



«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор АО «ЭКОлаб»

Е.Ю. Гашенко

«17» 01 2024 г.

ИНСТРУКЦИЯ **по применению** **медицинского изделия для диагностики *in vitro***

«Набор реагентов для определения антител к индивидуальным О-антигенам иерсиний, *Y.enterocolitica* O3, *Y.enterocolitica* O9 и *Y. Pseudotuberculosis*, в реакции пассивной гемагглютинации» «Иерсиния РПГА»

НАЗНАЧЕНИЕ

«Набор реагентов для определения антител к индивидуальным О-антигенам иерсиний, *Y.enterocolitica* O3, *Y.enterocolitica* O9 и *Y. Pseudotuberculosis*, в реакции пассивной гемагглютинации» «Иерсиния РПГА» предназначен для полуколичественного выявления антител в сыворотке крови человека к индивидуальным О-антигенам иерсиний, *Y.enterocolitica* O3, *Y.enterocolitica* O9 и *Y. Pseudotuberculosis*, в реакции пассивной гемагглютинации (РПГА).

Функциональное назначение.

Изделие предназначено для обследования лиц с симптомами иерсиниозной инфекции.

Применение изделия не имеет популяционных и демографических аспектов. Для однократного применения набора по назначению.

Для клинической лабораторной диагностики *in vitro*

Показания и противопоказания к применению изделия

Применение комплектов набора реагентов «Иерсиния РПГА» показано для выявления антител к О-антигенам иерсиний и установления их группоспецифичности. Отдельные комплекты набора «Иерсиния РПГА» показаны для обследования и/или ведения больных с установленным О-типовым статусом иерсиниозной инфекции.

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

Потенциальные потребители изделия

Лабораторные подразделения лечебно-профилактических учреждений.

Профессиональный уровень потенциальных пользователей

Врач клинической лабораторной диагностики, медицинский лабораторный техник.

Описание целевого анализата, сведения о его научной обоснованности

Целевым анализатом, детектируемым набором «Иерсиния РПГА», являются антитела к липополисахаридным (О-антигенным) структурам иерсиний, относящихся к серотипам O3, O9 и I. Согласно СанПиН 3.3686-21 "Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней" 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 1:200. 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 реагентов «Иерсиния РПГА» выпускается в четырех базовых вариантах комплектации. Каждый комплект набора рассчитан на проведение 36 анализов, включая контроли. В состав набора реагентов входят следующие реагенты:

	Комплект общий	Комплект энтероколитик а ОЗ	Комплект энтероколитик а О9	Комплект псевдотуберкулез
Тест-эритроциты ОЗ (ТЭ ОЗ)	1 фл. (5,0 мл)	1 фл. (15,0 мл)	-	-
Тест-эритроциты О9 (ТЭ О9)	1 фл. (5,0 мл)	-	1 фл. (15,0 мл)	-
Тест-эритроциты Pst (ТЭ Pst)	1 фл. (5,0 мл)	-	-	1 фл. (15,0 мл)
Контрольные эритроциты КЭ	1 фл. (5,0 мл)	1 фл. (5,0 мл)	1 фл. (5,0 мл)	1 фл. (5,0 мл)
Раствор для разведения образцов РРО	1 фл. (30 мл)	1 фл. (30 мл)	1 фл. (30 мл)	1 фл. (30 мл)
Контрольный положительный образец К+	1 фл. (0,25 мл)	1 фл. (0,25 мл)	1 фл. (0,25 мл)	1 фл. (0,25 мл)
Контрольный отрицательный образец К-	1 фл. (0,25 мл)	1 фл. (0,25 мл)	1 фл. (0,25 мл)	1 фл. (0,25 мл)
Планшет для микротитрования	3 шт.	3 шт.	3 шт.	3 шт.

- **Тест-эритроциты ОЗ (ТЭ ОЗ)** - суспензия формализированных эритроцитов барана, сенсibilизированных О-антигеном *Y. enterocolitica* ОЗ, суспензия красно-коричневого цвета. При отстаивании расслаивается на 2 слоя: коричнево-красный осадок эритроцитов и надосадочную жидкость желтоватого цвета.
- **Тест-эритроциты О9 (ТЭ О9)** - суспензия формализированных эритроцитов барана, сенсibilизированных О-антигеном *Y. enterocolitica* О9, суспензия красно-коричневого цвета. При отстаивании расслаивается на 2 слоя: коричнево-красный осадок эритроцитов и надосадочную жидкость желтоватого цвета.
- **Тест-эритроциты Pst (ТЭ Pst)** - суспензия формализированных эритроцитов барана, сенсibilизированных О-антигеном *Y. Pseudotuberculosis*, суспензия красно-коричневого цвета. При отстаивании расслаивается на 2 слоя: коричнево-красный осадок эритроцитов и надосадочную жидкость желтоватого цвета.

- **Контрольные эритроциты (КЭ)** – суспензия формализированных, несенсибилизированных эритроцитов барана, суспензия красно-коричневого цвета. При отстаивании расслаивается на 2 слоя: коричнево-красный осадок эритроцитов и надосадочную жидкость желтоватого цвета.
- **Раствор для разведения образцов (РРО)** – раствор для разведения образцов (сывороток крови), прозрачная жидкость желто-оранжевого цвета.
- **Контрольный положительный образец (К⁺)** – иммунная сыворотка крови кролика, содержащая антитела к О-антигенам *Y.enterocolitica* O3, *Y.enterocolitica* O9, *Y. Pseudotuberculosis*, прозрачная бесцветная или желтоватого цвета жидкость.
- **Контрольный отрицательный образец (К⁻)** сыворотка крови кролика не содержащая антитела к О-антигенам *Y.enterocolitica* O3, *Y.enterocolitica* O9, *Y. Pseudotuberculosis*, прозрачная бесцветная или желтоватого цвета жидкость.

Планшет для микротитрования – планшет полимерный для иммунологических реакций, 96-луночный с круглодонными лунками.

Принадлежности:

Вспомогательные пластиковые емкости – 3 шт.

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

В комплект поставки входят: набор реагентов, принадлежности, инструкция по применению, паспорт.

ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

- Каждый комплект набора рассчитан на проведение 36 анализов, включая контроли.
- Цветовая индикация внесения образца.
- Все компоненты набора готовы к применению.
- 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 ДЕЙСТВИЯ

Метод основан на реакции пассивной (непрямой) гемагглютинации. При наличии антител определенной типовой специфичности наблюдается гемагглютинация эритроцитов, сенсибилизированных 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 сенсибилизированных эритроцитов не происходит, оседая эритроциты образуют "точку".

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 30⁰С).

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.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2б (Приказ МЗ РФ №4н от 6 июня 2012 г.).

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

Все жидкие реагенты содержат натрия азид в безопасной концентрации.

Меры предосторожности при работе с набором – соблюдение правил, ГОСТ Р 52905–2007 (ИСО 15190:2003).

Набор реагентов, в соответствии с 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" относится к классу А - отходы, не имеющие контакта с биологическими жидкостями пациентов, инфекционными больными и классу Б (эпидемиологически опасные отходы) – инфицированные и потенциально инфицированные отходы, материалы и инструменты, предметы, загрязненные кровью и/или другими биологическими жидкостями.

Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с 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" и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

Оборудование и материалы:

- Поверенный таймер, холодильная камера с температурным режимом 2-8⁰С.
- 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.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ И ОБРАЗЦОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

- Все компоненты набора готовы к применению
- Перед проведением анализа извлечь набор из холодильной камеры, выставить компоненты набора, включая планшет, на лабораторный стол, выдержать не менее 30 мин.
- Перед вскрытием содержимое флаконов с КЭ и ТЭ перемешать встряхиванием для получения гомогенной суспензии

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

- Внести по 190 мкл раствора для разведения образцов (РРО) в первый длинный ряд планшета. Во все остальные лунки планшета, кроме лунок второго ряда, внести по 50 мкл РРО.
- 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. Цвет РРО в лунке после добавления образца должен измениться с желто-оранжевого на красный.
- 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 30⁰С) в условиях, исключающих вибрацию, после чего учесть результаты реакции.

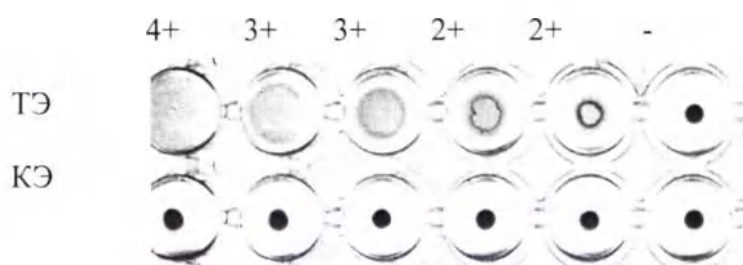
Учет результатов

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.

Рис 1.



- **(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 ("пуговка") 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 РРО 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 – 24 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 °С в течение всего срока годности.

После вскрытия упаковок неиспользованные реагенты допускается хранить в течение всего срока годности при вышеуказанных холодовых условиях.

Транспортирование

При температуре от 2 до 8 °С 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 °С в течение 15 суток.

УСЛОВИЯ ОТПУСКА

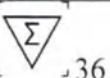
Для учреждений здравоохранения.

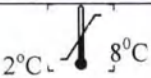
ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

«Набор реагентов для определения антител к индивидуальным О-антигенам иерсиний, *Y. enterocolitica* O3, *Y. enterocolitica* O9 и *Y. Pseudotuberculosis*, в реакции пассивной гемагглютинации» «Иерсиния РПГА», соответствует ТУ 21.20.23-288-70423725-2023, Национальным стандартам РФ и нормативным документам в части требований безопасности и эффективности.

По вопросам, касающимся обращения и качества набора реагентов «Иерсиния РПГА», следует обращаться по адресу: АО "ЭКОлаб, 142530 Московская обл., г. Электрогорск, ул. Будённого, 1-1а. тел. 8 (49643) 3-23-11, 3-30-93, тел/факс 8(49643) 3-30-85, 8 (800) 333-33-47.

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ НА УПАКОВКЕ И ЭТИКЕТКАХ

Символ	Значение символа
	Изготовитель
	Дата изготовления
	Код партии
	Номер по каталогу
	Содержимого достаточно для проведения 36- тестов

	Использовать до
	Предел температуры
	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Обратитесь к инструкции по применению
	Беречь от влаги
	Хрупкое, обращаться осторожно

Директор АО "ЭКОлаб" по научной работе  С.Г. Марданлы

"СОГЛАСОВАНО"

Генеральный директор ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

 П.К. Варнавичус

«17» 01 2024 г.

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 8 ЛИСТОВ

17 01 2024 год

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



Прошнуровано, пронумеровано
, скреплено печатью

8 лист
Ген. директор АО "ЭКОлаб"
Гашенко Т.Ю.
17 01 2024 г.

