

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ООО «БиоХолд»

И.В. Радюшкин
« 20 » 03 2024 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

**Диагностикум для выявления и полуколичественного определения
агглютинирующих антител к возбудителю паракоклюша в реакции агглютинации
«Диагностикум паракоклюш - РА»
по ТУ 21.20.23-012-96299156-2021**

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Диагностикум для выявления и полуколичественного определения агглютинирующих антител к возбудителю паракоклюша в реакции агглютинации «Диагностикум паракоклюш - РА» предназначен для определения агглютинирующих антител к возбудителю паракоклюша в реакции агглютинации в сыворотке крови человека.

Диагностикум служит основным средством по оценке наличия иммунитета и выявлению лиц, подлежащих иммунизации. Применение медицинского изделия не зависит от популяционных и демографических аспектов. Для диагностики *in vitro*.

1.2. Паракоклюш – острое инфекционное заболевание, вызываемое *Bordetella parapertussis*, передающееся воздушно-капельным путем, с ведущим клиническим симптомом – коклюшеподобный кашель. Этиология. Возбудитель паракоклюша – грамотрицательная коккобактерия. Имеет антигенное сходство с коклюшным микробом, однако не вырабатывает экзотоксины. Эпидемиология. Источник инфекции – больной, реже бактерионоситель. Путь передачи – воздушно-капельный. Индекс контагиозности – 40%. Патогенез аналогичен коклюшу. Но *Bordetella parapertussis* не выделяет лимфоцитозстимулирующего фактора, чем объясняется отсутствие тяжелых форм, специфических осложнений и гематологических сдвигов. Классификация. По типу: 1. типичные 2. атипичные По тяжести: 1. легкая 2. среднетяжелая Критерии тяжести – частота и характер кашля. По течению: 1. гладкое 2. негладкое – с осложнениями – с наложением вторичной инфекции.

По морфологическим и культуральным признакам паракоклюш близок к возбудителю коклюша. К питательным средам менее требовательный, чем возбудитель коклюша. Образующиеся колонии имеют серый цвет с приподнятым центром. Паракоклюшем чаще болеют дети 3-6 лет. Инкубационный период при паракоклюше составляет 1-2 недели. Клинически паракоклюш проявляется как легкая форма коклюша. Заболевание сопровождается ринитом, гиперемией зева, субфебрильной температурой, кашлем. Постановка диагноза возможна лишь при помощи микробиологических методов исследования. Взятие материала и лабораторная диагностика проводится так же, как при коклюше.

Диагностике заболевания способствует проведение реакции агглютинации с паракоклюшным диагностикумами, представляющие собой гомогенную взвесь обезвреженных формалином паракоклюшных (35 млрд. в 1 мл) микробов. Диагностикум позволяют выявлять антитела в сыворотке крови больных людей, переболевших или

вакцинированных лиц. Коклюш и паракоклюш – два самостоятельных заболевания. Перекрестного иммунитета коклюш и паракоклюш не дают. Дети, переболевшие коклюшем, могут заболеть паракоклюшем и наоборот.

Средами для культивирования возбудителя паракоклюша являются казеиново-угольный агар (КУА), картофельно-глицериновый агар и др. Кровь и активированный уголь являются сорбентами метаболитов (ненасыщенных жирных кислот, сульфидов, перекисей), накапливающихся в процессе роста микробных клеток. Антибиотики препятствуют размножению посторонней микрофлоры. На КУА *B. pertussis* на 3-4 день образует гладкие выпуклые колонии диаметром около 1 мм, блестящие, серовато-кремового цвета и вязкой консистенции, напоминающие капельки ртути или жемчужины. Колонии паракоклюшных бактерий на КУА образуются на 2-3 день.

Реакция агглютинации (РА) с антигенами диагностикума паракоклюшного заключается в обнаружении в исследуемой сыворотке специфических антител. Исследования производят на 2-3-й неделе заболевания, когда в крови больных появляются специфические антитела. Результаты РА имеют диагностическое значение при изучении их в динамике, исследуя парные сыворотки больного с интервалом 1 - 2 недели.

1.3. Тип анализируемого образца

Определение производится из сыворотки крови человека.

1.4. Требования к квалификации пользователей. Медицинский персонал клинико-диагностических лабораторий. Для работы с Диагностикумом необходимо участие специалистов с высшим и средним специальным образованием, прошедших специальную подготовку и допущенных к работе с микроорганизмами в соответствии с СанПиН 3.3686-21.

1.5. Функциональное назначение Диагностикума состоит в выявлении специфических антител к *Bordetella parapertussis*.

1.6. Показанием к применению Диагностикума являются комплексная диагностика наличия специфического иммунитета к паракоклюшу у всех групп населения.

1.7. Противопоказанием к применению является нарушение целостности первичной упаковки, истекший срок годности, нарушения условий хранения, не соблюдение требований инструкции.

1.8. Принцип действия. При наличии в исследуемом образце антител к *B. Parapertussis* они связываются с антигенами диагностикума с образованием осадка, реакцию агглютинации учитывают через 24 ч. невооруженным глазом или используя агглютиноскоп.

Окончательный диагноз должен быть поставлен врачом после полного клинического и лабораторного обследования пациента.

1.9. Диагностикум паракоклюшный предназначен для диагностики *ин витро*.

1.10. Область применения - Профессиональное применение в клинической лабораторной диагностике, в клинико-диагностических и бактериологических лабораториях учреждений медицины и здравоохранения.

1.11. Требования к квалификации пользователей. Для работы с медицинским изделием необходимо участие специалистов с высшим и средним специальным образованием, прошедших специальную подготовку и допущенных к работе с микроорганизмами в соответствии с СП 1.3.2322-08.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

При наличии в исследуемом образце антител к *B. Parapertussis* они связываются с антигенами диагностикума с образованием осадка, реакцию агглютинации учитывают через 24 ч. невооруженным глазом или используя агглютиноскоп.

2.2. В состав медицинского изделия входят следующие компоненты

Диагностикум паракоклюшный жидкий представляет собой взвесь паракоклюшных микроорганизмов I фазы, инаktivированных формалином.

В 1,0 мл препарата диагностикума коклюшного содержится $(35,0 \pm 3,5)$ ME паракоклюшных бактерий. Консервант - мертиолят.

2.3. Набор:

- Диагностикум паракоклюшный жидкий 5,0 мл – 10 ампул.
- Инструкция по применению.
- Паспорт качества.

Число анализируемых проб – диагностикум рассчитан на 400 исследований, включая контроли.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Чувствительность выявления и полуколичественного определения агглютинирующих антител к возбудителю паракоклюша в реакции агглютинации определяется по двадцати четырем образцам положительных проб рабочей панели предприятия Ч1-Ч24 РПП ВРР (РПП-ВРР-01), содержащих антитела к В. Parapertussis – 100%.

3.2. Специфичность выявления агглютинирующих антител к возбудителю паракоклюша в реакции агглютинации определяется по двадцати четырем отрицательным образцам рабочей панели предприятия С1-С24 РПП ВРР (РПП-ВРР-01), не содержащих антитела к В. Parapertussis - 100%.

3.3. Потенциальные интерференты:

Не обнаружено перекрестной реактивности со следующими потенциальными интерферентами:

- гемоглобин (гемолизированные эритроциты) – не более 10 г/л;
- триглицериды – 1 ммоль/л;
- билирубин – 120 мкмоль/л;
- вирус иммунодефицита человека (ВИЧ);
- вирус гепатита В (ВГВ);
- вирус гепатита С (ВГС);
- Treponema pallidum;
- Ревматоидный Фактор, 500Е/мл;
- Цитомегаловирус;
- Вирус Эпштейна-Барр;
- Вирус краснухи;
- Toxoplasma gondii;
- лекарственными средствами:
- Ацетилцистеин, 50 мг/л;
- Ампициллин, 400 мг/л;
- Аскорбиновая кислота, 200 мг/л;
- Циклоспорин, 5 мг/л;
- Цефокситин, 800мг/л;
- Гепарин, 2000 Ед/л;
- Леводопа, 10 мг/л;
- Метилдопа, 20 мг/л;
- Метронидазол, 70 мг/л;
- Фенилбутазон, 200 мг/л;
- Доксициклин, 20 мг/л;
- Ацетилсалициловая кислота, 400 мг/л;
- Рифампицин, 35 мг/л;
- Ацетаминофен, 70 мг/л;
- Ибупрофен, 200 мг/л;
- Теофиллин, 40мг/л.
- Мидекамицин, не более 25 мкг/л

*Не обнаружено перекрестной реакции с *B. pertusis* с подтвержденным титром 1:160 диагностикума коклюшного в сыворотке крови.*

3.4. Диагностические характеристики:

В ходе проведения клинико-лабораторных испытаний, антитела к возбудителю паракоклюша в защитном титре не менее 1:80 выявлены у 306 пациентов:

Таким образом, диагностическая чувствительность с доверительной вероятностью 95% составила 99,03%-100%.

Антитела к возбудителю паракоклюша в защитном титре не выявлены у 166 пациентов:

Таким образом, диагностическая специфичность с доверительной вероятностью 95% составила 98,21%-100%.

Полученный результат не может использоваться в качестве единственного показателя для диагностики заболевания, но используется в сочетании с другими лабораторными показателями и другой диагностической информацией.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения – класс 26 (Приказ № 4н от 06.06.2012 «Об утверждении номенклатурной классификации медицинских изделий» (с изменениями на 25 сентября 2014 года). В процессе производства используются микроорганизмы 3 класса патогенности. В готовом продукте живые патогенные микроорганизмы отсутствуют.

4.2. Диагностикум изготавливается в соответствии с требованиями безопасности производственных процессов (ГОСТ 12.3.002) на оборудовании с использованием ГОСТ 12.2.003. Диагностикум паракоклюшный предназначен только для *in vitro* диагностики. Все работы должны проводиться в соответствии с требованиями, изложенными в Инструкции по технике безопасности, утвержденных генеральным директором предприятия.

4.3. В процессе производства диагностикума паракоклюшного отработанные питательные среды после выращивания культур *B. parapertussis* обеззараживаются автоклавированием при 132°C (2 ат) в течение 2 часов и выливаются в спецканализацию. При случайном попадании микробной массы на окружающие предметы необходимо залить их 6% раствором перекиси водорода на 2 ч., а затем тщательно вымыть с использованием любого моющего средства.

4.4. Все компоненты Реагента в используемых концентрациях являются нетоксичными и безопасными. Однако, исследуемые клинические образцы, а также сточные растворы, оборудование и материалы, находящиеся с ними в контакте, представляют собой потенциально инфекционный материал, и обращаться с ними следует, соблюдая технику безопасности. Следует избегать любого контакта компонентов Реагента со слизистыми оболочками. При работе с медицинским изделием следует надевать одноразовые защитные перчатки. Отработанные реагенты обезвреживаются в 3% растворе хлорамина или в 6% растворе перекиси водорода в течение 24 часов или автоклавированием под давлением 0,11 Мпа при 120°C в течение 24 часов. Оборудование дезинфицируют до и после работы 70% этиловым спиртом.

4.5. При использовании Диагностикума образуются отходы классов А и Б.

Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию Диагностикума следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21, СанПиН 3.3686-21 и МУ 287-113.

4.6. Перечень рисков, связанных с применением изделия согласно ГОСТ ISO 14971, приведен в Файле менеджмента риска.

4.7. Противопоказаний в рамках установленного назначения не имеет.

4.8. Не использовать Диагностикум, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид реагента не соответствует описанию.

4.9. Не использовать Диагностикум, если не соблюдались условия транспортирования и хранения согласно инструкции.

4.10. Не использовать Диагностикум по истечении срока годности.

4.11. Диагностикум не содержит тканей, клеток и биологических веществ человеческого происхождения. Реагент не содержит веществ, обладающих канцерогенным, мутагенным

или влияющим на репродуктивную деятельность человека действием. При использовании по назначению и соблюдении мер предосторожности является безопасным.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Пробирки медицинские полимерные или агглютинационные;
- Флаконы для предварительного разведения образцов.
- Пипетки градуированные.
- 0,9 % раствор NaCl.
- Агглютиноскоп.
- Термостат (температура 20-40°C).
- ОСО 42-28-85 (ОСО на 10 единиц мутности ориентировочно соответствует следующим концентрациям клеток в 1 мл: 11×10^9 клеток/мл для микробов коклюшной группы).

5.1. Анализируемые пробы

Сыворотка крови человека

Образцы сыворотки крови с выраженным гемолизом, гиперлипидемией и бактериальным ростом исследованию не подлежат. Образцы, предназначенные для исследования, могут храниться от 2° до 8° С не более 7 суток, допустимо их длительное хранение в замороженном состоянии при температуре минус 20° С и ниже. Повторное замораживание размороженных образцов не допускается.

5.2. Подготовка исследуемых образцов

Исследуемые образцы развести 0,9 % раствором NaCl в соотношении 1:10, для чего 100 мкл каждого образца внести в 0,9 % раствор NaCl.

Из полученного разведения 1:10 исследуемых образцов приготовить последовательные двукратные разведения (1:20, 1:40, 1:80, 1:160, 1:320, 1:640, 1:1280, 1:2560, 1:5120) в 0,9 % растворе NaCl, для чего 500 мкл разведения 1:10 внести в пробирку с 500 мкл 0,9 % раствора NaCl, тщательно перемешать пипетированием, 500 мкл полученного разведения (1:20) внести в следующую пробирку с 500 мкл в 0,9 % раствора NaCl, тщательно перемешать пипетированием и так – до последнего разведения, из которого удалить лишние 500 мкл.

В случае необходимости, ряд разведений можно продолжить.

Из каждого полученного разведения отобрать по 250 мкл и внести в соответствующую пробирку второго ряда.

5.3. Приготовление рабочего разведения диагностикума паракоклюшного

Ампулу с диагностикумом паракоклюшным вскрыть и приготовить его рабочее разведение с мутностью 10МОЕ/мл, для чего к 1,0 мл диагностикума паракоклюшного добавить 2,5 мл 0,9 % раствора NaCl.

5.4. Проведение исследования (анализа)

5.4.1. Выявление и определение титра антител к возбудителю паракоклюша.

Приготовить один ряд по 10 пробирок.

В 10 пробирок внести по 0,25 мл каждого разведения исследуемого образца и по 0,25 мл рабочего разведения диагностикума паракоклюшного.

Для контроля спонтанной агглютинации:

В одну пробирку внести 0,25 мл исследуемого образца в разведении 1:10 и 0,25 мл 0,9 % раствора NaCl (контроль 1);

В одну пробирку внести 0,25 мл рабочего разведения диагностикума паракоклюшного и 0,25 мл 0,9 % раствора NaCl (контроль 2);

После этого пробирки встряхнуть, поместить в термостат на 2 ч при температуре 37°C и затем оставить при температуре от 18° до 25°C на сутки.

5.5. Учет результатов

Реакцию агглютинации учитывают невооруженным глазом или агглютиноскопом через 24 часа по схеме:

- 4 креста - полная агглютинация: большой плотный осадок, четко виден «зонтик», полное просветление надосадочной жидкости; после лёгкого встряхивания — крупные хлопья в прозрачной надосадочной жидкости;
- 3 креста - осадок большой, рыхлый, надосадочная жидкость ещё прозрачна, слегка опалесцирует; после лёгкого встряхивания — средние хлопья в слегка опалесцирующей надосадочной жидкости;
- 2 креста - мелкие нестойкие хлопья, осадок небольшой, рыхлый, надосадочная жидкость непрозрачна, после лёгкого встряхивания — мелкие нестойкие хлопья;
- 1 крест — следы агглютинации: в центре небольшой осадок, надосадочная жидкость непрозрачна;
- отрицательная реакция — осадка нет или небольшой компактный осадок в центре дна пробирки, взвесь равномерно мутная.

Оценка результатов контроля: контрольные пробирки с сывороткой и раствором натрия хлорида должны быть прозрачными. В пробирках с диагностикумом паракокклюшным и раствором натрия хлорида должна быть однородная взвесь желтовато-молочного цвета.

Положительной реакцией считают наибольшее разведение сыворотки, при котором получают реакцию агглютинации, оцениваемую не менее чем на три креста.

Для определения иммунологических сдвигов в организме больного реакцию агглютинации ставят на протяжении болезни в динамике и парные сыворотки должны быть исследованы с одной и той же серией диагностикума паракокклюшного.

Четырехкратное и выше нарастание титра специфических антител может свидетельствовать о наличии или перенесённом заболевании.

Паракокклюшем могут заболеть привитые против коклюша и перенесшие коклюш. Титр антител 1:80 и более условно принят за защитный титр после перенесенного заболевания.

Для исключения коклюшной инфекции испытуемую сыворотку параллельно проверяют с диагностикумом коклюшным по той же методике.

6. ОГРАНИЧЕНИЕ МЕТОДА

Диагностикумы паракокклюшные предназначены для диагностических целей, однако окончательный диагноз не должен основываться только на результатах данного теста. Диагноз должен быть поставлен врачом после полного клинического и лабораторного обследования пациента.

7. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВКИ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

7.1. Транспортирование.

7.1.1. Транспортирование медицинского изделия должно проводиться при температуре от +2° до +8° С. Транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. (СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней»). Допускается транспортирование при температуре от 9 до 25°С в течение 14 суток.

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

7.2. Хранение.

7.2.1. Хранение комплектов — в сухом, защищенном от прямых солнечных лучей месте, в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим в упаковке предприятия-производителя при температуре от +2 до +8°С в течение всего срока годности. Замораживание не допускается.

Срок годности — 18 месяцев со дня приемки ОКК предприятия-изготовителя. Не допускается применение диагностикумов паракокклюшных по истечении срока их годности.

7.2.2. Изделия, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежат утилизации.

7.3. Эксплуатация.

7.3.1. Диагностикум паракклюшный должен применяться согласно инструкции по применению, утверждённой в установленном порядке.

7.3.2. Не допускается смешивание или одновременное использование реагентов из разных серий Диагностикума.

7.3.4 Срок годности: 18 месяцев со дня приемки ОКК предприятия-изготовителя. Реагент с истекшим сроком годности применению не подлежит.

8. ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

8.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

8.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

8.3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

По вопросам качества медицинского изделия Диагностикум для выявления и полуколичественного определения агглютинирующих антител к возбудителю паракклюша в реакции агглютинации «Диагностикум паракклюш -РА» по ТУ 21.20.23-012-96299156-2021 просьба обращаться на предприятие-производитель:

Общество с ограниченной ответственностью «БиоХолд» (ООО «БиоХолд»), 111394, Г.МОСКВА, ВН.ТЕР.Г.МУНИЦИПАЛЬНЫЙ ОКРУГ НОВОГИРЬЕВО, УЛ ПЕРОВСКАЯ, Д. 61/2, СТР.1, тел.+7 (495) 280-35-52; e-mail: info@biohold.ru

Адрес производства:

Общество с ограниченной ответственностью «Научно-Производственное Предприятие «ДиаВита» (ООО «НПП «ДиаВита»), 141074, Московская область, г. Королев, ул. Пионерская, д.4, к. 203

Генеральный директор ООО «БиоХолд»



И.В. Радюшкин

Прошито, пронумеровано
(7 лист (ов)),
скреплено печатью

Генеральный директор
ООО «БиоХолд»

И.В. Радиошкин

