

«СОГЛАСОВАНО»

Директор
ФГБНУ НИИВС

им. И.И. Мечникова

_____ О.А. Свитич

«17» _____ 2019 г.



«УТВЕРЖДАЮ»

Начальник Управления регистрации
и медицинских исследований
АО «НПО «Микроген»

_____ А.Е. Ершов
«17» _____ 2019 г.



ИНСТРУКЦИЯ

**Сыворотки диагностические ботулинические типов А, В, С, Е, F
нативные лошадиные сухие для реакции биологической нейтрализации
по ТУ 21.20.21-154-20401675-2019**

Регистрационное удостоверение № РЗН 2013/198

НАЗНАЧЕНИЕ

Медицинское изделие для диагностики *in vitro* предназначено для диагностики и идентификации типа возбудителя ботулизма в реакции нейтрализации токсина.

Функциональное назначение - вспомогательное средство в диагностике ботулизма.

Показания к применению изделия в соответствии с его назначением.

Противопоказания для применения изделия согласно инструкции отсутствуют.

ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗДЕЛИЯ

Выпускается в следующих вариантах исполнения.

Вариант 1.

Сыворотка диагностическая ботулиническая типа А

Состав медицинского изделия:

Сыворотка диагностическая ботулиническая
типа А нативная лошадиная

- не менее 200 МЕ в ампуле
(5 ампул, лиофилизат из
объема, зависящего от
специфической активности).

Вариант 2.

Сыворотка диагностическая ботулиническая типа В

Состав медицинского изделия:

Сыворотка диагностическая ботулиническая типа В нативная лошадиная	- не менее 100 МЕ в ампуле (5 ампул, лиофилизат из объема, зависящего от специфической активности).
---	--

Вариант 3.

Сыворотка диагностическая ботулиническая типа С

Состав медицинского изделия:

Сыворотка диагностическая ботулиническая типа С нативная лошадиная	- не менее 150 МЕ в ампуле (5 ампул, лиофилизат из объема, зависящего от специфической активности).
---	--

Вариант 4.

Сыворотка диагностическая ботулиническая типа Е

Состав медицинского изделия:

Сыворотка диагностическая ботулиническая типа Е нативная лошадиная	- не менее 200 МЕ в ампуле (5 ампул, лиофилизат из объема, зависящего от специфической активности).
---	--

Вариант 5.

Сыворотка диагностическая ботулиническая типа F

Состав медицинского изделия:

Сыворотка диагностическая ботулиническая типа F нативная лошадиная	- не менее 50 МЕ в ампуле (5 ампул, лиофилизат из объема, зависящего от специфической активности).
---	---

Комплектация. Сыворотка диагностическая ботулиническая типа А/или типа В/или типа С/или типа Е/или типа F (5 ампул) в пачке из картона с инструкцией по применению, паспорт (в комплекте поставки).

Характеристика компонентов изделия.

Компоненты изделия представляют собой лиофилизированные сыворотки, полученные из крови лошадей, гипериммунизированных ботулиническими

моноанатоксинами и токсинами соответствующих типов. В 1 мл ботулинической сыворотки типа А содержится не менее 200 МЕ (международных единиц активности), сыворотки типа В – не менее 100 МЕ, типа С – не менее 150 МЕ, типа Е – не менее 200 МЕ, типа F – не менее 50 МЕ, консервант – хлороформ. Реагенты имеют вид пористой массы кремового цвета, растворяющейся при добавлении 1 мл дистиллированной воды не более 20 минут.

Примечание – Сыворотки крови лошадей, используемые для производства получены из ~~получены~~ от животных, которые прошли ветеринарный контроль и находятся под наблюдением.

ПРИНЦИП МЕТОДА И ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

Сыворотки выявляют специфические антитоксины, нейтрализующие ботулинические токсины возбудителя ботулизма одноименного типа в реакции биологической нейтрализации токсина антитоксином. В основе этой реакции лежит способность специфической антитоксической сыворотки нейтрализовать ботулинический экзотоксин. Если животные, получившие исследуемый материал без сыворотки, за это время погибают, в то время как, получившие этот же материал с сывороткой остаются живыми, то это указывает на присутствие ботулинического токсина определенного типа в исследуемом материале.

ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Каждый вариант медицинского изделия Сыворотки диагностические ботулинические типов А, В, С, Е, F нативные лошадиные сухие для реакции биологической нейтрализации предназначен для клинической лабораторной диагностики для однократного применения по назначению. Вид аналита – качественный.

Каждый вариант изделия рассчитан на проведение 5 анализов в реакции нейтрализации.

Изделие не подлежит ремонту и техническому обслуживанию. Монтаж, наладка, калибровка и прочие операции, необходимые для ввода МИ в эксплуатацию и его правильной эксплуатации не требуются. Компоненты изделия стерильны.

Пользователями изделия могут быть медицинские специалисты бактериологических лабораторий лечебно-профилактических учреждений с высшим и средним специальным образованием, прошедшие специальную подготовку и допущенные к работе с патогенными микроорганизмами в соответствии СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)».

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИЗДЕЛИЯ

Специфическая активность. В 1 мл растворенной сыворотки соответствующего типа должно содержаться ботулинического антитоксина типа А не менее 200 МЕ, типа В не менее 100 МЕ; типа С не менее 150 МЕ; типа Е не менее 200 МЕ, типа F не менее 50 МЕ.

Специфичность. Каждая сыворотка должна нейтрализовать только токсины одноименного типа. Допускается перекрестная нейтрализация между токсинами и сыворотками типа Е и F в разведении не более чем 1:40.

Чувствительность. Сыворотки типов А, В, С, Е должны нейтрализовать дозу $L+5$ гомологичного токсина. Сыворотка типа F должна нейтрализовать дозу токсина типа F - $L+10$.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С ИЗДЕЛИЕМ

Класс потенциального риска применения – 2б.

Изделие является безопасным, не приносит вреда окружающей природной среде и здоровью человека при транспортировании, хранении, применении. Компоненты изделия являются негорючими, невзрывоопасными, не способными самовозгораться, не радиоактивными, нетоксичными, не обладают канцерогенным, мутагенным действием или отрицательно влияющим на репродуктивную функцию человека, в том числе не образуют токсичных соединений с другими веществами, не обладают кумулятивными свойствами.

Изделие содержит материал животного происхождения: сыворотку крови лошадей, безопасность которой подтверждена. Сыворотка, используемая в производстве, получена от животных, прошедших ветеринарный контроль и

находящихся под наблюдением специалиста.

Однако исследуемые образцы, а также их растворы, оборудование и материалы, находящиеся с ними в контакте, следует рассматривать как потенциально инфицированные. При работе следует соблюдать правила техники безопасности в соответствии с:

- ГОСТ Р 52905-2007 (ИСО 15190:2003) «Лаборатории медицинские. Требования безопасности»;

- СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)».

При работе с потенциально-инфицированными биологическими образцами, оборудованием, материалами, изделиями, находящимися с ними в контакте, следует соблюдать осторожность:

- работать в боксах биологической безопасности с применением индивидуальных средств защиты (защитной одежды, одноразовых резиновых перчаток, защитного экрана или очков);

- не пипетировать ртом;

- в случае пролива образцов и рабочих растворов на рабочие поверхности, необходимо проводить дезинфекционную обработку с использованием дезинфицирующих средств, разрешенных к использованию на территории РФ;

- инструменты и оборудование (после работы) подвергать обработке с использованием дезинфицирующих средств и оборудования, разрешенных к использованию на территории РФ;

- избегать образования аэрозолей, попадания исследуемых образцов и их растворов, компонентов изделия в рот, их проглатывания, контакта с кожей и слизистыми оболочками;

- утилизировать все использованные материалы, а также их растворы, исследуемые образцы и их растворы в соответствии с действующими санитарными правилами и нормами.

Утилизация изделий, пришедших в негодность, с истекшим сроком

годности и неиспользованных изделий осуществляется в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» как эпидемиологически безопасных отходов класса А.

Все сточные растворы (которые могут содержать биологические образцы), изделия после контакта с биологическими образцами как потенциально инфицированный материал, перед утилизацией следует обеззараживать кипячением в емкости в течение 30 мин, или погружением в раствор перекиси водорода 6 % в течение 60 мин, или автоклавированием при температуре $(132 \pm 2)^\circ\text{C}$ в течение 45 мин., с последующей утилизацией в соответствии СП 2.1.7.2790-10 как эпидемиологически опасные отходы класса Б.

СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

МЕРЫ ПО СНИЖЕНИЮ РИСКОВ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ИЗДЕЛИЯ

Объективные результаты анализа гарантируются при выполнении следующих условий:

- строгое соблюдение настоящей инструкции по применению;
- соблюдение правил асептики при работе;
- соблюдение температурного режима термостата $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$, режима обработки используемой посуды;
- соблюдение условий хранения (хранение в герметично упакованном виде) и транспортирования, изделия, транспортированные и хранившиеся с нарушением температурного режима, применению не подлежат;
- не использовать изделие при отсутствии на его упаковке соответствующей маркировки, нарушении целостности внутренней упаковки разных серий изделия.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С ИЗДЕЛИЕМ:

- вода дистиллированная (ГОСТ Р 58144);
- раствор натрия хлорида (ГОСТ 4233) 0,9 % стерильный.
- вата медицинская гигроскопичекая (ГОСТ 5556);

- пробирки биологические, 5 мл (ГОСТ 25336);
- пипетки стеклянные градуированные (ГОСТ 29227) 2-го класса точности (1, 2, 5 мл) или дозатор лабораторный автоматический 1-канальный переменного объема до 5 мл);
- стаканы стеклянные 100 мл (ГОСТ 25336);
- шприц медицинский одноразовый (ГОСТ ISO 7886-1), 5 мл;
- беспородные белые мыши массой 17 ± 1 г;
- перчатки одноразовые (ГОСТ 3);
- 1 % раствора трипсина или панкреатина.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Тип анализируемого образца – промывные воды желудка, остатки пищи из желудка, испражнения больного, секционный материал (различные органы трупов 2-3 кусочка по 5-10 г из сердца, печени, селезенки, почек, головного мозга, стенки желудка, толстого и тонкого кишечника), кровь, сыворотка крови, моча, пищевые продукты и другие объекты.

Все работы по взятию, транспортированию и подготовке проб клинического материала осуществляют в строгом соответствии с требованиями СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)», МУ 4.2.2039-05 «Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории. Методические указания».

Для отбора проб используют чистую стерильную посуду, не содержащую следов дезинфицирующих растворов. При необходимости стерилизацию посуды и других средств забора материала проводят автоклавированием или сухим жаром.

Для получения достоверных результатов рекомендуется исследовать материал непосредственно после забора. Все исследуемые образцы должны быть промаркированы (идентифицированы).

Подготовка образцов (приготовление экстрактов для реакции нейтрализации).

Из органов трупов (наиболее часто токсин обнаруживается в печени), из

сгустков крови, содержимого желудка, кишечника и испражнений делают экстракты. Экстрагирование токсинов из продуктов, содержащих поваренную соль, проводят дистиллированной водой. Настаивание исследуемого материала проводят 1-2 часа, после чего фильтруют через вату. Полученная после фильтрации жидкость, а также сыворотка крови и моча могут быть использованы для постановки реакции биологической нейтрализации.

Для обнаружения токсина в пищевых продуктах, учитывая возможность гнездового расположения токсина, пробы материалов берут в количестве 20-25 г из мест, наиболее подозрительных по органолептическим свойствам, растирают в ступке и заливают двойным объемом физиологического раствора. После двухчасового выдерживания экстракт центрифугируют, а затем с ним ставят реакцию нейтрализации.

Примечание. Учитывая, что значительная часть токсина типа Е продуцируется в виде протоксина, активирующегося под действием пищеварительных ферментов, для выявления токсина типа Е экстракт из продуктов перед постановкой реакции нейтрализации рекомендуется подвергнуть активации панкреатином или трипсином (с 1 мл 1 % раствора фермента на 10 мл экстракта). Смесь экстракта с ферментом выдерживают при температуре 37 °С в течение 2 ч.

Для постановки реакции нейтрализации может быть использована жидкость из овощных, рыбных, мясных консервов после центрифугирования.

Присутствие ботулинических токсинов в полученных экстрактах или в жидких исследуемых материалах определяют путем постановки реакции биологической нейтрализации с типоспецифическими диагностическими ботулиническими сыворотками.

ПОДГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ.

В связи с тем, что в исследуемом материале могут быть два и даже три токсина, предварительно реакцию необходимо проводить со смесью моновалентных ботулинических сывороток типов А, В, С, Е, F. Сухую сыворотку каждого типа растворяют в 1 мл стерильного изотонического раствора натрия

хлорида 0,9 %, при легком встряхивании. После растворения составляют смесь из равного количества сывороток каждого типа.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА (РЕАКЦИИ НЕЙТРАЛИЗАЦИИ).

Предварительная реакция.

К 1 мл смеси сывороток типов А, В, С, Е, F добавляют 4 мл испытуемого материала, выдерживают при комнатной температуре не менее 45 мин, после чего по 1 мл смеси из испытуемого материала и сывороток вводят четырем мышам внутрибрюшинно. Четырем контрольным мышам вводят по 0,8 мл испытуемого материала без сыворотки.

Реакцию можно проводить также на двух морских свинках. Одной из них подкожно или внутрибрюшинно вводят 3,5 мл смеси сывороток и испытуемого материала (готовят смесь так же, как для мышей), другой – 3 мл испытуемого материала без сыворотки.

Наблюдение за животными ведут в течение четырех дней. Если животные, получившие испытуемый материал без сыворотки, за это время погибают, а получившие этот же материал с сывороткой остаются живыми, то это указывает на присутствие ботулинического токсина в исследуемом материале. Ориентировочный ответ может быть получен на вторые сутки.

Для определения типа токсина в 6 пробирок разливают по 2,4 мл исследуемой жидкости, затем в каждую пробирку приливают 0,6 мл сыворотки: в первую пробирку приливают сыворотку типа А, во вторую - типа В, в третью - типа С, в четвертую - типа Е, в пятую - типа F, в шестую приливают 0,6 мл 0,9 % раствора натрия хлорида. Смесь после выдерживания 45 мин при комнатной температуре вводят внутрибрюшинно или подкожно по 1 мл двум мышам из каждой пробирки. Для введения каждой сыворотки используют отдельный шприц.

Для более быстрой идентификации типа токсина реакцию с исследуемым материалом ставят одновременно со смесью диагностических сывороток и с отдельными типоспецифическими сыворотками.

УЧЕТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет проводят предварительно через 4-6 ч, через 24 ч и окончательно через 4 дня.

Мыши, получившие смесь гомологичного токсина и сыворотки, выживают при гибели всех остальных мышей (что свидетельствует о наличии соответствующего токсина в исследуемом образце). Если испытуемый субстрат нейтрализуется одновременно сыворотками типов Е и F, что связано с наличием общих антигенов, дополнительно ставят реакцию нейтрализации с сыворотками, разведенными в 40 раз. Последние нейтрализуют только одноименный токсин.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ ИЗДЕЛИЯ

Транспортирование всеми видами крытого транспорта при температуре от 2 до 8 °С. Допускается транспортирование изделия при температуре от 9 до 25 °С в течение 7 дней.

Хранение в упаковке изготовителя в течение всего срока годности при температуре от 2 до 8 °С.

После вскрытия ампул компоненты изделия хранению не подлежат.

Срок годности 5 лет со дня приемки. Изделие с истекшим сроком годности использованию не подлежит.

ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение настоящей Инструкции по применению.

Рекламации по вопросам, касающимся качества и обращения медицинских изделий в течение срока годности с обязательным указанием серии и даты изготовления следует направлять в адрес Акционерного общества «Научно-производственное объединение по медицинским иммунобиологическим препаратам «Микроген» (АО «НПО «Микроген»): Россия, 115088, г. Москва, 1-я Дубровская ул., д. 15, строение 2, тел. (495) 710-37-87, e-mail: info@microgen.ru и в адрес производства: Россия, 355019, Ставропольский край, г. Ставрополь, ул. Биологическая, д. 20, тел. (8652) 24-40-84.