

«УТВЕРЖДАЮ»

Начальник Управления
регистрации и медицинских
исследований
АО «НПО «Микроген»

А.Е. Ершов
2020 г.

ИНСТРУКЦИЯ
по применению медицинского изделия
Диагностикум туляреминый жидкий
для объемной и кровянокапельной реакции агглютинации
по ТУ 9388-084-14237183-2016

Регистрационное удостоверение № ФСР 2008/03073

НАЗНАЧЕНИЕ

Диагностикум туляреминый жидкий для объемной и кровянокапельной реакции агглютинации предназначен для серодиагностики туляремии и определения специфических антител у переболевших туляремией, у вакцинированных против туляремии и перед прививкой против туляремии. Изделие предназначено для диагностики *ин vitro*. Функциональное назначение - вспомогательное средство в диагностике.

СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

Диагностикум туляреминый жидкий для объемной и кровянокапельной реакции агглютинации	Взвесь убитых формалином туляреминых микробов вакцинного штамма <i>Francisella tularensis</i> 15 НИИЭГ концентрацией $(25 \pm 2,5) \times 10^9$ микробных клеток (м.к.) в 1 мл по стандартному образцу мутности ОСО 42-28-85 соответствующего года выпуска, эквивалентного 5×10^9 м.к. туляреминого микроба в натрия хлорида растворе 0,9 %. Консервант – формалин, 0,5 % от объема. Изделие представляет собой гомогенную взвесь серовато-белого цвета. В процессе хранения выпадает осадок, легко разбивающийся при встряхивании	комплект 1	комплект 2
		10 ампл. (по 1,0 мл)	10 ампл. с кольцом или точкой для вскрытия (по 1,0 мл)

Комплект 1 укомплектован принадлежностями - скарификатором ампульным.

Комплект 2. При упаковке ампул с кольцом или точкой для вскрытия скарификатор не вкладывают.

«Диагностикум туляреминый жидкий для объемной и кровянокапельной реакции агглютинации» упакован в пачку из картона вместе с инструкций по применению, принадлежностями (комплект 1). К комплекту поставки прикладывают паспорт.

ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Базовые варианты комплектации диагностикума рассчитаны на проведение 10 анализов, включая контрольные. Изделие не подлежит ремонту и техническому обслуживанию.

ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

Метод агглютинации основан на образовании комплекса антиген-антитело (происходит склеивание и выпадение в осадок (видимый невооруженным глазом) микробных тел при взаимодействии их со специфическими антителами – агглютинидами).

ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Для анализа используют кровь (капля периферийной крови из пальца человека или сухая капля крови) или сыворотку крови людей, полученную стандартными лабораторными методами.

От больных или лиц с подозрением на туляремию в динамике заболевания исследуют парные сыворотки с интервалом 7-10 дней.

У вакцинированных туляремийной вакциной лиц отбирают образцы крови или сыворотки крови через 5 лет после вакцинации, а в последующем – 1 раз в 2 года для оценки состояния иммунитета.

Исследуемые образцы крови или сыворотки крови хранят в условиях, предотвращающих бактериальную контаминацию при температуре от 2 до 8 °С. Если они не могут быть исследованы в течение 72 ч, их следует заморозить и хранить при температуре от минус 18 °С до минус 20 °С. Замороженные образцы перед исследованием разморозить при комнатной температуре, повторное замораживание не допускается. Исследование образцов с выраженным гемолизом, бактериальным проростом, а также длительно хранившихся без замораживания не допускается.

Перед проведением анализа образцы крови или сыворотки крови разводят стерильным натрием хлорида раствором 0,9 % рН 7,0 ± 0,1.

Для подготовки для анализа капли крови и сухой капли крови используют стерильную воду для инъекций.

Для получения сухой капли, две капли крови, взятые из пальца, наносят на прямоугольный кусочек целлофана или пергамента размером 5 x 8 см, подсушивают при комнатной температуре или в термостате при температуре (37 – 43) °С. После подсыхания крови бумагу осторожно складывают каплями внутрь и пересылают в лабораторию. Срок хранения сухой капли крови на бумаге не более 8 сут.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность: изделие должно давать положительную объемную реакцию агглютинации с сывороткой диагностической туляремийной сухой для реакции агглютинации (РА) в разведении не менее 2/3 ее титра, реакцию агглютинации на стекле – в разведении сыворотки 1:50.

Специфичность: изделие не должно давать положительную объемную реакцию агглютинации с раствором натрия хлорида в течение 1-4 мин.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 3 (Приказ МЗ РФ №4н от 6 июня 2012 г.). «Диагностикум туляремийный жидкий для объемной и кровянокапельной реакции агглютинации» является безопасным средством.

Однако, исследуемые материалы, а также их растворы, оборудование и материалы, находящиеся с ним в контакте, представляют собой потенциально инфекционный материал, при работе с которым необходимо соблюдать правила техники безопасности в соответствии с:

- ГОСТ Р 52905-2007 (ИСО 15190:2003) «Лаборатории медицинские. Требования безопасности»;
- СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней»;
- СП 3.1.7.2642-10 «Профилактика туляремии. Санитарно-эпидемиологические правила»;

- МУК 4.2.2939-11 «4.2. Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики туляремии для лабораторий территориального, регионального и федерального уровней. Методические указания»;

- МУ 3.4.3008-12 "3.4. Санитарная охрана территории. Порядок эпидемиологической и лабораторной диагностики особо опасных, "новых" и "возвращающихся" инфекционных болезней. Методические указания";

- МУ 3.3.1.2161-07 «Основные требования к вакцинным штаммам тулярийного микроба. Методические указания».

Исследуемые кровь или сыворотка крови людей, оборудование и материалы, находящиеся с ними в контакте представляют собой потенциально инфекционный материал и обращаться с ними следует осторожно:

- работать в одноразовых резиновых перчатках;
- не пипетировать ртом;
- в случае пролива крови или сыворотки крови людей на рабочие поверхности, необходимо проводить дезинфекцию 6 % раствором водорода перекиси;
- все использованные материалы, а также их растворы подвергать обработке 6 % раствором водорода перекиси;
- инструменты и оборудование до и после работы протирать 70 % этиловым спиртом;

Утилизировать неиспользованные материалы следует в соответствии с требованиями Сан-ПиН 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".

СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

Объективные результаты анализа гарантируются при выполнении следующих условий:

- хранение изделия осуществлять при температуре от 2 до 8 °С в герметично укупоренном виде;
- не использовать изделие с истекшим сроком годности;
- не использовать изделие при отсутствии на его упаковке соответствующей маркировки;
- диагностикум после вскрытия ампулы пригоден к использованию в течение 2 ч.

Оборудование и материалы

- рН-метр;
- термостат поддерживающий температуру $(21 \pm 1) ^\circ\text{C}$;
- термостат поддерживающий температуру $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$;
- холодильник бытовой $(5 \pm 3) ^\circ\text{C}$;
- дозаторы пипеточные со сменными наконечниками одноканальные переменного объема 500 - 10000 мкл;
- пробирки;
- агглютинационные пробирки;
- пипетки градуированные вместимостью 1,0 мл;
- штатив для пробирок;
- стекла предметные;
- палочка стеклянная;
- бумага фильтровальная;
- натрия хлорида раствор 0,9 % рН $7,0 \pm 0,1$;
- вода для инъекций.

ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Приготовление рабочего раствора диагностикума

Для приготовления рабочего раствора диагностикума используют стерильный натрия хлорида раствор 0,9 % рН $7,0 \pm 0,1$.

Рабочий раствор готовят непосредственно перед внесением в пробирки с разведенной исследуемой пробой крови или сыворотки крови. Диагностикум разводят 1:5 натрия хлорида раствором

0,9 %, предварительно тщательно встряхнув содержимое ампулы. Рабочий раствор должен представлять собой слегка опалесцирующую жидкость без хлопьев и посторонних частиц. Рабочий раствор хранению не подлежит.

Постановка реакции агглютинации объемным методом.

В ряд пробирок помещают по 0,5 мл крови или сыворотки крови обследуемого, разведенной стерильным натрия хлорида раствором 0,9 % в соотношении 1:12,5; 1:25; 1:50; 1:100; 1:200; 1:400 (по объему), и добавляют по 0,5 мл рабочего раствора диагностикума. Получают фактические разведения сыворотки 1:25; 1:50; 1:100; 1:200; 1:400; 1:800. В контрольную пробирку вносят 0,5 мл натрия хлорида раствора 0,9 % и 0,5 мл рабочего раствора диагностикума. Штатив с пробирками встряхивают, помещают в термостат и выдерживают 2 ч при температуре $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$, а затем 24 ч при температуре $(21 \pm 1) ^\circ\text{C}$.

Постановка кровянокапельной реакции агглютинации на стекле.

Каплю периферийной крови из пальца человека с подозрением на заболевание туляремией помещают на предметное стекло. Смешивают каплю крови на стекле с каплей стерильной воды для инъекций до наступления гемолиза эритроцитов. Рядом с этой каплей помещают каплю неразведенного диагностикума (содержимое ампулы с изделием предварительно встряхнуть). Стеклой палочкой или краем предметного стекла смешивают обе капли. Контролем служат две смешанные капли: изделия и натрия хлорида раствора 0,9 %.

Постановка кровянокапельной реакции агглютинации с сухой каплей крови.

На сухую каплю крови наносят 1-2 капли воды для инъекций и осторожно перемешивают. После растворения каплю переносят пипеткой на предметное стекло, добавляют 1 каплю неразведенного диагностикума и перемешивают стеклянной палочкой или краем предметного стекла.

Результаты анализа регистрируют визуально.

Регистрация и учет результатов

Реакцию агглютинации объемным методом считают положительной, если наблюдается просветление жидкости и образование ясно видимого осадка, который при легком встряхивании поднимается со дна в виде хлопьев. В контрольной пробирке агглютинация должна отсутствовать.

Кровянокапельную реакцию агглютинации на стекле с сывороткой или каплей сухой крови учитывают через 1-4 мин после соединения их с диагностикумом. Положительную реакцию отмечают одним или двумя крестами в зависимости от времени появления и степени ее выраженности. Появление отчетливого агглютината через 2-3 мин – два креста, слабого агглютината через 3-4 мин – один крест. В контроле с натрия хлорида раствором 0,9 % микробная взвесь изделия должна оставаться гомогенной в течение 1-4 мин. Допускается неспецифическая агглютинация.

Примечание: Агглютинация является неспецифической, если позднее, чем через 4 мин в контроле с натрия хлорида раствором 0,9 % появляется слабый агглютинат.

За титр, подтверждающий наличие антител, при исследовании крови или сыворотки крови от больных людей в объемной реакции принимают титр 1:100, в кровянокапельной реакции на стекле – 1:50. Диагностически достоверным является 4-кратное и более увеличение титра антител. У вакцинированных и лиц, обследуемых перед вакцинацией, подтверждением наличия антител является титр не менее 1:20.

При изучении иммунологического состояния организма, привитого против туляремии, реакцию агглютинации (объемную и кровянокапельную) ставят по указанным выше схемам. Ввиду сравнительно низких титров агглютининов в объемной реакции агглютинации разведения сыворотки следует начинать с 1:10.

СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности изделия 2 года.

Срок годности диагностикума после вскрытия ампулы – 2 часа. Диагностикум после разведения хранению не подлежит.

ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ

Хранение

Хранение изделия в соответствии с СП 3.3.2.3332-16 в упаковке производителя должно производиться в течение всего срока годности при температуре от 2 до 8 $^\circ\text{C}$. Замораживание не допускается.

Транспортирование

Транспортирование изделия должно производиться в соответствии с СП 3.3.2.3332-16 всеми видами крытого транспорта при температуре от 2 до 8 °С. Замораживание не допускается.

УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для учреждений здравоохранения.

ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

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, 644080, Омская область, г. Омск, пр-кт Мира, д. 7, тел. (3812) 65-06-22.

Взамен инструкции утвержденной 27.03.2018 г.