к группе О.

В образцах крови группы А можно определить степень выраженности антигена А. Для этого сыворотку анти-А эритроцитарную титруют эритроцитами испытуемого образца и параллельно тест-эритроцитами подгрупп А₁ и А₂.

Методика определения титра

Сыворотку разводят натрия хлорида раствором 0,9% в 2, 3, в 4, 8 и т.д. раз до разведения, превышающего на одну ступень титр, указанный на этикетке.

Для этого в каждую пробирку помещают по 200 мкл натрия хлорида раствора 0,9%, затем в первую пробирку добавляют 200 мкл исследуемой сыворотки, жидкости смешивают и переносят последовательно по 200 мкл в каждую пробирку до последнего разведения.

По 200 мкл каждого разведения переносят на плоскость, добавляют к каждому разведению по 10 мкл однократно отмытых натрия хлорида раствором 0,9 % эритроцитов группы А для сыворотки анти-А эритроцитарной и группы В для сыворотки анти-В эритроцитарной, перемешивают. Плоскость непрерывно покачивают и 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 2 капли по 200 мкл сыворотки анти-А эритроцитарной, к одной капле добавляют 10 мкл осадка однократно отмытых натрия хлорида раствором 0,9% эритроцитов группы В, к другой – 10 мкл осадка эритроцитов группы О, перемешивают стеклянной палочкой. Плоскость постоянно покачивают в течение 5 мин. Отсутствие агглютинации к указанному сроку в обеих каплях свидетельствует о специфичности сыворотки анти-А эритроцитарной. Результаты учитывают при помощи 7-кратной лупы при ярком электрическом освещении.

Определение специфичности сыворотки анти-В эритроцитарной проводят аналогично, только в качестве антигена используют эритроциты групп А и О.

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 полукрытых чашках Петри при температуре (20 ± 2) °С в отсутствии прямого солнечного света. Образцы пятен используют не ранее 1 месяца и не позднее 3 месяцев после приготовления, сохраняя их в бумажных конвертах в темном месте.

Методика определения авидности.

Контроль сывороток анти-А и анти-В эритроцитарных на авидность проводят в реакции адсорбции агглютининов в количественной модификации (РАА).

Количество образцов пятен крови и слюны не менее 9 каждого. Для сыворотки анти-А эритроцитарной количество пятен крови по группам: А₁- 4, А₁В – 2, В – 2, О – 1; количество пятен

слюны по группам: A₁Se – 3, A₁se – 1, A₁BSe- 2, OSe – 1, BSe – 2. Для сыворотки анти-B эритроцитарной количество пятен крови по группам: B – 4, A₁B – 1, A₂B – 1, A – 2, O – 1; количество пятен слюны по группам: BSe – 3, Bse – 1, A₁BSe – 2, A₁Se – 1, OSe – 2.

Исследуемую сыворотку разводят натрия хлорида раствором 0,9 % до титра 1:32. 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 20-22 ч при температуре от 2 до 8 °С. Затем сыворотку отсасывают, переносят в другие пробирки, центрифугируют в течение 15 мин при 1500 об/мин, g=350 и готовят разведения кратные 2 до титра 1:64 (см. раздел «Методика определения титра»).

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

Таким же образом титруют исходную сыворотку, не находившуюся в контакте с образцами крови (слюны) на марле.

Титры сывороток, адсорбированных кровью или слюной, сравнивают с титром исходной сыворотки. Результат реакции выражают в ступенях поглощения. Ступенью поглощения считают снижение титра адсорбированной кровью (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.

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 СП3.3.2.1248-03 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.spbniivs.ru).