

«СОГЛАСОВАНО»

Директор
ФГБНУ НИИВС

им. И.И. Мечникова

«07» 11 2022 г.



«УТВЕРЖДАЮ»

Главный специалист-эксперт

по направлению МИБП

Управления по регистрации

АО «НПО «Микроген»

по доверенности

«01» 11 2022 г.

О.М. Волощук

2022 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинского изделия

Набор реагентов Диагностикум риккетсиозный Тифи для РСК

по ТУ 21.10.60 -156-20401675-2022

Регистрационное удостоверение № ФСР 2012/13114

НАЗНАЧЕНИЕ

Медицинское изделие для диагностики *in vitro* предназначено для серологической диагностики эндемического (крысиного) сыпного тифа в реакции связывания комплемента (РСК).

Функциональное назначение - вспомогательное средство в диагностике эндемического (крысиного) сыпного тифа.

Показания к применению изделия в соответствии с его назначением.

Противопоказания для применения изделия согласно инструкции – отсутствуют.

ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗДЕЛИЯ

СОСТАВ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

Компонент	Количество
Диагностикум риккетсиозный Тифи для РСК	10 ампул, лиофилизат из 0,5 мл
Сыворотка диагностическая к риккетсиям Тифи для РСК	3 ампулы, лиофилизат из 0,1 мл

Принадлежности.

Скарификатор ампульный – 1 шт.

Характеристика компонентов изделия

1. Диагностикум риккетсиозный Тифи для РСК представляет собой антигенный комплекс, выделенный методом эфирной обработки из риккетсий Тифи вирулентного штамма «Исаханян», выращенных в желточных оболочках развивающихся куриных эмбрионов и инактивированных фенолом, лиофилизированный из объема 0,5 мл.

Консервант – фенол в конечной концентрации 0,5 %.

Порошок или аморфная масса от желтовато-белого до коричневатого-розового цвета.

2. Сыворотка диагностическая к риккетсиям Тифи для РСК получена из крови продуцентов (морских свинок) после заражения вирулентной культурой риккетсий Тифи, инактивированная, лиофилизированная из объема 0,1 мл.

Стабилизатор – сахароза в конечной концентрации 2 %.

Аморфная масса в виде таблетки от желтовато-белого до коричневатого-розового цвета.

Используют в качестве положительного контрольного образца при постановке РСК.

ПРИНЦИП АНАЛИТИЧЕСКОГО МЕТОДА И ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

Диагностикум выявляет комплементсвязывающие антитела к риккетсиям группы сыпного тифа в РСК.

ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Изделие предназначено для лабораторной диагностики, для однократного применения по назначению.

Комплектация: Диагностикум риккетсиозный Тифи для РСК, лиофилизированный из объема 0,5 мл - 10 ампул; сыворотка диагностическая к риккетсиям Тифи для РСК, лиофилизирован-

ная из объема 0,1 мл - 3 ампулы, скарификатор ампульный – 1 шт. в пачке из картона с инструкцией по применению, паспорт в комплекте поставки.

Целевой анализит - комплементсвязывающие антитела к риккетсиям Тифи.

Вид анализа полуколичественный. Изделие рассчитано на проведение 30 анализов в пробирках.

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

Пользователями изделия могут быть специалисты бактериологических лабораторий медицинских учреждений с высшим и средним специальным образованием, прошедшие специальную подготовку и допущенные к работе с патогенными микроорганизмами в соответствии с СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Набор реагентов выявляет комплементсвязывающие антитела к риккетсиям группы сыпного тифа.

Специфичность. Диагностикум должен образовывать специфические комплексы, вызывающие задержку гемолиза, с сывороткой диагностической к риккетсиям Тифи для РСК до его титра; с сывороткой диагностической к риккетсиям Провачека для РСК на 1–2 разведения ниже его титра; не должен реагировать с сывороткой диагностической к коксииеллам Бернета; не должен обладать антикомплементарностью.

Сыворотка должна образовывать специфические комплексы, вызывающие задержку гемолиза, с диагностикумом риккетсиозным Тифи для РСК до её титра; с диагностикумом риккетсиозным Провачека для РСК на 1–2 разведения ниже её титра; не должна реагировать с диагностикумом коксииеллезным Бернета для РСК; не должна обладать антикомплементарностью

Специфическая активность

Специфический титр в РСК диагностикума должен быть не ниже разведения 1:16

Специфический титр сыворотки диагностической к риккетсиям Тифи для РСК должен быть не ниже разведения 1:160.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С ИЗДЕЛИЕМ

Класс потенциального риска применения: 2 б.

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 морских свинок. Сыворотка крови морских свинок, используемая в производстве, получена от животных, прошедших ветеринарный контроль и находящихся под наблюдением специалиста.

Диагностикум не содержит живых риккетсий Тифи.

Входящие в состав набора компоненты инаktivированы. Однако, исследуемые образцы, сточные растворы, оборудование и материалы, находящиеся с ними в контакте, представляют собой потенциально инфицированный материал, и обращаться с ним следует в соответствии с требованиями ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности» и СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

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

- работать с применением индивидуальных средств защиты (защитной одежды, одноразовых резиновых перчаток, шапочки, респиратора (маски));
- в случае пролива образцов и рабочих растворов на рабочие поверхности и по окончании работы, необходимо проводить дезинфекционную обработку с использованием дезинфицирующих средств, 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;
- при проведении анализа не принимать пищу, напитки и не курить, после работы тщательно вымыть руки.

Сточные растворы, пробы, реагенты биологического происхождения и образующиеся отходы перед утилизацией, а также использованные инструменты и лабораторную посуду следует обеззараживать в соответствии с СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» (приложение 2 «Обеспечение проведения обеззараживания при осуществлении работ с ПБА» таблица 6).

Утилизация изделий, пришедших в негодность, изделий с истекшим сроком годности, обеззараженных сточных растворов, проб, реагентов биологического происхождения и отходов осуществляется в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».

СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

МЕРЫ ПО СНИЖЕНИЮ РИСКОВ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ИЗДЕЛИЯ

Объективные результаты анализа гарантируются при выполнении следующих условий:

- строго соблюдать настоящую инструкцию по применению;
- соблюдать условия хранения и транспортирования изделия. Изделия, транспортированные и хранившиеся с нарушением температурного режима, применению не подлежат;
- не использовать изделие с истёкшим сроком годности;
- не использовать изделие при отсутствии на его упаковке соответствующей маркировки, нарушении целостности внутренней упаковки (ампулы).

ОБОРУДОВАНИЕ, МАТЕРИАЛЫ И РЕАГЕНТЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С ИЗДЕЛИЕМ:

- комплемент сухой (АО «НПО «Микроген»);
- сыворотка диагностическая гемолитическая жидкая (АО «НПО «Микроген»);
- дефибринированная свежая кровь барана;
- пипетки стеклянные градуированные 2 класса точности вместимостью 10; 2; 1 мл;
- груша резиновая или спринцовка №1;
- трубка медицинская резиновая соединительная тип 6, размер 5,0 x 2,0 мм;
- микропипетки стеклянные градуированные вместимостью 0,2; 0,1 мл или пипетки автоматические одноканальные с изменяющимся объемом;
- натрия хлорида раствор 0,9 %;
- маркер спиртовой или карандаш по стеклу;
- штативы для пробирок полимерные;
- пробирки химические центрифужные;
- пробирки химические;
- термобаня (инактиватор), инактиватор сывороток (56 ± 1) °C;
- термостат (37 ± 1) °C;
- холодильник бытовой (2 – 8) °C;
- центрифуга настольная (3000 об/мин).

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Тип анализируемого образца – сыворотка крови человека.

Все исследуемые образцы должны быть промаркированы (идентифицированы).

Подготовка исследуемой сыворотки

1. Инактивирование сыворотки: нативную сыворотку выдерживают на водяной бане при температуре (56 ± 1) °C в течение (30 ± 2) мин. Допускается хранение инактивированной сыворотки при температуре от 2 до 8 °C в течение 3 суток.

ПОДГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ

Содержимое ампулы с диагностикумом растворяют в натрия хлорида растворе 0,9 % в объеме, указанном на ампуле, получая его рабочее разведение.

Готовят рабочее разведение сыворотки диагностической гемолитической жидкой, соответствующее её утроенному титру. Например, при титре 1:1200 к 0,1 мл гемолитической сыворотки добавляют 39,9 мл натрия хлорида раствора 0,9 % (разведение 1:400).

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. Определение рабочей дозы комплемента

1.1. Титрование комплемента для основного опыта осуществляют непосредственно перед его использованием.

1.2. Готовят 3 % взвесь эритроцитов крови барана: свежую (срок хранения при температуре $(5\pm 3)^\circ\text{C}$ не более 7 суток) дефибринированную кровь барана отмывают натрия хлорида раствором 0,9 % путем центрифугирования при (3000 ± 150) оборотов в минуту в течение 10 минут не менее трех раз. Надосадочную жидкость удаляют. К 3 мл осадка эритроцитов добавляют 97 мл натрия хлорида раствора 0,9 %. Приготовленную 3 % взвесь эритроцитов барана используют в течение 1 сут. При наличии гемолиза эритроциты барана к употреблению не пригодны.

1.3. Готовят гемолитическую систему: смешивают равные объемы 3 % взвеси эритроцитов барана и рабочего разведения гемолитической сыворотки. Гемолитическую систему выдерживают при температуре $(36-38)^\circ\text{C}$ в течение $(28-32)$ мин.

1.4. Готовят разведение комплемента 1:10 в натрия хлорида растворе 0,9 %. Для этого содержимое ампулы растворяют в 10 мл натрия хлорида раствора 0,9 %.

1.5. В ряд из 10 пробирок микропипеткой отмеряют от 0,01 до 0,1 мл комплемента, разведенного 1:10.

1.6. Доводят объём в каждой пробирке натрия хлорида раствором 0,9 % до 0,6 мл.

1.7. В каждую пробирку добавляют по 0,4 мл гемолитической системы.

1.8. Перемешивают содержимое пробирок встряхиванием до получения гомогенной взвеси эритроцитов. Пробирки выдерживают в термостате при температуре $(36-38)^\circ\text{C}$ в течение $(28-32)$ мин.

1.9. Результаты реакции учитывают сразу после выдержки и обозначают крестами:

- ++++ - отсутствие гемолиза - жидкость над осадком эритроцитов прозрачна и не окрашена;
 - +++ - следы гемолиза - жидкость над осадком эритроцитов слегка окрашена в розовый цвет;
 - ++ - ясный гемолиз - жидкость над осадком красноватого цвета, значительный осадок на дне пробирки;
 - +
 -
- +
- почти полный гемолиз - жидкость красного цвета, незначительный осадок эритроцитов на дне пробирки;
 - - полный гемолиз - осадка на дне пробирки нет (красная «лаковая» жидкость)

Пример титрования комплемента

Номер пробирки	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Комплемент в разведении 1:10, мл	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09	0,1
Натрия хлорида раствор 0,9 %, мл	0,59	0,58	0,57	0,56	0,55	0,54	0,53	0,52	0,51	0,5
Гемолитическая система, мл	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Результат	4+	3+	2+	2+	1+	-	-	-	-	-

За одну единицу комплемента принимают его количество, содержащееся во второй пробирке с полным гемолизом (в данном случае 0,07 мл комплемента в разведении 1:10, что соответствует 0,007 мл неразведённого комплемента).

РСК проводят как при температуре (2–8) °С в течение (18–20) ч («холодное» связывание), так и при температуре (36–38) °С в течение (55–65) мин («горячее» связывание).

Рабочая доза комплемента при «холодном» связывании составляет две единицы, при «горячем» связывании – одну единицу комплемента.

2. Расчет необходимого количества комплемента

Реакцию ставят в общем объёме 1 мл:

- 0,2 мл разведенной исследуемой сыворотки;
- 0,2 мл диагностикума в рабочем разведении;
- 0,2 мл комплемента в рабочем разведении;
- 0,4 мл гемолитической системы.

Пример расчёта необходимого количества комплемента для постановки реакции методом «холодного» связывания: в приведённом выше примере 2 единицы комплемента соответствуют $0,007 \text{ мл} \times 2 = 0,014 \text{ мл}$ неразведенного комплемента. Для постановки реакции на 100 пробирках необходимо взять $0,014 \text{ мл} \times 100 = 1,4 \text{ мл}$ неразведенного комплемента. При этом количество натрия хлорида раствора 0,9 %, которое должно быть добавлено к данному объёму комплемента, составит $0,2 \text{ мл} \times 100 - 1,4 \text{ мл} = 18,6 \text{ мл}$. Таким образом, общий объём комплемента в рабочем разведении на 100 пробирок реакции составит 20 мл.

Для постановки реакции методом «горячего» связывания на 100 пробирок необходимо взять $0,007 \text{ мл} \times 100 = 0,7 \text{ мл}$ неразведенного комплемента и развести его в 19,3 мл натрия хлорида раствора 0,9 %.

3. Постановка РСК для серологической диагностики эндемического сыпного тифа.

3.1. В пробирках готовят последовательные двукратные разведения от 1:10 до 1:1280 исследуемых инактивированных сывороток на натрия хлорида растворе 0,9 % в объёме 0,2 мл.

3.2. В каждую пробирку с разведениями сывороток добавляют 0,2 мл диагностикума в рабочем разведении.

3.3. В каждую из этих пробирок добавляют 0,2 мл комплемента в рабочем разведении.

3.4. Реакцию сопровождают следующим контролем:

3.4.1. Контроль соответствия заявленного титра диагностической сыворотки, выпускаемой в комплекте с диагностикумом. Содержимое ампулы регидратируют в 1 мл натрия хлорида раствора 0,9%, получая разведение сыворотки 1:10. В пробирках готовят последовательные двукратные разведения сыворотки от 1:10 до 1:320 (при титре 1:160) или от 1:10 до 1:640 (при титре 1:320) в объеме 0,2 мл. В каждую пробирку с разведениями диагностической сыворотки добавляют 0,2 мл диагностикума в рабочем разведении и 0,2 мл комплемента в рабочей дозе.

3.4.2. Контроль исследуемых и диагностической сывороток на антикомплемментарность: к 0,2 мл минимального разведения (1:10) каждой сыворотки добавляют 0,2 мл натрия хлорида раствора 0,9 % и 0,2 мл комплемента в рабочем разведении.

3.4.3 Контроль диагностикума на антикомплемментарность: к 0,2 мл диагностикума в рабочем разведении добавляют 0,2 мл натрия хлорида раствора 0,9 % и 0,2 мл комплемента в рабочем разведении.

3.4.4. Контроль правильности рабочей дозы комплемента: в три пробирки вносят 0,2 мл, 0,1 мл и 0,05 мл комплемента в рабочем разведении и 0,4 мл, 0,5 мл и 0,55 мл натрия хлорида раствора 0,9 % соответственно.

3.4.5. Контроль гемолитической системы: в пробирку наливают 0,6 мл натрия хлорида раствора 0,9 %.

3.5. Содержимое пробирок перемешивают встряхиванием и выдерживают при температуре (2–8) °C в течение (18–20) ч («холодное» связывание) или при температуре (36–38) °C в течение (55–65) мин («горячее» связывание), после чего в каждую пробирку добавляют 0,4 мл гемолитической системы, предварительно прогретой в течение (28–32) мин при температуре (36–38) °C. Содержимое пробирок снова перемешивают встряхиванием и выдерживают при температуре (36–38) °C в течение (20–30) мин, ориентируясь на завершение реакции в пробирках контроля рабочей дозы комплемента: в первых двух пробирках должен быть полный гемолиз (–), в третьей пробирке – задержка гемолиза не менее чем +++.

Регистрация и учет результатов.

Результаты реакции учитывают визуально через 1 ч после выдержки при комнатной температуре. Реакцию считают достоверной, если в контроле реакции получены следующие результаты:

- в контроле диагностикума, исследуемых и диагностической сывороток на антикомплемментарность – полный гемолиз (–);
- в контроле диагностической сыворотки на соответствие заявленному титру задержка гемолиза до заявленного титра не менее чем ++;
- в контроле гемолитической системы задержка гемолиза ++++.

За титр исследуемой сыворотки принимают её максимальное разведение, дающее задержку гемолиза с рабочим разведением диагностикума не менее чем ++. Диагностическим титром исследуемой сыворотки является положительная реакция с разведения 1:160.

Интерпретация результатов.

При заболевании эндемическим сыпным тифом РСК становится положительной со 2-ой недели болезни в разведении сыворотки 1:160 – 1:320, максимальных величин комплементсвязывающие антитела достигают на 3-ей неделе заболевания (1:640 – 1:1280).

При серодиагностике эндемического сыпного тифа необходимо исследование парных сывороток, полученных на 5 – 10 и 15 – 20 сутки заболевания.

Диагностическим титром при однократном исследовании сывороток больных является положительная реакция сыворотки в разведении 1:160.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ ИЗДЕЛИЯ

Транспортирование всеми видами крытого транспорта при температуре от 2 до 8 °С.

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 изделия – 5 лет со дня приемки. Изделие с истекшим сроком годности применению не подлежит.

ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

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

Рекламации по вопросам, касающимся качества и обращения медицинского изделия 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, ул. 1-я Дубровская, д. 15, строение 2, тел. (495) 710-37-87, e-mail: info@microgen.ru и в адрес производства: Россия, 614089, Пермский край, г. Пермь, ул. Братская, д. 177, тел. (342) 281-94-96.

Взамен инструкции утвержденной 16.06.2020 г.

Прошито, пронумеровано и
скреплено печатью
листа(ов)



В.С.

КОПИЯ ВЕРНА ПРЕДСТАВИТЕЛЬ
АО «НПО МИКРОГЕН»
ПО ДОСТОВЕРНОСТИ
ОМ ВОЛК