

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный Директор

ЗАО «ЭКС-лаб»

В.Ю. Борисов

2020 г.



**Инструкция по применению набора реагентов
«Диагностикум эритроцитарный иерсиниозный для РПГА, лиофилизат»
«Иерсиния РПГА лиофилизат»**

Регистрационное удостоверение № _____ от _____ . _____ . _____

НАЗНАЧЕНИЕ

«Диагностикум эритроцитарный иерсиниозный для РПГА, лиофилизат» «Иерсиния РПГА лиофилизат» предназначен для полуколичественного выявления антител в сыворотке крови человека к индивидуальным О-антигенам иерсиний: *Y. enterocolitica* O3, *Y. enterocolitica* O9, *Y. pseudotuberculosis* в реакции пассивной гемагглютинации (РПГА).

Функциональное назначение: скрининг, мониторинг и диагностика.

Применение изделия не имеет популяционных и демографических ограничений.

Для однократного применения набора по назначению.

Для клинической лабораторной диагностики *in vitro*.

Показания и противопоказания к применению изделия

Применение комплектов набора реагентов «Диагностикум эритроцитарный иерсиниозный для РПГА, лиофилизат» «Иерсиния РПГА лиофилизат» показано для выявления антител к О-антигенам иерсиний: *Y. enterocolitica* (O3), *Y. enterocolitica* (O9), *Y. pseudotuberculosis* (O1).

Набор реагентов «Иерсиния РПГА лиофилизат» не предназначен для выявления антител к О-антигенам *Y. enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis* не относящихся к серотипам O3, O9, O1, соответственно.

Потенциальные потребители изделия

Лабораторные подразделения лечебно-профилактических учреждений.

Профессиональный уровень потенциальных пользователей

Врач клинической лабораторной диагностики, медицинский лабораторный техник.

Описание целевого анализа, сведения о его научной обоснованности

Целевым анализом, детектируемым набором «Иерсиния РПГА лиофилизат», являются антитела к липополисахаридным (О-антигенным) структурам иерсиний, относящихся к серотипам O3, O9 и I. Согласно санитарно-эпидемиологическим правилам СП 3.1.7.2615-10 подтверждение диагноза псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза осуществляется на основании клинической картины по результатам бактериологического (выделение культуры *Y. pseudotuberculosis* или *Y. enterocolitica*), серологического (нарастание титра антител в парных сыворотках), иммунологического (выявление антител классов А, М и G) и молекулярно-генетического (выявление ДНК бактерий) методов с учетом эпидемиологического анамнеза. Исследование парных сывороток проводится на первой-второй и на третьей неделях болезни. Достоверным считается 2 - 4-кратное и выше нарастание титра антител, при диагностическом титре в РПГА не менее, чем 1:160. В отдельных случаях (невозможность взятия парных сывороток, обследование больного в поздние сроки и т.п.) при наличии четких клинических, эпидемиологических, бактериологических и других данных допускается использование минимального условно-диагностического титра. Этот критерий для взрослых равен 1:160 - 1:320, для детей до 10 лет - 1:80 - 1:160.

СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

Набор выпускается в семи базовых вариантах комплектации:

Название реагента	Комплект 1 Диагностический иерсиниозный общий	Комплект 2/1 Диагностический кишечно-иерсиниозный ОЗ	Комплект 2/2 Диагностический кишечно-иерсиниозный ОЗ	Комплект 3/1 Диагностический кишечно-иерсиниозный О9	Комплект 3/2 Диагностический кишечно-иерсиниозный О9	Комплект 4/1 Диагностический псевдотуберкулезный	Комплект 4/2 Диагностический псевдотуберкулезный
Тест-эритроциты ОЗ (ТЭ ОЗ)	1 фл. (лиофилизат из 10 мл)	3 фл. (лиофилизат из 10 мл)	6 фл. (лиофилизат из 10 мл)	-	-	-	-
Тест-эритроциты О9 (ТЭ О9)	1 фл. (лиофилизат из 10 мл)	-	-	3 фл. (лиофилизат из 10 мл)	6 фл. (лиофилизат из 10 мл)	-	-
Тест-эритроциты Pst (ТЭ Pst)	1 фл. (лиофилизат из 10 мл)	-	-	-	-	3 фл. (лиофилизат из 10 мл)	6 фл. (лиофилизат из 10 мл)
Контрольные эритроциты КЭ	1 фл. (лиофилизат из 10 мл)	1 фл. (лиофилизат из 10 мл)	2 фл. (лиофилизат из 10 мл)	1 фл. (лиофилизат из 10 мл)	2 фл. (лиофилизат из 10 мл)	1 фл. (лиофилизат из 10 мл)	2 фл. (лиофилизат из 10 мл)
Контрольный положительный образец К+	1 фл. (лиофилизат из 0,5 мл)	1 фл. (лиофилизат из 0,5 мл)	2 фл. (лиофилизат из 0,5 мл)	1 фл. (лиофилизат из 0,5 мл)	2 фл. (лиофилизат из 0,5 мл)	1 фл. (лиофилизат из 0,5 мл)	2 фл. (лиофилизат из 0,5 мл)
Контрольный отрицательный образец К-	1 фл. (лиофилизат из 0,5 мл)	1 фл. (лиофилизат из 0,5 мл)	2 фл. (лиофилизат из 0,5 мл)	1 фл. (лиофилизат из 0,5 мл)	2 фл. (лиофилизат из 0,5 мл)	1 фл. (лиофилизат из 0,5 мл)	2 фл. (лиофилизат из 0,5 мл)

- **Тест-эритроциты ОЗ (ТЭ ОЗ)** - формализированные эритроциты барана, сенсibilизированные О-антигеном *Y. enterocolitica* ОЗ, сухая гигроскопическая масса коричневого цвета. После растворения — суспензия красно-коричневого цвета, при отстаивании расслаивается на 2 слоя: коричнево-красный осадок эритроцитов и надосадочную жидкость желтоватого цвета.
- **Тест-эритроциты О9 (ТЭ О9)** - формализированные эритроциты барана, сенсibilизированные О-антигеном *Y. enterocolitica* О9, сухая гигроскопическая масса коричневого цвета. После растворения — суспензия красно-коричневого цвета, при отстаивании расслаивается на 2 слоя: коричнево-красный осадок эритроцитов и надосадочную жидкость желтоватого цвета.
- **Тест-эритроциты Pst (ТЭ Pst)** - формализированные эритроциты барана, сенсibilизированные О-антигеном *Y. pseudotuberculosis*, сухая гигроскопическая масса коричневого цвета. После растворения — суспензия красно-коричневого цвета, при отстаивании расслаивается на 2 слоя: коричнево-красный осадок эритроцитов и надосадочную жидкость желтоватого цвета.
- **Контрольные эритроциты (КЭ)** — формализированные, несенсибилизированные эритроциты барана, сухая гигроскопическая масса коричневого цвета. После растворения — суспензия красно-коричневого цвета, при отстаивании расслаивается на 2 слоя: коричнево-красный осадок эритроцитов и надосадочную жидкость желтоватого цвета.
- **Контрольный положительный образец (К⁺)** — иммунная сыворотка крови кролика, содержащая антитела к О-антигенам *Y. enterocolitica* ОЗ, *Y. enterocolitica* О9, *Y. pseudotuberculosis*, сухая гигроскопическая масса белого или светло-желтого цвета, после растворения - прозрачная бесцветная или желтоватого цвета жидкость.
- **Контрольный отрицательный образец (К⁻)** сыворотка крови кролика не содержащая антитела к О-антигенам *Y. enterocolitica* ОЗ, *Y. enterocolitica* О9, *Y. pseudotuberculosis*, сухая гиг-

роскопическая масса белого или светло-желтого цвета, после растворения - прозрачная бесцветная или желтоватого цвета жидкость.

Компоненты набора упакованы в коробку, в коробку вложена инструкция по применению.

ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Комплекты: 1, 2/1, 3/1 и 4/1, рассчитаны на проведение 72 анализов, включая контроли.

Комплекты: 2/2, 3/2 и 4/2, рассчитаны на проведение 144 анализов, включая контроли.

Общая протяженность инкубационных этапов анализа составляет 2 часа.

Методы стерилизации изделия

Изделие не требует стерилизации.

Программное обеспечение работы изделия

Отсутствует.

Техническое обслуживание и ремонт изделия

Изделие не требует технического обслуживания и не подлежит ремонту.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Метод основан на реакции пассивной (непрямой) гемагглютинации. При наличии антител определенной типовой специфичности наблюдается гемагглютинация эритроцитов, sensibilizированных соответствующим типовым О-антигеном иерсиний. Это приводит к образованию на дне лунок планшета "зонтика" из осевших эритроцитов. При отсутствии антител определенной специфичности к соответствующему типовому О-антигену иерсиний гемагглютинация sensibilizированных эритроцитов не происходит, оседая эритроциты образуют "точку".

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность и специфичность набора определяется по стандартной панели сывороток предприятия, содержащих и не содержащих антитела к О-антигенам иерсиний (СОП₂₈₈АТ(+/-)О-Yersinia), как процентное содержание образцов, определенных набором как положительные либо отрицательные, и составляет 100%.

Диагностическая чувствительность набора реагентов: 98,82 - 100% (с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическая специфичность набора реагентов: 99,38% - 100% (с доверительной вероятностью 95%).

Воспроизводимость результатов составила 100%.

Аналитическая специфичность. При исследовании образцов с содержанием гемоглобина до 200 г/л, триглицеридов до 11 ммоль/л; билирубина – до 120 мкмоль/л; интерференция не наблюдалась.

Перекрестных иммунологических реакций с образцами сывороток крови человека, содержащими маркеры патологических состояний инфекционной и неинфекционной патологии в ходе клинических испытаний набора реагентов «Иерсиния РПГА» не выявлено.

ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Цельные образцы сыворотки крови человека в объеме 10 мкл.

Для образцов, принятых к исследованию, допускается хранение при 2-8⁰С в течение 7 суток или в замороженном виде (-20⁰С и ниже) неограниченно долго. После размораживания образцы следует тщательно перемешать.

Образцы, содержащие агрегированные частицы фибрина или иные видимые глазом примеси, перед исследованием необходимо осветлить центрифугированием.

Для исключения недостоверных результатов не рекомендуется анализировать сыворотки с микробным проростом, гемолизом, повышенным содержанием липидов или подвергшиеся многократному (более 5 раз) замораживанию и оттаиванию.

Перед проведением тестирования анализируемые образцы, изъятые из холодильных камер, необходимо выдержать на лабораторном столе в течение 30-60 мин до достижения ими температуры окружающей среды (от 18 до 30°C).

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор биологически безопасен, однако с исследуемыми образцами необходимо обращаться как с потенциально инфицированным материалом.

Потенциальный риск применения набора – класс 26 (Приказ МЗ РФ №4н от 6 июня 2012 г.).

Меры предосторожности при работе с набором – соблюдение правил "Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений" (Утв. Минздравом СССР 17 января 1991 г.), ГОСТ Р 52905–2007 (ИСО 15190:2003).

Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 "Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами" и МУ 287-113 "Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения".

Набор «Иерсиния РПГА лиофилизат», в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» относится к классу А - отходы, не имеющие контакта с биологическими жидкостями пациентов, инфекционными больным и классу Б (эпидемиологически опасные отходы) – инфицированные и потенциально инфицированные отходы, материалы и инструменты, предметы, загрязненные кровью и/или другими биологическими жидкостями.

Перечень рисков, идентифицированных в процессе анализа риска, и способы управления ими представлены отдельным документом (см. Анализ рисков).

СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

Оборудование и материалы

- Поверенный таймер, холодильная камера с температурным режимом 2-8°C.
- Пипетки полуавтоматические с рабочими диапазонами: 5-50 мкл, 20-200 мкл.
- Одноразовые наконечники к указанным пипеткам.
- Контейнеры для жидких и твердых отходов.
- Резиновые или латексные перчатки, средства дезинфекции.
- Раствор натрия хлорида 0,9%.
- Планшет для микротитрования – планшет полимерный для иммунологических реакций, 96-луночный с круглодонными лунками

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ И ОБРАЗЦОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

Перевести лиофилизированные контрольные образцы К- и К+ в растворенную форму. Для этого внести во флаконы с контрольными образцами по 500 мкл 0,9% раствора натрия хлорида (ФР).

Перевести лиофилизированные контрольные (КЭ) и тест-эритроциты (ТЭ) в форму водной суспензии. Для этого внести во флаконы с лиофилизированными эритроцитами по 10 мл 0,9% раствора натрия хлорида (ФР).

Готовить суспензии эритроцитов и растворы контрольных образцов следует с соблюдением правил асептики! После добавления к лиофилизированным реагентам 0,9% раствора натрия хлорида добиться их полной гидратации, выдержав последние в течение 2 часов при температуре от 16 до 25°C, затем тщательно перемешать, хранить в холодильной камере при 2-8°C суспензии эритроцитов (КЭ и ТЭ) не более 10 суток, растворы контрольных образцов (К+ и К-) – в течение 12 мес.

Непосредственно перед проведением анализа извлечь набор из холодильной камеры, выставить заранее подготовленные компоненты набора, на лабораторный стол, выдержать не менее

30 мин. Перед использованием содержимое флаконов с КЭ и ТЭ перемешать встряхиванием для получения однородной суспензии.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Внести по 190 мкл 0,9 % раствора натрия хлорида (ФР) в первый длинный ряд планшета. Во все остальные лунки планшета, кроме лунок второго ряда, внести по 50 мкл ФР.

Внести по 10 мкл контрольных и анализируемых образцов в лунки первого ряда планшета. Например, в первую лунку – контрольный отрицательный образец К⁻, во вторую – контрольный положительный образец К⁺. В остальные лунки, начиная с третьей, – анализируемые сыворотки. При внесении образцов перемешивать содержимое лунок двукратным пипетированием. Полученное разведение образцов в лунках – 1:20.

После завершения процедуры внесения образцов из каждой лунки первого ряда внести 50 мкл разведенного 1:20 образца в соответствующие лунки второго и третьего ряда. Начиная с лунок третьего ряда раститровать образцы, перенося по 50 мкл в следующие лунки рядов, получив двукратные разведения от 1:40 до 1:1280. Из лунок последнего длинного ряда удалить по 50 мкл разведенных образцов (1:1280) и слить в дезинфицирующий раствор.

Внести по 50 мкл КЭ во все лунки второго ряда планшета (конечный титр 1:40). В остальные лунки, с третьего по восьмой ряд, внести по 50 мкл ТЭ, соответствующей групповой специфичности (конечный титр от 1:80 до 1:2560).

Внесение эритроцитов увеличивает разведение образцов в 2 раза, что учитывается при определении конечного титра антител.

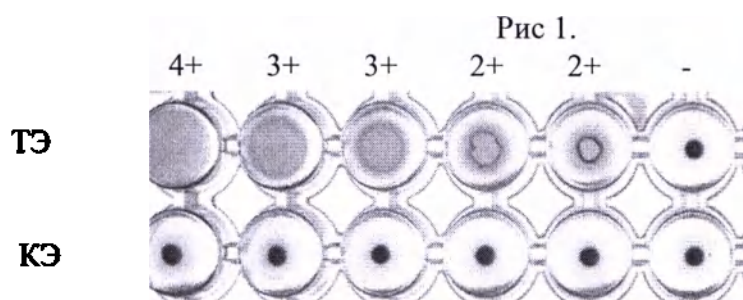
Планшет осторожно покачать, чтобы перемешать содержимое лунок, и выдержать 2 часа при температуре окружающей среды (от 18 до 30°C) в условиях, исключающих вибрацию, после чего учесть результаты реакции.

Учет результатов

Результаты анализа исследуемых образцов учитывать при соблюдении условий:

- Контрольный положительный образец (К⁺) дает положительный результат не ниже (3+) с ТЭ в титре не ниже 1:160 и отрицательный результат с КЭ.
- Контрольный отрицательный образец (К⁻) дает отрицательный результат как с ТЭ, так и с КЭ.
- При несоблюдении вышеуказанных условий, результаты анализа исследуемых образцов считать недействительными, а набор не подлежит дальнейшему использованию.

При соблюдении вышеуказанных условий, результаты анализа образцов оцениваются в баллах по внешнему виду осадка тест-эритроцитов (ТЭ), как показано на рисунке 1. Контролем служит реакция с контрольными эритроцитами (КЭ), которая в каждом тесте должна давать отрицательный результат.



- (4+) **Резко положительный** – ровный слой ("зонтик") агглютинированных эритроцитов, распределенных по дну лунки.
- (3+) **Положительный** – на фоне агглютинированных эритроцитов на большей части дна лунки формируется заметное кольцо с размытыми краями.
- (2+) **Отрицательный** – на фоне агглютинированных эритроцитов в центральной части дна лунки формируется маленькое кольцо с четкими краями.

• (–) **Отрицательный** – на свободном от эритроцитов окружающем фоне на дне лунки формируется компактный осадок ("путовка") или небольшой рыхлый осадок эритроцитов с незначительным просветом в центральной части.

• (Н) **Неопределенный результат** – эритроциты, как ТЭ, так и КЭ дают положительную реакцию (3+) и выше.

При получении неопределенного результата (положительного результата с ТЭ и КЭ) исследование образца необходимо повторить. Повторное получение аналогичного результата свидетельствует о наличии в исследуемой сыворотке антиэритроцитарных антител, которые необходимо предварительно абсорбировать. Для этого в чистую пробирку (микропробирку на 1,5 мл) внести 200 мкл суспензии КЭ и 10 мкл сыворотки, содержимое пробирки перемешать. Выдержать пробирку 30 мин при температуре окружающей среды (от 18 до 30°C), после чего осадить эритроциты центрифугированием: 3 мин, с ускорением 2000 g. Образец надосадочной жидкости непосредственно использовать по 50 мкл в реакции с КЭ, для проведения реакции с ТЭ образец (50 мкл) необходимо раститровать в ФР с шагом 2. Время проведения реакции – 2 часа, оценка результатов, как указано выше по тексту.

• **Положительным результатом** считают гемагглютинацию ТЭ не менее чем на (3+) креста в титре 1:80.

• **Титром антител** в исследуемом образце считается последнее разведение, в котором получен положительный результат не менее чем на (3+), умноженное на 2 (с учетом разведения образца при внесении ТЭ).

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Обнаружение у обследуемых антител к типовым О-антигенам иерсиний может свидетельствовать как о текущей, так и о недавно перенесенной иерсиниозной инфекции. Постановку диагноза проводит врач с использованием результатов исследования парных сывороток, учитывая возраст обследуемых, как указано в СП 3.1.7.2615-10 и МУ 3.1.1.2438-09 «Эпидемиологический надзор и профилактика псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза».

СРОК ГОДНОСТИ.

Срок годности набора – 25 мес.

Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ

Замораживание не допускается!

Хранение

Хранение наборов должно осуществляться в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности.

После вскрытия упаковок подготовленные к анализу суспензии эритроцитов (КЭ и ТЭ) хранить не более 10 суток, растворы контрольных образцов (К+ и К-) – в течение 12 мес. при вышеуказанных холодовых условиях.

Транспортирование При температуре от 2 до 8°C транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. Допускается транспортирование при температуре от 9 до 25°C в течение 15 сут.

УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для учреждений здравоохранения.

ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Набор реагентов «Диагностикум эритроцитарный иерсиниозный для РПГА, лиофилизат» «Иерсиния РПГА лиофилизат», соответствует ТУ 21.20.23-309-70423725-2020, Национальным стандартам РФ и нормативным документам в части требований безопасности и эффективности.

По вопросам, касающимся обращения и качества набора реагентов, следует обращаться по адресу 142530 Московская обл. г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1-1а, ЗАО "ЭКОлаб"; тел. (49643) 3-23-11, факс (49643) 3-30-93, 3-30-85, 8-800-333-333-47, e-mail: ekolab-sekretar@mail.ru.

Директор ЗАО "ЭКОлаб" по научной работе



С.Т. Марданлы

"СОГЛАСОВАНО"

Генеральный директор ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

« 18 » 08 2021 г.



П.К. Варнавичус

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 7 ЛИСТОВ

«20» 08 2021 год

Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичус Д.К.

Пронумеровано, пронумеровано
и скреплено печатью

лист 06
Ген. Директор ЗАО "ЭКОлаб"
Борисов В.Ю.
"20" 08 2021 г.

