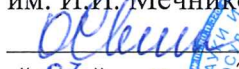


«СОГЛАСОВАНО»

Директор
ФГБНУ НИИВС

им. И.И. Мечникова

 О.А. Свити́ч

« 07 » 11 2022 г.



«УТВЕРЖДАЮ»

Главный специалист-эксперт
по направлению МИБП

Управления по регистрации

АО «НПО «Микроген»

по доверенности

 О. М. Волощук

« 01 » 11 2022 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинского изделия

Набор реагентов Диагностикум риккетсиозный Тифи для РСК
по ТУ 21.10.60 -156-20401675-2022

Регистрационное удостоверение № ФСР 2012/13114

НАЗНАЧЕНИЕ

Медицинское изделие для диагностики *in vitro* предназначено для серологической диагностики эндемического (крысиного) сыпного тифа в реакции связывания комплемента (РСК).

Функциональное назначение - вспомогательное средство в диагностике эндемического (крысиного) сыпного тифа.

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

Принадлежности.

Скарификатор ампульный – 1 шт.

Характеристика компонентов изделия

1. Диагностикум риккетсиозный Тифи для РСК представляет собой антигенный комплекс, выделенный методом эфирной обработки из риккетсий Тифи вирулентного штамма «Исаханян», 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 Тифи для РСК получена из крови продуцентов (морских свинок) после заражения вирулентной культурой риккетсий Тифи, 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: Диагностикум риккетсиозный Тифи для РСК, лиофилизированный из объема 0,5 мл - 10 ампул; сыворотка диагностическая к риккетсиям Тифи для РСК, лиофилизирован-

ная из объема 0,1 мл - 3 ампулы, скарификатор ампульный – 1 шт. в пачке из картона с инструкцией по применению, паспорт в комплекте поставки.

Целевой анализит - комплементсвязывающие антитела к риккетсиям Тифи.

Вид анализа полуколичественный. Изделие рассчитано на проведение 30 анализов в пробирках.

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 Тифи для РСК до его титра; с сывороткой диагностической к риккетсиям Провачека для РСК на 1–2 разведения ниже его титра; не должен реагировать с сывороткой диагностической к коксииеллам Бернета; не должен обладать антикомплемментарностью.

Сыворотка должна образовывать специфические комплексы, вызывающие задержку гемолиза, с диагностикумом риккетсиозным Тифи для РСК до её титра; с диагностикумом риккетсиозным Провачека для РСК на 1–2 разведения ниже её титра; не должна реагировать с диагностикумом коксииеллезным Бернета для РСК; не должна обладать антикомплемментарностью

Специфическая активность

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

Специфический титр сыворотки диагностической к риккетсиям Тифи для РСК 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 репродуктивную 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 Тифи.

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 «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 и лабораторную посуду 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 6).

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 истёкшим 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»);
- дефибринированная 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) °C;
- термостат (37 ± 1) °C;
- холодильник бытовой (2 – 8) °C;
- 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) °C в течение (30 ± 2) мин. Допускается хранение инактивированной сыворотки при температуре от 2 до 8 °C 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 для основного опыта осуществляют непосредственно перед его использованием.

1.2. Готовят 3 % взвесь эритроцитов крови барана: свежую (срок хранения при температуре $(5\pm 3)^\circ\text{C}$ не более 7 суток) дефибринированную кровь барана отмывают натрия хлорида раствором 0,9 % путем центрифугирования при (3000 ± 150) оборотов в минуту 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.

1.3. Готовят гемолитическую систему: смешивают равные объемы 3 % взвеси эритроцитов барана и рабочего разведения гемолитической сыворотки. Гемолитическую систему выдерживают при температуре $(36-38)^\circ\text{C}$ в течение $(28-32)$ мин.

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

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

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

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

1.8. Перемешивают содержимое пробирок встряхиванием до получения гомогенной взвеси эритроцитов. Пробирки выдерживают в термостате при температуре $(36-38)^\circ\text{C}$ в течение $(28-32)$ мин.

1.9. 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 хлорида 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 раствора 0,9 %, 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 пробирок 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 эндемического сыпного тифа.

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 0,2 мл натрия хлорида раствора 0,9 % и 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 1 ч 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 её 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 эндемическим сыпным тифом 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 эндемического 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 и в адрес производства: Россия, 614089, Пермский край, г. Пермь, ул. Братская, д. 177, тел. (342) 281-94-96.

Взамен инструкции утвержденной 16.06.2020 г.