

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФБУН ГНЦ ПМБ



И.А. Дятлов

2020 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

**Набор реагентов для выявления антител к возбудителю туляремии в
сыворотке крови методом мембранно-иммунохроматографического анализа
«СЕРОТЕСТ-ТУЛЯРЕМИЯ»**

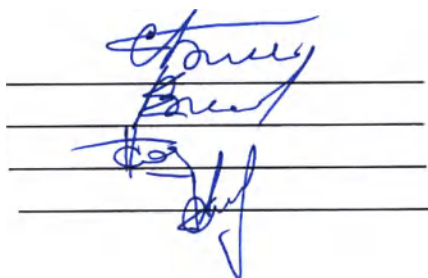
РАЗРАБОТЧИКИ:

Ведущий научный сотрудник

Ведущий научный сотрудник

Старший научный сотрудник

Младший научный сотрудник



С.Ф. Бикетов

Е.В. Баранова

П. В. Соловьев

А. А. Горбатов

Наименование медицинского изделия. Набор реагентов для выявления антител к возбудителю туляремии в сыворотке крови методом мембранно-иммунохроматографического анализа «СЕРОТЕСТ-ТУЛЯРЕМИЯ».

Производитель.

Полное наименование: Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Сокращенное наименование: ФБУН ГНЦ ПМБ.

Юридический адрес: 142279, Российская Федерация, Московская область, город Серпухов, рабочий поселок Оболенск, территория «Квартал А».

Почтовый адрес: 142279, Российская Федерация, Московская область, городской округ Серпухов, рабочий поселок Оболенск, территория «Квартал А», дом 24.

Адрес места производства: 142279, Российская Федерация, Московская область, город Серпухов, рабочий поселок Оболенск, территория «Квартал А», дом 10.

Электронная почта: info@obolensk.org, **сайт:** <http://www.obolensk.org>.

Тел./факс тел: (4967) 36-00-03, **факс:** (4967) 36-00-10.

1. Назначение

«СЕРОТЕСТ-ТУЛЯРЕМИЯ» предназначен для качественного выявления видоспецифических антител к возбудителю туляремии в сыворотке крови человека в формате мембранно-иммунохроматографического анализа. «СЕРОТЕСТ-ТУЛЯРЕМИЯ» используется при исследовании биологического материала для определения иммунного ответа у пациентов больных туляремией, а также у людей, вакцинированных живой туляремийной вакциной. Материалом для проведения служит сыворотка крови человека. Главное функциональное свойство - качественное выявление видоспецифических иммуноглобулинов к липополисахариду клеточной стенки туляремийного микроба методом мембранно-иммунохроматографического анализа.

Тип анализируемого образца. Материалом для проведения исследования служит сыворотка крови человека.

Специфическая патология, состояние или фактор риска, для обнаружения, определения или дифференцирования которого, предназначено медицинское изделие для диагностики *in vitro*. Подозрение на заболевание туляремии (текущее или в анамнезе), клинические признаки (повышение температуры, озноб, бубон и т.п.) указывающие на риск инфицирования туляремией, оценка иммунного статуса после вакцинации против туляремии.

Популяционные, демографические аспекты применения медицинского изделия.

Туляремия фиксируется во всем северном полушарии, особенно в скандинавии, США, Канаде, России, Китае. Реже в европейских странах. Возбудителем туляремии является грамотрицательная бактерия. Выделяют три клинически значимые формы из четырех подвидов туляремийного микроба. При этом их разделяют два типа: неарктический (Тип А), голарктический (Тип В). Возбудитель туляремии типа А высоковирулентен, и при несвоевременном лечении туляремия имеет высокую смертность. Инфицирование возможно во всех половозрастных группах населения. Болезнь может сопровождаться классическими симптомами, такими как лихорадка, вялость, боли в мышцах и иметь различные формы (язвенно-железную, железную, глазо-железную, рото-глоточную, кишечную, легочную, тифоидную).

В процессе формирования иммунного ответа в организме пациентов больных туляремией происходит образование и накопление специфических иммуноглобулинов к антигенам туляремийного микроба, в частности к липополисахариду клеточной стенки. У вакцинированных людей, также происходит образование и накопление специфических иммуноглобулинов к липополисахариду клеточной стенки.

Таким образом определение наличия видоспецифических иммуноглобулинов к липополисахариду *F.tularensis* является важной задачей при диагностике туляремии и контроля качества вакцинации. Согласно литературным данным, специфические иммуноглобулины IgA и IgM обнаруживается через 7 дней после появления симптомов, а IgG обнаруживается через 12 дней после появления симптомов.

Область применения - клиническая лабораторная диагностика *in vitro*. Тест используется в клинической лабораторной диагностике с целью определения антительного иммунного ответа к возбудителю туляремии.

Предупреждение

- Отрицательные результаты анализа, особенно в первые 12 дней после появления симптомов, не исключают заболевание туляремией.
- Полученные результаты анализа не должны использоваться в качестве единственного основания для диагностики или информирования о статусе инфекции.
- Возможна незначительная кросс-реактивность, связанная с прошлой или настоящей инфекцией пациента бруцеллезом, чумой, сибирской язвой.
- Отрицательный или нереактивный результат может возникнуть, если в тестируемом образце количество антител к возбудителю туляремии ниже предела обнаружения.

- Если симптомы сохраняются, а результат анализа является отрицательным, рекомендуется через несколько дней повторно обследовать пациента.

- Результаты, полученные с помощью «СЕРОТЕСТ-ТУЛЯРЕМИЯ», следует интерпретировать только в сочетании с клиническими данными и результатами других лабораторных исследований.

Потенциальные потребители медицинского изделия. «СЕРОТЕСТ-ТУЛЯРЕМИЯ» предназначен для профессионального применения в медицинских учреждениях и клиничко-диагностических лабораториях инфекционного профиля.

Профессиональный уровень потенциальных пользователей – врач клинической лабораторной диагностики, медицинский лабораторный техник.

К работе с «СЕРОТЕСТ-ТУЛЯРЕМИЯ» допускаются только медицинские работники, обученные методам иммунологической диагностики и правилам работы в клиничко-диагностической лаборатории в установленном порядке (СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности и возбудителями паразитарных болезней»).

2. Характеристика

В состав Набор реагентов «СЕРОТЕСТ-ТУЛЯРЕМИЯ» входит 1 тест в индивидуальной упаковке из материала комбинированного пленочного на основе фольги.

Форма комплектации «СЕРОТЕСТ-ТУЛЯРЕМИЯ» предназначена для проведения 1 исследования.

Каждый тест рассчитан на анализ 1 образца сыворотки крови.

2.1. Состав

Таблица 1- Комплект изделия

Порядковый номер	Компонент	Количество
1	Набор реагентов для выявления антител к возбудителю туляремии в сыворотке крови методом мембранно-иммунохроматографического анализа «СЕРОТЕСТ-ТУЛЯРЕМИЯ»	1
2	Инструкция	1
3	Паспорт качества	1

Таблица №2. Компоненты теста

Порядковый номер	Наименование компонента набора реагентов «СЕРОТЕСТ-ТУЛЯРЕМИЯ»	Количество, шт.
------------------	---	-----------------

Порядковый номер	Наименование компонента набора реагентов «СЕРОТЕСТ-ТУЛЯРЕМИЯ»	Количество, шт.
1	Пластиковая панель (в индивидуальной упаковке из материала комбинированного пленочного на основе фольги по 1 шт.) с круглой лункой (надпись «S») для добавления образца и с окошком для считывания результатов (надписи: «Т» и «С»). На панели имеется маркировка, указывающая сокращенное название теста – СЕРОТЕСТ-ТУЛЯРЕМИЯ. Инструкцией по применению.	1

2.2. Принцип анализа

Получение сыворотки крови.

Образец крови объемом 0,5 мл, полученный стандартным методом от пациента (МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории», МР «Забор, транспортировка, хранение клинического материала для ПЦР-диагностики» ЦНИИЭ МЗ РФ), оставляют при комнатной температуре на 30 мин для формирования сгустка. Необходимый объем сыворотки крови для проведения одного анализа составляет 10 мкл. Препарат сыворотки использовать в течение 2 часов. Полученную сыворотку до проведения анализа допускается хранить 5 суток при температуре 2-8 °С, или 1 год при температуре минус (18±2) °С. Не допускается повторное замораживание/размораживание сыворотки.

Проведение анализа.

1. Предварительно готовится разведение 1:10 сыворотки крови в фосфатно-солевом буфере. Для этого к 90 мкл фосфатно-солевом буфера добавляют 10 мкл анализируемой сыворотки.;

2. Вскрыть пакет, извлечь серологический тест, поместить на горизонтальной поверхности;

3. В круглую лунку теста вносят полученные 100 мкл образца.

ФБР в состав набора реагентов не входит (см. П.5 Дополнительные материалы и оборудование).

Регистрация и учет результатов

Учет результата провести через 20 минут (не ранее) в соответствии со схемой интерпретации результатов и указателем расположения тестовой (Т) и контрольной (С) полос на футляре теста.

3. Аналитические и функциональные характеристики

Аналитическая чувствительность теста по образцам сыворотки крови стандартной панели предприятия, содержащим антитела к возбудителю туляремии, составляет не менее 93% при условии соблюдения правил, указанных в разделах «Взятие, транспортирование и хранение исследуемого материала» и «Предварительная подготовка исследуемого материала».

Аналитическая специфичность теста по сывороткам стандартной панели предприятия, не содержащим антитела к возбудителю туляремии, составляет не менее 97% при условии соблюдения правил, указанных в разделах «Взятие, транспортирование и хранение исследуемого материала» и «Предварительная подготовка исследуемого материала». Перекрестное реагирование теста с образцами сывороток крови, которые содержат антитела к возбудителю чумы, бруцеллеза, сибирской язвы и с сыворотками крови условно-здоровых доноров отсутствует.

1. Диагностическая чувствительность экспресс-теста составляет 93% (90% ДИ: 83% - 98%).

2. Диагностическая специфичность экспресс-теста составляет 97% (90% ДИ: 89% - 100%).

Время учета результатов анализа составляет 20 мин при температуре анализируемых образцов и теста 18 - 25 °С.

Воспроизводимость. При постановке реакции с использованием теста установлена 100% межсерийная воспроизводимость между днями исследования, а также воспроизводимость анализа, проводимого тремя независимыми исполнителями.

Повторяемость. При постановке реакции с использованием теста установлена 100% внутрисерийная, внутрипостановочная и межпостановочная воспроизводимость.

4. Меры предосторожности

4.1. **Класс потенциального риска применения «СЕРОТЕСТ-ТУЛЯРЕМИЯ»** в соответствии с Приказом МЗ РФ № 4н от 06.06.2012 «Об утверждении номенклатурной классификации медицинских изделий» – 2б.

4.2. Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей серологические исследования биологического материала на наличие возбудителей инфекционных болезней, с соблюдением санитарно-эпидемиологических правил СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней» и СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

4.3. Тест предназначен для профессионального использования только для *in vitro* диагностики.

4.4. При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

- Температура в помещении лаборатории от 20 до 28°C, относительная влажность от 15 до 75%.

- Рассматривать исходные исследуемые образцы биологического материала как инфекционно-опасные.

- Использовать и менять при каждой операции одноразовые наконечники для автоматических дозаторов с фильтром. Одноразовую пластиковую посуду (пробирки, наконечники) необходимо сбрасывать в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующее средство, которое может быть использовано для обеззараживания медицинских отходов.

- Поверхности столов, а также помещения, в которых проводится постановка анализа, до начала и после завершения работ необходимо подвергать ультрафиолетовому облучению в течение 30 мин.

- Тест предназначен для одноразового применения (для проведения исследования одной пробы).

- Тест готов к применению согласно данной инструкции. Применять тест строго по назначению.

- К работе с тестом допускается только персонал, обученный методам серологической диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории в установленном порядке (СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней).

- Не использовать тест, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид теста не соответствует описанию.

- Не использовать тест, если не соблюдались условия транспортирования и хранения согласно инструкции.

- Не использовать тест по истечении срока годности.

- Использовать одноразовые неопудренные перчатки, лабораторные халаты, защищать глаза во время работы с образцами и тестами. Тщательно вымыть руки по окончании работы. Все операции проводятся только в перчатках для исключения контакта с организмом человека.

4.5. При использовании по назначению и соблюдении вышеперечисленных мер предосторожности «СЕРОТЕСТ-ТУЛЯРЕМИЯ» безопасен.

При использовании по назначению и соблюдении вышеперечисленных мер предосторожности контакт с организмом человека исключен. При аварийных ситуациях возможно следующее:

- раздражение слизистой оболочки глаз у чувствительных лиц,
- раздражение кожи у чувствительных лиц,
- аллергическая реакция,
- вред при вдыхании,
- вред при приеме внутрь.

В случае возникновения подобных симптомов необходимо обратиться за неотложной помощью.

5. Дополнительные материалы и оборудование

1. Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой от минус 24 до минус 16°С.
2. Штативы для пробирок объемом 1,5 мл и/или 5 мл (например, Axugen, Inc., США, или аналогичные).
3. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 100 мкл (например, Axugen, Inc., США, или аналогичные).
4. Автоматические дозаторы переменного объема 10-100 мкл (например, «Eppendorf Research Plus», Германия, или аналогичные).
5. Отдельный халат, шапочки, обувь и одноразовые перчатки по МУ 1.3.2569-09.
6. Одноразовые пластиковые контейнеры для сброса и инактивации материалов.
7. Емкость с крышкой для дезинфицирующего раствора.
8. 0,01М фосфатно-солевой буфер pH 7,2-7,6 (например, фирма «ПанЭко» кат. № р071, Россия, «ЭКО сервис», Россия, кат № В-600201 или аналогичные таблетки иных производителей для приготовления 0,01 М натрий-фосфатного буфера, pH 7,2-7,4).

6. Анализируемые образцы

6.1. Материалом для исследования служат:

-сыворотка крови человека.

6.2. Взятие, транспортирование и хранение исследуемого материала

Взятие, транспортирование и хранение исследуемого материала проводят согласно МУ 1.3.1877-04.

Допускается хранение образцов крови до проведения серологического исследования при температуре от 2 до 8 °С – не более 3 суток.

Допускается транспортирование крови при температуре от 2 до 8 °С в течение 1 суток.

ВНИМАНИЕ! Образцы крови не могут подвергаться замораживанию!

Допускается хранение образцов сыворотки крови до проведения серологического исследования:

- при температуре от 2 до 8 °С – не более 3 суток;
- при температуре от минус 20 °С и ниже – в течение 3 мес;
- при температуре не выше минус 68 °С – 24 мес.

Допускается транспортирование сыворотки крови при температуре от 2 до 8 °С в течение 1 суток.

ВНИМАНИЕ! Образцы сыворотки крови могут подвергаться замораживанию и оттаиванию не более 2 раз.

6.3. Интерферирующие вещества и ограничения по использованию проб исследуемого материала

Образцы сыворотки крови нельзя подвергать термоинактивированию выше 56 °С.

Каждый образец необходимо отбирать новым одноразовым наконечником и хранить в условиях, предотвращающих бактериальный пророст.

Образцы с выраженным бактериальным проростом, с выраженным гемолизом и гиперлипидемией могут дать неправильный результат.

Образцы сыворотки крови, содержащие агрегаты или осадок, необходимо осветлять центрифугированием в течение 15 мин при 1600 g.

Наличие в образцах сыворотки крови человека антибиотиков, применяемых для терапии пневмоний (например, стрептомицин, гентамицин, доксициклин), не влияет на диагностическую эффективность теста. Наличие в образцах сыворотки крови человека гемоглобина, билирубина, триглицеридов, холестерина не влияет на диагностическую эффективность теста.

Сведения о других интерферирующих веществах при условии соблюдения правил взятия и предварительной подготовки исследуемого материала, указанных в инструкции, отсутствуют.

7. Проведение исследования

ВНИМАНИЕ! Перед использованием все компоненты «СЕРОТЕСТ-ТУЛЯРЕМИЯ» следует выдержать 15 мин при комнатной температуре.

ВНИМАНИЕ! После вскрытия индивидуальной упаковки тест хранить в плотно закрытом пакете в сухом месте при температуре от 2 до 25 °С не более 1 суток. Тест не замораживать!

ВНИМАНИЕ! Перед использованием тест в упаковке следует выдержать 15 мин при

комнатной температуре.

Проведение анализа.

1. Предварительно готовится разведение 1:10 сыворотки крови в фосфатно-солевом буфере. Для этого к 90 мкл фосфатно-солевом буфера добавляют 10 мкл анализируемой сыворотки.;
2. Вскрыть пакет, извлечь серологический тест, поместить на горизонтальной поверхности;
3. В круглую лунку теста вносят полученные 100 мкл образца.
4. Учет результата провести через 20 минут (не ранее) в соответствии со схемой интерпретации результатов и указателем расположения тестовой (Т) и контрольной (С) полос на футляре теста.

8. Учет и интерпретация результатов

Учет результата провести в соответствии со схемой интерпретации результатов и указателем расположения тестовой «Т» и контрольной «С» линии на пластиковой панели теста (таблица 1, рисунок 1).

Таблица 1 - Схема интерпретации результата

Положительный результат	Наличие видимых глазом двух окрашенных линий «Т» и «С»
Отрицательный результат	Наличие только одной окрашенной линии «С»
Тест не работает	Отсутствие окрашенной линии «С»
Тест не работает	Отсутствие окрашенных линий «Т» и «С»

ВНИМАНИЕ! Не следует учитывать интенсивность окраски линий при интерпретации результата.



Рисунок 1 – Иллюстрация к схеме интерпретации результата

Образец считают **отрицательным** на наличие видоспецифических иммуноглобулинов к возбудителю туляремии, если отсутствует окрашенная линия «Т» и имеется окрашенная линия «С».

Образец считают положительным на наличие видоспецифических иммуноглобулинов к возбудителю туляремии, если имеются видимые глазом две окрашенные линии «Т» и «С».

Анализ считают невалидным в случае отсутствия окрашивания линии «С». В этом случае его следует повторить.

9. Утилизация

9.1. Серии медицинского изделия «СЕРОТЕСТ-ТУЛЯРЕМИЯ», пришедшие в негодность, серии с истекшим сроком годности, неиспользованные тесты, арбитражные образцы подлежат уничтожению в соответствии с СанПиНом 2.1.7.2790-10 как отходы, принадлежащие к классу «А» - (эпидемиологически безопасные отходы, приближенные по составу к твердым бытовым отходам), любым способом, предотвращающим повторное использование. Упаковка после полного израсходования содержимого, подлежит утилизации в соответствии с СанПиНом 2.1.7.2790-10 как отходы, принадлежащие к классу «А».

9.2. Использованные тесты, упаковку, биологический материал, включая материалы, инструменты и предметы, загрязненные биологическим материалом, следует удалять в соответствии с требованиями МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения», СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами. Отходы после проведенных реакций относятся к классу В.

9.3. Обеззараживанию подвергаются отходы, образовавшиеся в процессе предварительной подготовки проб и проведения исследования, а также неиспользованный исследуемый материал. Обеззараживание осуществляют в соответствии с п.3.2. приложения 5 МУ 1.3.2569-09.

9.4. Утилизация (уничтожение) осуществляется предприятиями, имеющими соответствующую лицензию, на специально оборудованных площадках, полигонах и в помещениях с соблюдением обязательных требований нормативной документации по охране окружающей среды. Персонал, осуществляющий уничтожение изделий, должен соблюдать правила безопасности проведения способа уничтожения.

9.5. Обращение с отходами следует выполнять согласно схеме, принятой в конкретной медицинской организации, использующей в своей работе медицинские изделия. Данная схема разрабатывается в соответствии с требованиями вышеуказанных санитарных правил и утверждается руководителем организации. Ответственность за уничтожение изделия несут субъекты обращения изделий.

10. Срок годности, условия хранения, транспортирования и эксплуатации изделия

«СЕРОТЕСТ-ТУЛЯРЕМИЯ» должен храниться при температуре 2-10°C в заводской упаковке. После вскрытия индивидуальной упаковки, тест можно использовать в течение 1 суток. Тест не замораживать!

«СЕРОТЕСТ-ТУЛЯРЕМИЯ», хранившийся с нарушением регламентированного режима, с истекшим сроком годности и в поврежденной упаковке применению не подлежит!

«СЕРОТЕСТ-ТУЛЯРЕМИЯ» транспортируют всеми видами крытого транспорта при температуре хранения. Допускается транспортирование при температуре 2-25 °С в срок не более 7 суток.

«СЕРОТЕСТ-ТУЛЯРЕМИЯ», транспортируемый с нарушением регламентированного режима, применению не подлежит!

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

Срок годности Набор реагентов для выявления антител к возбудителю туляремии в сыворотке крови методом мембранно-иммунохроматографического анализа «СЕРОТЕСТ-ТУЛЯРЕМИЯ»- 12 мес.

11. Гарантийные обязательства изготовителя

Изготовитель гарантирует соответствие основных параметров и характеристик медицинского изделия Набор реагентов для выявления антител к возбудителю туляремии в сыворотке крови методом мембранно-иммунохроматографического анализа «СЕРОТЕСТ-ТУЛЯРЕМИЯ» по ТУ 21.20.23-334-78095326-2020, требованиям, указанным в технической и эксплуатационной документации, в течение указанного срока годности при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и применения.

Рекламации на качество теста направлять по адресу: 142279, Российская Федерация, Московская область, городской округ Серпухов, рабочий поселок Оболенск, территория «Квартал А», дом 24, e-mail: info@obolensk.org.

При выявлении побочных действий, не указанных в инструкции по применению теста, нежелательных реакций при его использовании, фактов и обстоятельств, создающих угрозу жизни и здоровью граждан и медицинских работников при применении и эксплуатации теста, рекомендуется направить сообщение по адресу, указанному выше, и

в уполномоченную государственную регулируемую организацию (в РФ – Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения) в соответствии с действующим законодательством.

Пронумеровано, прошито и скреплено

печатью.

14

лист

Директор ФБУН ГНЦ ПМБ:



И. А. Дятлов