УТВЕРЖДАЮ
Директор
УП «ХОП ИБОХ НАН Беларуси»

_____ В.В.Симирский
«03» 01 2023 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

ДИАГНОСТИКУМ «АНТИГЕН КАРДИОЛИПИНОВЫЙ ДЛЯ РЕАКЦИИ МИКРОПРЕЦИПИТАЦИИ»

ТУ РБ 02906029.011-98, изм. 5

РАЗРАБОТАНО
Ведущий инженер-технолог
УП «ХОП ИБОХ НАН Беларуси»

_____ Л.В.Ахрем
«03» 01 2023 г.

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

ИНСТРУКЦИЯ
ПО ПРИМЕНЕНИЮ ДИАГНОСТИКУМА «АНТИГЕН КАРДИОЛИПИНОВЫЙ ДЛЯ РЕАКЦИИ МИКРОПРЕЦИПИТАЦИИ»

1 НАЗНАЧЕНИЕ ДИАГНОСТИКУМА АКРМ

1.1 Диагностикум «Антиген кардиолипиновый для реакции микропреципитации» (далее по тексту – диагностикум АКРМ) предназначен для выявления антител к возбудителю сифилиса в активной плазме или инактивированной сыворотке крови человека.

2 ХАРАКТЕРИСТИКА И ПРИНЦИП РАБОТЫ ДИАГНОСТИКУМА АКРМ

2.1 Состав диагностикума АКРМ:

- антиген кардиолипиновый, 10 ампул по 2 мл;
- раствор холина хлорида, 2 флакона по 5 мл.

2.2 Диагностикум АКРМ рассчитан на проведение 1000 определений.

2.3 Продолжительность анализа 3 ч.

2.4 Принцип работы:

В антигенных структурах возбудителя сифилиса Treponema pallidum имеется липопротеиновый антиген, в ответ на который в организме больного формируются реагины, представляющие собой смесь антител классов M и G. Реагины появляются в сыворотке не леченых больных через (2-3) недели, а в спинномозговой жидкости через (4-8) недель после заражения. Антигенный комплекс, возникающий в спиртовом растворе кардиолипина, лецитина и холестерина, способен связываться с реагинами, что и регистрируется в реакции микропреципитации (выпадение хлопьев разной величины).

Реакцию проводят с плазмой крови или инактивированной сывороткой крови обследуемых лиц. Для постановки реакции кровь берут из пальца (для получения плазмы крови) или из вены (для получения сыворотки крови). Сыворотку крови перед использованием инактивируют при температуре $(56\pm1)^0$C в течение 30 мин.

Результаты реакций учитываются визуально (при освещении не ниже 300 люкс, на темном фоне) по образованию преципитатов.

3 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С ДИАГНОСТИКУМОМ АКРМ

3.1 При работе с диагностикумом АКРМ следует надевать спецодежду (халаты) и одноразовые резиновые перчатки, т.к. образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

3.2 Работы проводить с соблюдением мер предосторожности в соответствии с требованиями [1], [2]. В случае пролива сыворотки крови на

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

рабочие поверхности, необходимо проводить дезинфекцию в соответствии с требованиями [3].

3.3 Не рекомендуется располагать диагностикум АКРМ вблизи нагревательных приборов.

3.4 При работе с диагностикумом АКРМ рабочие места должны быть обеспечены приточно-вытяжной вентиляцией.

4 ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

4.1 Штатив для пробирок;

- пипетки полуавтоматические со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,05; 0,15; 2,0-10,0 мл;
- центрифуга с горизонтальным ротором, развивающая ускорение (1500-2000) g. Значение g определяется по формуле (1):

$$g = 1{,}118 \times 10^{-5} (\text{об/мин})^2 \times R \qquad (1),$$

где R – радиус ротора центрифуги, см;

- прибор для встряхивания;
- изотонический раствор натрия хлористого с массовой долей 0,9%;
- пробирки стеклянные вместимостью 10 мл с взаимозаменяемым конусом 14/23;
- стаканы стеклянные вместимостью 50 и 100 мл или колбы плоскодонные вместимостью 50 и 100 мл;
- планшеты из прозрачных полимерных материалов;
- термостат типа ТС-80 М2;
- лампа осветительная.

5 ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

5.1 Приготовление раствора холина хлорида с массовой долей 10 %.

В колбу вместимостью 50 мл внести 30 мл раствора натрия хлористого с массовой долей 0,9%, добавить 5 мл раствора холина хлорида. Раствор перемешать и хранить при температуре (2-8) °С не более 2 недель.

5.2 Приготовление осадка антигена кардиолипинового

ВНИМАНИЕ! При обнаружении в ампуле с антигеном кардиолипиновым кристаллов холестерина, необходимо произвести их растворение в термостате при температуре (37±1) °С.

В пробирку стеклянную внести 2 мл раствора натрия хлористого с массовой долей 0,9% и 2 мл антигена кардиолипинового. Смесь тщательно перемешать и поместить на 30 мин в темное место для формирования осадка. Для полного осаждения липидов, центрифугировать смесь в течение 15 мин на центрифуге типа ОПН-3 при 1500 об/мин. Надосадочную жидкость слить.

5.3 Приготовление антигенной эмульсии

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

К осадку антигена кардиолипинового (п. 5.2) добавить 7 мл раствора холина хлорида с массовой долей 10% (п. 5.1) и тщательно перемешать.

Полученная эмульсия сохраняет свою пригодность в течение (5-6) суток при хранении в закрытой посуде при температуре (2-8) °С в темном месте.

6 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

6.1 В лунки планшета внести по 0,15 мл (3 капли) нативной плазмы или инактивированной прогреванием в термостате (30 мин при температуре (56±1) °С) сыворотки крови пациентов.

6.2 В каждую лунку добавить по 0,05 мл (1 капле) антигенной эмульсии (п. 5.3).

ВНИМАНИЕ! Перед использованием эмульсию тщательно перемешать многократным переливанием из одной пробирки в другую в течение
2-3 мин.

6.3 Ингредиенты тщательно перемешать, путем встряхивания планшета на приборе для встряхивания (не менее 300 встряхиваний/мин), в течение 5 мин.

6.4 В каждую лунку добавить по 0,15 мл (3 капли) раствора натрия хлористого с массовой долей 0,9%, перемешать покачиванием планшета и оставить при температуре (18-25) °С в течение 5 мин.

7 УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

7.1 Результаты реакции учитывать невооруженным глазом над осветительной лампой при освещении не ниже 300 люкс.

7.2 Положительная реакция в виде выпадения хлопьев различной величины наблюдается при использовании активной плазмы или инактивированной сыворотки пациентов, больных сифилисом.

7.3 Отрицательная реакция в виде опалесценции наблюдается при исследовании активной плазмы или инактивированной сыворотки здоровых лиц.

7.4 При получении сомнительного результата (нечетко выраженный, еле заметный преципитат) рекомендуется повторить встряхивание планшета в течение 5 мин.

Ограничение метода реакции микропреципитации (РМП) при использовании диагностикума АКРМ.

ВНИМАНИЕ! При использовании теста РМП могут наблюдаться ложноположительные результаты при ряде соматических и инфекционных заболеваний, частота которых может составлять по данным литературы 2-3%. Тест РМП является отборочным и при получении положительного результата требует дополнительной проверки в одном или нескольких трепонемных тестах.

7.5 В образцах, давших положительную, или слабоположительную реакцию, возможно определение титра (полуколичественное определение).

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

Образец разводится физиологическим раствором в соотношении 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16. Титром антител в образце считается последнее разведение, в котором получена положительная, или слабоположительная реакция.

8 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ ДИАГНОСТИКУМА АКРМ

8.1 Диагностикум АКРМ должен храниться в упаковке изготовителя при температуре (10-25) °С в течение всего срока годности.

8.2 Для отбора и добавления компонентов рекомендуется использовать полуавтоматические пипетки со сменными наконечниками, аттестованные на точность по значению средней дозы и воспроизводимость результатов пипетирования.

8.3 Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению диагностикума АКРМ и квалифицированное проведение анализа.

8.4 Срок годности диагностикума АКРМ – 12 месяцев.

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

Библиография

[1] Санитарные нормы и правила «Требования безопасности при осуществлении работ с условно патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортировки», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 06.01.2017 г. №2

[2] Приказ МЗ РБ № 351 от 16.12.98г.
Сборник нормативных документов по проблеме ВИЧ/СПИД

[3] Приказ МЗ РБ № 165 от 25.11.2002 г.
О проведении дезинфекции и стерилизации в учреждениях здравоохранения

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