

«УТВЕРЖДАЮ»

Первый заместитель
генерального директора
ФГБНУ «ФНЦИРИП
им. М.П. Чумакова РАН»

А.Ю. Афонин

2017 г.



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ИН ВИТРО

**Сыворотки диагностические энтеровирусные моновалентные
сухие для реакции нейтрализации «СДЭм» по ТУ 9389-001-01895045-2011**

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Медицинское изделие Сыворотки диагностические энтеровирусные моновалентные сухие для реакции нейтрализации «СДЭм» (далее по тексту «СДЭм») предназначены для идентификации энтеровирусов до уровня серотипа.

1.2. Функциональное назначение

«СДЭм» - высокоэффективные диагностические реагенты, выявляющие и дифференцирующие энтеровирусы до уровня серотипа.

Метод диагностики качественный, основан на подавлении иммунными сыворотками цитопатического эффекта (ЦПЭ) энтеровирусов в индикаторных клетках.

2. ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Область применения «СДЭм» - эпидемиологические, клинические и иммунологические исследования.

3. ТРЕБОВАНИЯ К ПЕРСОНАЛУ, УЧАСТВУЮЩЕМУ В ВЫПОЛНЕНИИ ИССЛЕДОВАНИЙ

Предназначенный пользователь «СДЭм» – сотрудники республиканских, областных и городских центров гигиены и эпидемиологии (ЦГиЭ), а также научно-исследовательских учреждений и лабораторий соответствующего профиля, прошедшие необходимую профессиональную подготовку.

Потенциальные пользователи «СДЭм»: вирусологи, иммунологи, врачи-лаборанты и другие специалисты, участвующие в постоянно действующих программах по эпидемиологическому надзору и профилактике энтеровирусной инфекции на территории РФ.

«СДЭм» могут быть использованы в санитарно - профилактических и лечебно-профилактических учреждениях.

4. ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

Принцип действия «СДЭм» основан на образовании интактного комплекса между входящими в состав «СДЭм» типоспецифическими нейтрализующими антителами и энтеровирусом соответствующего типа. При проведении реакции нейтрализации *ин витро* визуальным показателем возникновения комплексов антиген-антитело служит отсутствие цитопатического эффекта (ЦПЭ) в индикаторных клетках. Тип «СДЭм», препятствующий развитию ЦПЭ, соответствует серотипу идентифицируемого энтеровируса. Результаты реакции нейтрализации регистрируются с помощью инвертированного микроскопа.

5. ХАРАКТЕРИСТИКА «СДЭм»

«СДЭм» представляют собой лиофилизаты цельных поликлональных гипериммунных сывороток кроликов породы русская шиншилла или баранов к 38-ми цитопатогенным

энтеровирусам человека, возбудителям широко распространенных полиморфных по клиническим проявлениям заболеваний.

5.1. Состав «СДЭм»:

- сыворотки, специфичные к вирусу полиомиелита 1, 2, 3 типов;
- сыворотки, специфичные к вирусам Коксаки А 2, 4, 7, 9, 10;
- сыворотки, специфичные к вирусам Коксаки В 1, 2, 3, 4, 5, 6;
- сыворотки, специфичные к вирусам ЕСНО 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 16, 20, 21, 25, 27, 29, 30, 31, 33;
- сыворотки, специфичные к энтеровирусам 68, 69, 70, 71.

5.2. «СДЭм» выпускаются в следующих вариантах исполнения:

а) 1 флакон в индивидуальной пачке с инструкцией по применению;

б) 5 комплектов по 10 флаконов в пачке с инструкцией по применению:

Комплект №1. По 4 флакона «СДЭм» к вирусам полиомиелита 1 и 3 типов; 2 флакона «СДЭм» к вирусу полиомиелита тип 2;

Комплект №2. По 2 флакона «СДЭм» к вирусам Коксаки А 2,4,7,9,10;

Комплект №3. По 2 флакона «СДЭм» к вирусам Коксаки В 1,2,5,6 и по 1 флакону «СДЭм» к вирусам Коксаки В 3,4;

Комплект №4. «СДЭм» к вирусам ЕСНО состоит из 2-х пачек и содержит в первой пачке - по 1 флакону «СДЭм» к вирусам ЕСНО 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 12; во второй пачке - по 1 флакону «СДЭм» к вирусам ЕСНО 13, 16, 20, 21, 25, 27, 29, 30, 31, 33;

Комплект №5. «СДЭм» к вирусам Энтеро 68, 69, 70, 71 состоит из одной пачки и содержит по 2 флакона к вирусам Энтеро 68, 69 и по 3 флакона «СДЭм» вирусам Энтеро 70, 71.

5.3. Аналитические характеристики

5.3.1. Аналитическая специфичность

Специфичность «СДЭм» обусловлена способностью сывороточных нейтрализующих анти-тел образовывать комплексы только со стимулировавшими их синтез энтеровирусами.

5.3.2. Аналитическая чувствительность

Чувствительность «СДЭм» измеряется нейтрализующими единицами (НЕ). Одна НЕ соответствует максимальному разведению «СДЭм», защищающему 50 % индикаторных клеток от 100 (32-320) ТЦД₅₀ гомотипичного вируса. В реакции нейтрализации энтеровирусов стандартно используют рабочие разведения «СДЭм», содержащие не менее 20 НЕ.

5.4. Диагностические характеристики

Изготовление «СДЭм» проводили с использованием в качестве иммуногенов только тех энтеровирусов, типоспецифичность которых была экспериментально подтверждена производителем с помощью референс-сывороток ВОЗ (препараты LBM, WHO или RIVM, Bilthoven, NL).

5.4.1. Диагностическая специфичность

Диагностическую специфичность оценивали по способности «СДЭм» нейтрализовать ЦПЭ, вызываемое в индикаторных клетках гомотипичными энтеровирусами (Таблица 1).

Таблица 1

№ пп	Типы «СДЭм»	Количество исследован- ных «СДЭм»	Результаты реакции нейтрализации		Диагностическая специфичность «СДЭм»
			Положитель- ные (ЦПЭ -)	Отрицатель- ные (ЦПЭ+)	
1	Полиовирусная тип 1	71	71	0	100%
2	Полиовирусная тип 2	68	68	0	100%
3	Полиовирусная тип 3	83	83	0	100%
4	Коксаки А2	13	13	0	100%
5	Коксаки А4	45	45	0	100%
6	Коксаки А7	30	30	0	100%
7	Коксаки А9	30	30	0	100%
8	Коксаки А10	30	30	0	100%
9	Коксаки В 1	29	29	0	100%
10	Коксаки В 2	39	39	0	100%
11	Коксаки В 3	59	59	0	100%
12	Коксаки В 4	27	27	0	100%
13	Коксаки В 5	60	60	0	100%
14	Коксаки В 6	58	58	0	100%
15	ЕСНО 2	43	43	0	100%
16	ЕСНО 3	30	30	0	100%
17	ЕСНО 4	44	44	0	100%
18	ЕСНО 5	30	30	0	100%
19	ЕСНО 6	44	44	0	100%
20	ЕСНО 7	44	44	0	100%
21	ЕСНО 8	26	26	0	100%
22	ЕСНО 9	44	44	0	100%
23	ЕСНО 11	43	43	0	100%
24	ЕСНО 12	58	58	0	100%
25	ЕСНО 13	29	29	0	100%
26	ЕСНО 16	43	43	0	100%
27	ЕСНО 20	44	44	0	100%
28	ЕСНО 21	59	59	0	100%
29	ЕСНО 25	45	45	0	100%
30	ЕСНО 27	30	30	0	100%
31	ЕСНО 29	30	30	0	100%
32	ЕСНО 30	29	29	0	100%
33	ЕСНО 31	25	25	0	100%
34	ЕСНО 33	29	29	0	100%
35	Энтеровирусная тип 68	44	44	0	100%
36	Энтеровирусная тип 69	29	29	0	100%
37	Энтеровирусная тип 70	45	45	0	100%
38	Энтеровирусная тип 71	26	26	0	100%

Подлинность «СДЭм» устанавливали по результатам их взаимодействия с гетеротипичными энтеровирусами соответствующих таксономических групп (Таблица 2).

Таблица 2

Типы «СДЭм»		Типы энтеровирусов																																					
		П 1	П 2	П 3	КА 2	КА 4	КА 7	КА 9	КА 10	КВ 1	КВ 2	КВ 3	КВ 4	КВ 5	КВ 6	Е 2	Е 3	Е 4	Е 5	Е 6	Е 7	Е 8	Е 9	Е 11	Е 12	Е 13	Е 16	Е 20	Е 21	Е 25	Е 27	Е 29	Е 30	Е 31	Е 33	Э 68	Э 69	Э 70	Э 71
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	
П 1	0	+	+																																				
П 2	+	0	+																																				
П 3	+	+	0																																				
КА 2				0	+	+	+	+																															
КА 4				+	0	+	+	+																															
КА 7				+	+	0	+	+																															
КА 9				+	+	+	0	+																															
КА 10				+	+	+	+	0																															
КВ 1									0	+	+	+	+	+																									
КВ 2									+	0	+	+	+	+																									
КВ 3									+	+	0	+	+	+																									
КВ 4									+	+	+	0	+	+																									
КВ 5									+	+	+	+	0	+																									
КВ 6									+	+	+	+	0	+																									
Е 2									+	+	+	+	+	0																									
Е 3														0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Е 4														+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Е 5														+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Е 6														+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Е 7														+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Е 8														+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Е 9														+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Е 11														+	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Е 12														+	+	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Е 13														+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Е 16														+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Е 20														+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Е 21														+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Е 25														+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Е 27														+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Е 29														+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Е 30														+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	
Е 31														+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	
Е 33														+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	
Э 68														+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	
Э 69																																			0	+	+	+	
Э 70																																			+	0	+	+	
Э 71																																			+	+	0	+	

Условные обозначения:

П – вирус полиомиелита; КА – вирусы Коксаки А; КВ – вирусы Коксаки В; Е – вирусы ЕСНО; Э – энтеровирусы.

5.4.2. Диагностическая чувствительность

Высокая диагностическая чувствительность реакции нейтрализации обеспечивается поликлональной природой «СДЭм», позволяющей взаимодействовать с различными антигенными детерминантами гомотипичных энтеровирусов.

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- ламинарный шкаф;
- CO₂ – инкубатор (37±1 °C);
- микроскоп инвертированный (увеличение 24÷250);
- баня водяная лабораторная с электроподогревом (до 100 °C);
- счетная камера (камера Горяева или аналогичные);
- пипетки градуированные стерильные вместимостью 1,0; 2,0; 5,0; 10,0 мл;
- планшеты для микротитрования плоскодонные 96-луночные с крышкой стерильные;
- микродозаторы одноканальные с переменным объемом (20-1000 мкл) и сменными наконечниками;
- флаконы с винтовой крышкой для культур клеток (рабочая поверхность 25 см², 75 см², 162 см²);
- питательная среда Игла МЕМ с двойным набором аминокислот и витаминов для культур клеток в комплекте с Л-глутамином («Питательная среда Игла МЕМ двойная»);
- культура клеток RD;
- культура клеток HEp-2-C;
- сыворотка крови плодов коров инактивированная.

7. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И РИСКИ ПРИМЕНЕНИЯ

7.1. «СДЭм» предназначены только для применения *ин витро*.

7.2. Класс потенциального риска применения «СДЭм» - 1.

7.3. При работе с исследуемыми материалами следует соблюдать правила техники безопасности в соответствии с СП 1.3.3118-13 Санитарно-эпидемические правила «Безопасность работы с микроорганизмами I-IV групп патогенности».

7.4. «СДЭм» не предназначены для совместного использования с другими медицинскими изделиями.

7.5. Противопоказаний и побочных действий при работе со «СДЭм» не выявлено.

Риски, связанные с применением «СДЭм» минимальные. Снижение рисков обеспечивается поддержанием необходимых условий хранения на складе готовой продукции и при транспортировании, уведомлением пользователя о том, что изделие предназначено только для профессионального применения квалифицированным персоналом с соблюдением необходимых мер по утилизации (уничтожению) и дезинфицированию в соответствии с требованиями эксплуатационной документации.

8. УСЛОВИЯ ПРИМЕНЕНИЯ

Для проведения стерильных работ с использованием «СДЭм» необходимо применение стерильных материалов и оборудования, обеспечивающего их асептические условия.

Не подлежат применению изделия с нарушенной целостностью укупорочных пробок или алюминиевых колпачков, при истекшем сроке годности, неправильном хранении.

9. ПРИМЕНЕНИЕ

9.1. Анализируемые образцы и пробоподготовка

Вид анализируемого материала: исследованию подлежат агенты с установленной или предполагаемой энтеровирусной природой, выделенные из клинических и/или секционных материалов, а также из объектов окружающей среды (пробы воды, почвы, пищевые продукты, смывы с предметов и т.п.). В диагностической реакции нейтрализации используют рабочие разведения анализируемых образцов, содержащие по результатам предшествующих титрований около 100 (32-320) ТЦД₅₀ в 0,05 мл.

9.2. Проведение исследования (анализа)

9.2.1. Подготовительные процедуры

Во флакон с лиофилизатом испытуемой «СДЭм» вносят 1,0 мл растворителя (вода для инъекций); помещают флакон, содержащий полностью растворенную «СДЭм», в водяную баню на 30 мин (температура 56 ± 1 °С). Готовят рабочее разведение «СДЭм» (указано на этикетке), используя в качестве разбавителя «Питательную среду Игла МЕМ двойную». Готовят необходимое количество ростовой «Питательной среды Игла МЕМ двойной», содержащей 2% сыворотки плодов коров инактивированной.

9.2.2. Проведение реакции нейтрализации

Маркируют необходимое количество планшетов для микротитрования, вносят в соответствующие лунки планшета по 0,05 мл рабочего разведения испытуемого агента, содержащего по данным предшествующего титрования 100 (32-320) ТЦД₅₀. В каждые 2-4 лунки с испытуемым агентом вносят по 0,05 мл рабочего разведения «СДЭм» каждого типа, закрывают планшеты крышками и осторожно покачивают для перемешивания содержимого лунок. Планшеты помещают в СО₂ –инкубатор (5% СО₂ в газовой среде) на 1 час при 36 ± 1 °С. В период инкубирования готовят требуемый объем суспензий соответствующих индикаторных клеток ($1-2 \times 10^5$ клеток в 1,0 мл) в ростовой «Питательной среде Игла МЕМ двойной». Количество жизнеспособных клеток в суспензии определяют с помощью счетной камеры или используют для этого принятый коэффициент пересева клеток. Вносят по 0,1 мл суспензий индикаторных клеток в соответствующие лунки со смесями сыворотка-исследуемый агент, помещают панели в СО₂ –инкубатор (5% СО₂ в газовой среде) при 36 ± 1 °С.

Ежедневно в течение 5-7 дней оценивают состояние индикаторных клеток в лунках с помощью инвертированного микроскопа.

9.2.3. Контроль рабочего разведения испытуемого агента

Вносят в лунки четырех рядов планшета по 0,05 мл рабочего разведения исследуемого агента и три его последующих десятикратных разведений в «Питательной среде Игла МЕМ двойной» (не менее 2 лунок в каждом ряду). Вносят в те же лунки по 0,1 мл суспензии соответствующих клеток и по 0,05 мл «Питательной среды Игла МЕМ двойной». Помещают панели в CO₂ –инкубатор (5% CO₂ в газовой среде) при 36±1 °С. Ежедневно в течение 5-7 дней оценивают состояние индикаторных клеток с помощью инвертированного микроскопа.

9.2.4. Контроль качества индикаторных клеток

Вносят в лунки планшетов по 0,1 мл суспензии соответствующих индикаторных клеток (1-2х10⁵ в 1,0 мл) в ростовой «Питательной среде Игла МЕМ двойной». Вносят в те же лунки по 0,1 мл ростовой «Питательной среды Игла МЕМ двойной». Помещают панель в CO₂ –инкубатор (5% CO₂ в газовой среде) при 36±1 °С. Ежедневно в течение 5-7 дней оценивают состояние индикаторных клеток с помощью инвертированного микроскопа.

9.3. Учет результатов

Окончательный учет результатов проводят через 24 часа после стабилизации ЦПЭ в соответствующих лунках контроля рабочего разведения испытуемого агента. Титр вируса рассчитывают по формуле Кербера или методом Рида-Менча. *

* *Laboratory methods for the titration of live virus vaccines using cell culture techniques WHO. BLG/EPI/89.1.*

Пример результатов титрования приведен в таблице 3.

Таблица 3.

Разведения вируса	Количество лунок 8		Кумулятивные данные		Количество лунок с ЦПЭ (+) / количество оцениваемых лунок	%
	ЦПЭ (+)	ЦПЭ (-)	ЦПЭ (+)	ЦПЭ (-)		
10 ⁻¹	8	0	16	0	16/16	100,0
10 ⁻²	5	3	8	3	8/11	72,7
10 ⁻³	3	5	3	8	3/11	27,3
10 ⁻⁴	0	8	0	16	0/16	0

Расчет титра по формуле Кербера:

$$\lg \text{ККИД}_{50} = L - d (S - 0,5) \times \lg \text{фактора разведения, где}$$

L – отрицательный lg наименьшего используемого разведения вируса

d – интервал между разведениями в lg

S – суммарный % ЦПЭ в каждом разведении, поделенный на 100

(lg фактора разведения для данного примера титрования равен 1,0)

Числовое выражение титра: $-1 - \left[\frac{(100+72,7+27,3)}{100} - 0,5 \right] \times 1 = -1-1,5 = -2,5$

Антилогарифм -2,5 составляет 1:316, то есть 316 ККИД₅₀/0,1 мл.

Расчет титра методом Рида-Менча проводят суммируя показатель разведения вируса, вызывающего ЦПЭ $\geq 50\%$, с величиной поправки к этому показателю.

Расчет поправки к показателю разведения вируса:

$$\frac{\% \text{ ЦПЭ в разведении } > 50\% - 50\%}{\% \text{ ЦПЭ в разведении } \geq 50\% - \% \text{ ЦПЭ в разведении } \leq 50\%}$$

В приведенном примере поправка к фактору разведения (1,0) равна

$$\frac{72,7-50}{72,7-27,3} = 0,5$$

Расчет титра: lg разведения $\geq 50\%$ + поправка = $-2,0 + (-0,5) = -2,5$

Антилогарифм -2,5 составляет 1:316, то есть 316 ККИД₅₀/0,1 мл.

Результаты реакции нейтрализации признаются достоверными при соблюдении следующих условий:

- концентрация идентифицируемого вируса в рабочем разведении составляет 100 (32-320) ТЦД₅₀;

- отсутствуют изменения контрольных индикаторных клеток.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

10.1. Хранение

При температуре от 0 до 8 °С в холодильных камерах.

Изделия, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат.

10.2. Транспортирование

При температуре от 0 до 30 °С в течение не более 7 суток в картонных коробах всеми видами крытого транспорта.

Изделия, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

10.3. Срок годности

Срок годности изделия в упаковке изготовителя - 2 года.

11. ПРАВИЛА УТИЛИЗАЦИИ

Уничтожение отходов, использованных и неиспользованных компонентов изделия или изделий с истекшим сроком годности проводить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10.

При работе с возбудителями инфекции, относящимися к определенному классу патогенности, руководствоваться правилами безопасности в зависимости от класса патогенности микроорганизмов.

12. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ.

При соблюдении рекомендованного производителем способа транспортирования и хранения «СДЭм» обеспечиваются заявленные показатели качества и эксплуатационные характеристики в течение установленного срока годности изделия.

По вопросам, касающимся качества «СДЭм», следует обращаться во ФГБНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН», Россия.

По адресу: 108819, г. Москва, поселение Московский, посёлок Института полиомиелита, домовлад. 8, корп. 1, тел.: (495) 841-90-02; факс (495) 841-93-21.

«СОГЛАСОВАНО»
Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»



П.К. Варнавичус

Ген. Директор
ООО «ВАЙТЕЛ-МЕДЦЕНТР»

~~201*~~ год

Первый заместитель
генерального директора
ФГБНУ «ФНЦИРИП им.
М.П. Чумакова РАН»

А.Ю. Афонин

« 30 » января 20 18 года

Первый заместитель
генерального директора
ФГБНУ «ФНЦИРИП
им. М.П Чумакова РАН»

А.Ю. Афонин

октябрь 2017 г.



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ИН ВИТРО

**Сыворотки диагностические энтеровирусные моновалентные
сухие для реакции нейтрализации «СДЭм» по ТУ 9389-001-01895045-2011
(для потребителя)**

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Медицинское изделие Сыворотки диагностические энтеровирусные моновалентные сухие для реакции нейтрализации «СДЭм» (далее по тексту «СДЭм») предназначены для идентификации энтеровирусов до уровня серотипа.

1.2. Функциональное назначение

«СДЭм» - высокоэффективные диагностические реагенты, выявляющие и дифференцирующие энтеровирусы до уровня серотипа.

Метод диагностики качественный, основан на подавлении иммунными сыворотками цитопатического эффекта (ЦПЭ) энтеровирусов в индикаторных клетках.

2. ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Область применения «СДЭм» - эпидемиологические, клинические и иммунологические исследования.

3. ТРЕБОВАНИЯ К ПЕРСОНАЛУ, УЧАСТВУЮЩЕМУ В ВЫПОЛНЕНИИ ИССЛЕДОВАНИЙ

Предназначенный пользователь «СДЭм» – сотрудники республиканских, областных и городских центров гигиены и эпидемиологии (ЦГиЭ), а также научно-исследовательских учреждений и лабораторий соответствующего профиля, прошедшие необходимую профессиональную подготовку.

Потенциальные пользователи «СДЭм»: вирусологи, иммунологи, врачи-лаборанты и другие специалисты, участвующие в постоянно действующих программах по эпидемиологическому надзору и профилактике энтеровирусной инфекции на территории РФ.

«СДЭм» могут быть использованы в санитарно - профилактических и лечебно-профилактических учреждениях.

4. ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

Принцип действия «СДЭм» основан на образовании интактного комплекса между входящими в состав «СДЭм» типоспецифическими нейтрализующими антителами и энтеровирусом соответствующего типа. При проведении реакции нейтрализации ин витро визуальным показателем возникновения комплексов антиген-антитело служит отсутствие цитопатического эффекта (ЦПЭ) в индикаторных клетках. Тип «СДЭм», препятствующий развитию ЦПЭ, соответствует серотипу идентифицируемого энтеровируса. Результаты реакции нейтрализации регистрируются с помощью светового микроскопа.

5. ХАРАКТЕРИСТИКА «СДЭм»

«СДЭм» представляют собой лиофилизаты цельных поликлональных гипериммунных сывороток кроликов породы русская шиншилла или баранов к 38-ми цитопатогенным

энтеровирусам человека, возбудителям широко распространенных полиморфных по клиническим проявлениям заболеваний.

5.1. Состав «СДЭм»:

- сыворотки, специфичные к вирусу полиомиелита 1, 2, 3 типов;
- сыворотки, специфичные к вирусам Коксаки А 2, 4, 7, 9, 10;
- сыворотки, специфичные к вирусам Коксаки В 1, 2, 3, 4, 5, 6;
- сыворотки, специфичные к вирусам ЕСНО 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 16, 20, 21, 25, 27, 29, 30, 31, 33;
- сыворотки, специфичные к энтеровирусам 68, 69, 70, 71.

5.2. «СДЭм» выпускается в следующих вариантах исполнения:

а) 1 флакон в индивидуальной пачке с инструкцией по применению;

б) 5 комплектов по 10 флаконов в пачке с инструкцией по применению:

Комплект №1. По 4 флакона «СДЭм» к вирусам полиомиелита 1 и 3 типов; 2 флакона «СДЭм» к вирусу полиомиелита тип 2;

Комплект №2. По 2 флакона «СДЭм» к вирусам Коксаки А 2,4,7,9,10;

Комплект №3. По 2 флакона «СДЭм» к вирусам Коксаки В 1,2,5,6 и по 1 флакону «СДЭм» к вирусам Коксаки В 3,4;

Комплект №4. «СДЭм» к вирусам ЕСНО состоит из 2-х пачек и содержит в первой пачке - по 1 флакону «СДЭм» к вирусам ЕСНО 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 12; во второй пачке - по 1 флакону «СДЭм» к вирусам ЕСНО 13, 16, 20, 21, 25, 27, 29, 30, 31, 33;

Комплект №5. «СДЭм» к вирусам Энтеро 68, 69, 70, 71 состоит из одной пачки и содержит по 2 флакона к вирусам Энтеро 68, 69 и по 3 флакона «СДЭм» вирусам Энтеро 70, 71.

5.3. Аналитические характеристики

5.3.1. Аналитическая специфичность

Специфичность «СДЭм» обусловлена способностью сывороточных нейтрализующих анти-тел образовывать комплексы только со стимулировавшими их синтез энтеровирусами.

5.3.2. Аналитическая чувствительность

Чувствительность «СДЭм» измеряется нейтрализующими единицами (НЕ). Одна НЕ соответствует максимальному разведению «СДЭм», защищающему 50 % индикаторных клеток от 100 (32-320) ТЦД₅₀ гомотипичного вируса. В реакции нейтрализации энтеровирусов стандартно используют рабочие разведения «СДЭм», содержащие не менее 20 НЕ.

5.4. Диагностические характеристики

Изготовление «СДЭм» проводили с использованием в качестве иммуногенов только тех энтеровирусов, типоспецифичность которых была экспериментально подтверждена производителем с помощью референс-сывороток ВОЗ (препараты LBM, WHO или RIVM, Bilthoven, NL).

5.4.1. Диагностическая специфичность

Диагностическую специфичность оценивали по способности «СДЭм» нейтрализовать ЦПЭ, вызываемое в индикаторных клетках гомотипичными энтеровирусами.

Подлинность «СДЭм» устанавливали по результатам их взаимодействия с гетеротипичными энтеровирусами соответствующих таксономических групп.

5.4.2. Диагностическая чувствительность

Высокая диагностическая чувствительность реакции нейтрализации обеспечивается поликлональной природой «СДЭм», позволяющей взаимодействовать с различными антигенными детерминантами гомотипичных энтеровирусов.

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- ламинарный шкаф;
- CO₂ – инкубатор (37±1 °С);
- микроскоп инвертированный (увеличение 24÷250);
- баня водяная лабораторная с электроподогревом (до 100 °С);
- счетная камера (камера Горяева или аналогичные);
- пипетки градуированные стерильные вместимостью 1,0; 2,0; 5,0; 10,0 мл;
- планшеты для микротитрования плоскодонные 96-луночные с крышкой стерильные;
- микродозаторы одноканальные с переменным объемом (20-1000 мкл) и сменными наконечниками;
- флаконы с винтовой крышкой для культур клеток (рабочая поверхность 25 см², 75 см², 162 см²);
- питательная среда Игла MEM с двойным набором аминокислот и витаминов для культур клеток в комплекте с Л-глутамином («Питательная среда Игла MEM двойная»);
- культура клеток RD;
- культура клеток HEp-2-C;
- сыворотка крови плодов коров инактивированная.

7. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И РИСКИ ПРИМЕНЕНИЯ

7.1. «СДЭм» предназначены только для применения *in vitro*.

7.2. Класс потенциального риска применения «СДЭм» - 1.

7.3. При работе с исследуемыми материалами следует соблюдать правила техники безопасности в соответствии с СП 1.3.3118-13 Санитарно-эпидемические правила «Безопасность работы с микроорганизмами I-IV групп патогенности».

7.4. «СДЭм» не предназначены для совместного использования с другими медицинскими изделиями.

7.5. Противопоказаний и побочных действий при работе со «СДЭм» не выявлено.

Риски, связанные с применением «СДЭм» минимальные. Снижение рисков обеспечивается поддержанием необходимых условий хранения на складе готовой продукции и при транспортировании, уведомлением пользователя о том, что изделие предназначено только для профессионального применения квалифицированным персоналом с соблюдением необходимых мер по утилизации (уничтожению) и дезинфицированию в соответствии с требованиями эксплуатационной документации.

8. УСЛОВИЯ ПРИМЕНЕНИЯ

Для проведения стерильных работ с использованием «СДЭм» необходимо применение стерильных материалов и оборудования, обеспечивающего их асептические условия.

Не подлежат применению изделия с нарушенной целостностью укупорочных пробок или алюминиевых колпачков, при истекшем сроке годности, неправильном хранении.

9. ПРИМЕНЕНИЕ

9.1. Анализируемые образцы и пробоподготовка

Вид анализируемого материала: исследованию подлежат агенты с установленной или предполагаемой энтеровирусной природой, выделенные из клинических и/или секционных материалов, а также из объектов окружающей среды (пробы воды, почвы, пищевые продукты, смывы с предметов и т.п.). В диагностической реакции нейтрализации используют рабочие разведения анализируемых образцов, содержащие по результатам предшествующих титрований около 100 (32-320) ТЦД₅₀ в 0,05 мл.

9.2. Проведение исследования (анализа)

9.2.1. Подготовительные процедуры

Во флакон с лиофилизатом испытуемой «СДЭм» вносят 1,0 мл растворителя (вода для инъекций); помещают флакон, содержащий полностью растворенную «СДЭм», в водяную баню на 30 мин (температура 56 ± 1 °C). Готовят рабочее разведение «СДЭм» (указано на этикетке), используя в качестве разбавителя «Питательную среду Игла МЕМ двойную». Готовят необходимое количество ростовой «Питательной среды Игла МЕМ двойной», содержащей 2% сыворотки плодов коров инактивированной.

9.2.2. Проведение реакции нейтрализации

Маркируют необходимое количество планшетов для микротитрования, вносят в соответствующие лунки планшета по 0,05 мл рабочего разведения испытуемого агента, содержащего по данным предшествующего титрования 100 (32-320) ТЦД₅₀. В каждые 2-4 лунки с испытуемым агентом вносят по 0,05 мл рабочего разведения «СДЭм» каждого типа, закрывают планшеты крышками и осторожно покачивают для перемешивания содержимого лунок. Планшеты помещают в СО₂ –инкубатор (5% СО₂ в газовой среде) на 1 час при 36±1 °С. В период инкубирования готовят требуемый объем суспензий соответствующих индикаторных клеток (1-2х10⁵ клеток в 1,0 мл) в ростовой «Питательной среде Игла МЕМ двойной». Количество жизнеспособных клеток в суспензии определяют с помощью счетной камеры или используют для этого принятый коэффициент пересева клеток. Вносят по 0,1 мл суспензий индикаторных клеток в соответствующие лунки со смесями сыворотка-исследуемый агент, помещают панели в СО₂ –инкубатор (5% СО₂ в газовой среде) при 36±1 °С. Ежедневно в течение 5-7 дней оценивают состояние индикаторных клеток в лунках с помощью инвертированного микроскопа.

9.2.3. Контроль рабочего разведения испытуемого агента

Вносят в лунки четырех рядов планшета по 0,05 мл рабочего разведения исследуемого агента и три его последующих десятикратных разведений в «Питательной среде Игла МЕМ двойной» (не менее 2 лунок в каждом ряду). Вносят в те же лунки по 0,1 мл суспензии соответствующих клеток и по 0,05 мл «Питательной среды Игла МЕМ двойной». Помещают планшеты в СО₂ –инкубатор (5% СО₂ в газовой среде) при 36±1 °С. Ежедневно в течение 5-7 дней оценивают состояние индикаторных клеток с помощью инвертированного микроскопа.

9.2.4. Контроль качества индикаторных клеток

Вносят в лунки планшетов по 0,1 мл суспензии соответствующих индикаторных клеток (1-2х10⁵ в 1,0 мл) в ростовой «Питательной среде Игла МЕМ двойной». Вносят в те же лунки по 0,1 мл ростовой «Питательной среды Игла МЕМ двойной». Помещают панель в СО₂ –инкубатор (5% СО₂ в газовой среде) при 36±1 °С. Ежедневно в течение 5-7 дней оценивают состояние индикаторных клеток с помощью инвертированного микроскопа.

9.3. Учет результатов

Окончательный учет результатов проводят через 24 часа после стабилизации ЦПЭ в соответствующих лунках контроля рабочего разведения испытуемого агента. Тип «СДЭм», препятствующий развитию ЦПЭ, соответствует типу идентифицируемого энтеровируса.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

10.1. Хранение

При температуре от 0 до 8 °С в холодильных камерах.

Изделия, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат.

10.2. Транспортирование

При температуре от 0 до 30 °С в течение не более 7 суток в картонных коробах всеми видами крытого транспорта.

Изделия, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

10.3. Срок годности

Срок годности изделия в упаковке изготовителя - 2 года.

11. ПРАВИЛА УТИЛИЗАЦИИ

«СДЭм» по степени эпидемиологической и токсикологической опасности относятся к неопасным (класс А) по классификации отходов лечебно-профилактических учреждений. Утилизацию или уничтожение использованных и неиспользованных компонентов «СДЭм» с истекшим сроком годности проводить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10.

При работе с возбудителями инфекции, относящимися к определенному классу патогенности, руководствоваться правилами безопасности в зависимости от класса патогенности микроорганизмов.

12. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ.

При соблюдении рекомендованного производителем способа транспортирования и хранения «СДЭм» обеспечиваются заявленные показатели качества и эксплуатационные характеристики в течение установленного срока годности изделия.

По вопросам, касающимся качества «СДЭм», следует обращаться во ФГБНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН», Россия.

По адресу: 108819, г. Москва, поселение Московский, посёлок Института полиомиелита, домовлад. 8, корп. 1, тел.: (495) 841-90-02; факс (495) 841-93-21.

«СОГЛАСОВАНО»
Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»



П.К. Варнавичус



Ген. Директор
ООО «ЦИРМИ-МЕДЦЕНТР»
Выставитель ПК.

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 7 ЛИСТОВ
2017 год

Прошито и пронумеровано и
скреплено печатью
7 листа (ов)

Первый заместитель
генерального директора
ФГБНУ «ФНЦИРИП им.
М.П. Чумакова РАН»

А.Ю. Афонин

«30» января 2017 года

