

«СОГЛАСОВАНО»

Директор
ФГБНУ НИИВС
им. И.И. Мечникова


« 07 » 2022 г.

О.А. Свитич

2022 г.



«УТВЕРЖДАЮ»

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


« 25 » 2022 г.

О.М. Волощук

2022 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинского изделия

Набор реагентов Антиген риккетсиозный Провачека для РНГА, сухой
по ТУ 21.20.23-037-20401675-2022

Регистрационное удостоверение № ФСР 2007/01526

НАЗНАЧЕНИЕ

Медицинское изделие для диагностики *in vitro* предназначено для серологической диагностики эпидемического сыпного тифа и болезни Брилля в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА).

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 ИЗДЕЛИЯ

Компонент	Количество
Антиген риккетсиозный Провачека для РНГА	10 ампул, лиофилизат из 0,5 мл
Сыворотка Провачека сухая для РНГА	3 ампулы, лиофилизат из 0,1 мл

Принадлежности.

Скарификатор ампульный – 1 шт.

Характеристика компонентов изделия

1. Антиген риккетсиозный Провачека для РНГА представляет собой полисахаридный комплекс, выделенный из живых риккетсий Провачека вирулентного штамма Брейнль, выращенных в желточных оболочках куриных эмбрионов и очищенных методом дифференциального центрифугирования в сочетании с эфирной обработкой, с дальнейшим термическим экстрагированием в присутствии натрия гидроксида и последующим диализом, лиофилизированный из объёма 0,5 мл.

Консервант – тиомерсал (мертиолят) в конечной концентрации $(0,01 \pm 0,002) \%$.

Аморфная масса в виде порошка или «таблетки» желтовато -белого цвета

2. Сыворотка диагностическая к риккетсиям Провачека сухая для РНГА получена из крови продуцентов кроликов после внутрибрюшинного и интратестикулярного заражения вирулентной культурой риккетсий Провачека, инаktivированная, адсорбированная эритроцитами барана, лиофилизированная из объёма 0,1 мл. Стабилизатор – сахароза (ГОСТ 5833) в конечной концентрации 2 %.

Таблетка или аморфная масса от желтовато-белого до коричневатого-розового цвета.

Используют в качестве положительного контрольного образца при постановке РНГА.

ПРИНЦИП АНАЛИТИЧЕСКОГО МЕТОДА И ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

Антиген выявляет гемагглютинирующие антитела к риккетсиям Провачека в РНГА.

ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Изделие предназначено для лабораторной диагностики, для однократного применения по назначению.

Комплектация: компоненты изделия Антиген риккетсиозный Провачека для РНГА лиофилизат из объема 0,5 мл - 10 ампул; Сыворотка диагностическая к риккетсиям Провачека сухая для РНГА, лиофилизат из объема 0,1 мл - 3 ампулы в пачке (коробке) из картона с инструкцией по применению, скарификатором ампульным; паспорт (в комплекте поставки).

Целевой анализ - гемагглютинирующие антитела к риккетсиям Провачека. Вид анализа полуколичественный.

Изделие рассчитано на проведение 200 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

Специфичность. Антиген должен агглютинироваться сывороткой диагностической к риккетсиям Провачека для РНГА, не должен агглютинироваться сывороткой диагностической к коксиеллам Бернета для РНГА, не должен давать спонтанную агглютинацию с 0,9% натрия хлорида рН (6,8-7,2).

Сыворотка должна агглютинировать антиген риккетсиозный Провачека для РНГА, не должна агглютинировать 1% взвесь эритроцитов барана, необработанных антигеном.

Специфическая активность. Специфический титр Антигена риккетсиозного Провачека в РНГА с сывороткой диагностической к риккетсиям Провачека для РНГА должен быть не ниже разведения 1:40.

Специфический титр в РНГА сыворотки диагностической Провачека для РНГА с антигеном Провачека для РНГА - не ниже разведения 1:1000.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С ИЗДЕЛИЕМ

Класс потенциального риска применения набора – 2б.

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 кроликов. Сыворотка крови кроликов, получена от животных, прошедших ветеринарный контроль и находящихся под наблюдением ветеринарного специалиста.

Входящие в состав набора компоненты инаktivированы. Однако, исследуемые образцы, а также 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» 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 6.

Утилизация изделий, пришедших в негодность, с истекшим сроком годности и обеззараженных изделий после контакта с биологическими образцами 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:

- строгое соблюдение настоящей инструкции по применению;
- соблюдение условий 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 (первичной) упаковки.

ОБОРУДОВАНИЕ, МАТЕРИАЛЫ И РЕАГЕНТЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С ИЗДЕЛИЕМ:

- планшет полистироловый с лунками;
- пипетки градуированные 2 класса точности емкостью 1,0; 2,0; 5,0; 10 мл;
- пробирки химические центрифужные;
- пробирки химические;
- карандаш по стеклу;
- груша резиновая;
- трубка медицинская соединительная тип 6 (ГОСТ 3399-76);
- перчатки хирургические резиновые;
- штатив для пробирок полимерный;
- термостат 37 °С;
- центрифуга, 3000 об/мин;
- термобаня (инактиватор), инактиватор сывороток 56 °С;
- кровь баранья дефибринированная;
- натрия хлорида раствор 0,9 % рН (6,8-7,2) (ЗФР)

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

2. Подготовка эритроцитов барана

Используют дефибринированную свежую кровь барана, срок хранения при температуре $(5 \pm 3)^\circ\text{C}$ не более 7 сут. В день постановки реакции дефибринированную кровь отмывают ЗФР путем центрифугирования при (3000 ± 150) об/мин в течение 10 минут не менее трех раз. Надосадочную жидкость удаляют. Осадок эритроцитов используют сразу после приготовления. При наличии гемолиза эритроциты барана к употреблению не пригодны.

Адсорбция гетерогенных гемагглютининов: в центрифужную пробирку наливают 0,9 мл ЗФР и 0,1 мл исследуемой сыворотки, получая разведение сыворотки 1:10; добавляют 0,05 мл (половинный объём по отношению к сыворотке) осадка эритроцитов барана; смесь выдерживают при комнатной температуре в течение 15-20 минут, периодически встряхивая; центрифугируют (10 ± 1) минут при скорости (3000 ± 150) об/мин. Отделившуюся адсорбированную сыворотку в разведении 1:10 (надосадочная жидкость) используют для приготовления дальнейших разведений.

3. Приготовление начального разведения сыворотки 1:125: к 11,5 мл ЗФР, добавляют 1,0 мл адсорбированной исследуемой сыворотки в разведении 1:10 и перемешивают.

4. Приготовление последующих двукратных разведений сыворотки с 1:125 до 1:64000: используют 10 пробирок; в первую пробирку вносят 2,0 мл сыворотки в разведении 1:125, в 9 оставшихся пробирок по 1,0 мл ЗФР; переносят 1,0 мл сыворотки в разведении 1:125 из первой пробирки в следующую и перемешивают, получая разведение 1:250; готовят последующие двукратные разведения путём переноса 1,0 мл предыдущего разведения сыворотки в следующую пробирку, содержащую 1,0 мл ЗФР.

Примечание:

Состав натрия хлорида раствора 0,9 % рН (6,8-7,2) (ЗФР):

- натрия хлорид (ГОСТ4233) — 8,3 г;
- натрий фосфорнокислый двузамещённый 12-водный Na_2HPO_4 (ГОСТ 4172) — 0,56 г;
- калий фосфорнокислый однозамещённый KH_2PO_4 (ГОСТ 4198) — 0,080 г;
- вода очищенная (ФС.2.2.0020.18) до 1000 мл

ПОДГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ И РАСТВОРОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Разведения всех ингредиентов реакции готовят с использованием ЗФР.

В день постановки РНГА антиген растворяют в объеме, указанном на этикетке ампулы (10 мл). Время растворения не превышает 2 мин, растворенный препарат представляет собой прозрачную или слегка опалесцирующую жидкость.

Содержимое ампулы с сывороткой диагностической Провачека для РНГА сухой раство-

ряют в 12,5 мл ЗФР, получая исходное разведение 1:125. Время растворения не превышает 2 мин, растворенная сыворотка представляет собой прозрачную бесцветную жидкость без хлопьев. Готовят двукратные разведения сыворотки (см. выше п.4) с использованием ЗФР с 1:125 до одного-двух разведений, превышающих ее титр, указанный на этикетке ампулы.

Приготовление 1 % взвеси эритроцитов барана, сенсibilизированных антигеном.

К 4 мл растворенного антигена добавляют 0,1 мл осадка эритроцитов барана, тщательно перемешивают встряхиванием и выдерживают 1 час в термостате при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$, повторяя встряхивание каждые 10 – 15 минут. Смесь центрифугируют 10 минут при скорости (3000 ± 150) об/мин и полностью удаляют надосадочную жидкость. К осадку добавляют 10 мл ЗФР.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

РНГА ставится в лунках стандартного полистиролового планшета в объеме 0,5 мл. В лунки наливают по 0,4 мл двукратно разведенной ЗФР исследуемой сыворотки от 1:125 до 1:64000 (всего 10 лунок). В каждую лунку добавляют по 0,1 мл 1 % взвеси эритроцитов барана, сенсibilизированных антигеном.

Реакцию сопровождают контролем:

- на отсутствие гетерогенных гемагглютининов в исследуемой сыворотке: к 0,4 мл сыворотки в разведении 1:125 добавляют 0,1 мл 1 % взвеси интактных (не сенсibilизированных антигеном) эритроцитов барана, для получения такой взвеси к 0,1 мл осадка трижды отмытых эритроцитов барана добавляют 9,9 мл ЗФР ;

- на отсутствие спонтанной агглютинации эритроцитов барана, сенсibilизированных антигеном: к 0,4 мл ЗФР добавляют 0,1 мл 1 % взвеси эритроцитов барана, сенсibilизированных антигеном;

- на отсутствие спонтанной агглютинации интактных эритроцитов барана: к 0,4 мл ЗФР добавляют 0,1 мл 1 % взвеси эритроцитов барана, не сенсibilизированных антигеном;

Содержимое лунок перемешивают интенсивным покачиванием до получения гомогенной взвеси и оставляют на (18 ± 2) ч при температуре $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$.

РЕГИСТРАЦИЯ И УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проводят визуально по наличию или отсутствию агглютинации эритроцитов.

При положительной реакции (+) на дне лунки образуется широкий зернистый осадок из склеившихся эритроцитов в виде перевернутого зонтика.

При отрицательной реакции (-) эритроциты оседают на дне лунки в виде ровного диска или компактного кольца с гладким краем.

Результаты реакции считают достоверными при следующих условиях:

- испытуемая сыворотка не агглютинирует интактные эритроциты барана;
- отсутствует спонтанная агглютинация интактных и сенсibilизированных эритроцитов барана;
- сыворотка диагностическая агглютинирует эритроциты барана, сенсibilизированные антигеном, до ее титра, указанного на этикетке.

За титр исследуемой сыворотки принимают ее наибольшее разведение, которое агглютинирует эритроциты барана, сенсibilизированные антигеном.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

При заболевании сыпным тифом РНГА становится положительной при разведении сыворотки 1:125 – 1:250 на 5 – 7 день болезни, нарастание титра до 1:1000 – 1:64000 наблюдается на второй неделе заболевания. В связи с этим рекомендуется исследовать парные сыворотки, полученные на 5 – 7 и 12 – 15 дни заболевания.

Диагностическим титром исследуемой сыворотки при однократном исследовании является положительная реакция, начиная с разведения 1:1000.

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.