

«СОГЛАСОВАНО»

Директор  
ФГБНУ НИИВС  
им. И.И. Мечникова

 О.А. Свитич

« 17 » 2022 г.



«УТВЕРЖДАЮ»

Главный специалист-эксперт  
по направлению МИБП  
Управления по регистрации  
АО «НПО «Микроген»  
по доверенности

 О.М. Волошук  
« 17 » 2022 г.



## ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинского изделия

**Набор реагентов Диагностикум риккетсиозный Провачека для РСК  
по ТУ 21.10.60-157-20401675-2022**

Регистрационное удостоверение № ФСР 2012/13112

## НАЗНАЧЕНИЕ

Медицинское изделие для диагностики *in vitro* предназначено для серологической диагностики эпидемического сыпного тифа и болезни Брилля в РСК.

Функциональное назначение - вспомогательное средство в диагностике эпидемического сыпного тифа и болезни Брилля.

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 Провачека для РСК	10 ампул, лиофилизат из 0,5 мл
Сыворотка диагностическая к риккетсиям Провачека для РСК	3 ампулы, лиофилизат из 0,1 мл

Принадлежности.

Скарификатор ампульный – 1 шт.

#### *Характеристика компонентов изделия*

1. Диагностикум риккетсиозный Провачека для РСК представляет собой антигенный комплекс, выделенный методом эфирной обработки из риккетсий Провачека вирулентного штамма Брейнль, 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 Провачека для РСК получена из крови продуцентов (морских свинок) после заражения вирулентной культурой риккетсий Провачека, 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: компоненты изделия Диагностикум риккетсиозный Провачека для РСК лиофилизат из объема 0,5 мл - 10 ампул; сыворотка диагностическая к риккетсиям Провачека для РСК, лиофилизат из объема 0,1 мл - 3 ампулы, скарифikator ампульный – 1 шт. в пачке из картона с инструкцией по применению, паспорт в комплекте поставки.

Целевой анализит - комплементсвязывающие антитела к риккетсиям Провачека.

Вид анализа полуколичественный. Изделие рассчитано на проведение 30 анализов.

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 Провачека для РСК до его титра; с сывороткой диагностической к риккетсиям Тифи для РСК на 1 – 2 разведения ниже его титра.

Не должен реагировать с сывороткой диагностической к коксиеллам Бернета для РСК.

Специфическая активность.

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

Сыворотка диагностическая к риккетсиям Провачека для РСК. Специфический титр 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 репродуктив-

ную 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 Провачека.

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 (ИСО 15190:2003) «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, лабораторную посуду и оборудование 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 б).

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 истекшим 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»);
- дефибрированная 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) °С;
- термостат (37±1) °С;
- холодильник бытовой (2 – 8) °С;
- 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) °С в течение (30±2) мин. Допускается хранение инактивированной сыворотки при температуре от 2 до 8 °С 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 осуществляют непосредственно перед его использованием.

1.2. Готовят 3 % взвесь эритроцитов крови барана: свежую (срок хранения при температуре  $(5\pm 3)$  °С не более 7 суток) дефибринированную кровь барана отмывают натрия хлорида раствором 0,9 % путем центрифугирования при  $(3000\pm 150)$  об/мин 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.

Готовят гемолитическую систему: смешивают равные объемы 3 % взвеси эритроцитов барана и рабочего разведения гемолитической сыворотки. Гемолитическую систему выдерживают при температуре  $(36-38)$  °С в течение  $(28-32)$  мин.

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

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

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

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

1.7. Перемешивают содержимое пробирок встряхиванием до получения гомогенной взвеси эритроцитов. Пробирки выдерживают в термостате при температуре  $(36-38)$  °С в течение  $(28-32)$  мин.

1.8. 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 хлорид 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 0,9 % раствора, 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 пробирках 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 эпидемического сыпного тифа и болезни Брилля.**

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 по 0,2 мл натрия хлорида раствора 0,9 % и по 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) °С в течение (18–20) ч («холодное» связывание) или при температуре (36–38) °С 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) °С. Содержимое пробирок снова перемешивают встряхиванием и выдерживают при температуре (36–38) °С 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 1ч 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 ее 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 эпидемическим сыпным тифом или болезнью Брилля 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 эпидемического 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](mailto: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 18.06.2020 г.