



 «УТВЕРЖДАЮ»
 Начальник Управления регистрации
 и медицинских исследований
 АО «НПО «Микроген»
 _____ А.Е. Ершов
 «___» _____ 2020 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению

Набора реагентов «Диагностикум эритроцитарный сальмонеллезный О-антигенный комплексный (1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 12), жидкий» Набор №1

Регистрационное удостоверение № ФСР 2008/03075

НАЗНАЧЕНИЕ

Изделие для диагностики *in vitro* предназначено для выявления в сыворотке крови человека специфических антител к О-антигенам сальмонелл в реакции пассивной гемагглютинации (РПГА).

Функциональное назначение - вспомогательное средство в диагностике.

Показания к применению изделия в соответствии с его назначением.

Противопоказания при применении изделия согласно инструкции – отсутствуют.

ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗДЕЛИЯ

Состав изделия. Набор реагентов Диагностикум эритроцитарный сальмонеллезный комплексный (1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 12) жидкий (набор №1).

Компонент	Количество
1. Диагностикум эритроцитарный сальмонеллезный комплексный (1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 12) жидкий	1 флакон, 6 мл
2. Сыворотки диагностические сальмонеллезные неадсорбированные сухие к каждой из отдельных серогрупп (А, В, С ₁ , С ₂ , Д, Е): Сыворотка диагностическая сальмонеллезная неадсорбированная сухая серогруппы А; Сыворотка диагностическая сальмонеллезная неадсорбированная сухая серогруппы В; Сыворотка диагностическая сальмонеллезная неадсорбированная сухая серогруппы С ₁ ; Сыворотка диагностическая сальмонеллезная неадсорбированная сухая серогруппы С ₂ ; Сыворотка диагностическая сальмонеллезная неадсорбированная сухая серогруппы Д; Сыворотка диагностическая сальмонеллезная неадсорбированная сухая серогруппы Е	6 флаконов, лиофилизат из 0,1 мл
3.1 % взвесь формализированных, несенсибилизированных эритроцитов барана	1 флакон, 1 мл

4.Натрия хлорида 0,9 % раствор	4 флакона по 8 мл
5.Планшет полимерный для иммунологических реакций однократно-го применения	2 шт.

Характеристика компонентов изделия.

1.Диагностикум эритроцитарный сальмонеллезный комплексный (1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 12) жидкий получен путем сенсибилизации эритроцитов смесью О-антигенов сальмонелл групп (1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 12). Представляет собой 1 % взвесь формализированных эритроцитов барана, сенсибилизированных антигенами из сальмонелл в фосфатном буферном растворе (рН- $7,2 \pm 0,2$; концентрация – 0,06 моль/л). Консервант – формалин в конечной концентрации 0,5 %.

Гомогенная суспензия коричневого цвета без хлопьев; при отстаивании образуется 2 слоя: плотный коричневый осадок эритроцитов и прозрачная желтоватая надосадочная жидкость.

2.Сыворотки диагностические сальмонеллезные неадсорбированные сухие к каждой из отдельных серогрупп: А, В, С₁, С₂, Д, Е получены из крови кроликов, иммунизированных обработанной формалином микробной взвесью сальмонелл и лиофилизированные из объема 0,1 мл. Консервант борная кислота в конечной концентрации 2 %. Стабилизатор – сахароза в конечной концентрации 4 %.

Гомогенная масса от белого с коричневатым оттенком до светло-желтого цвета.

3. 1 % взвесь формализированных, несенсибилизированных эритроцитов барана – (контрольные эритроциты). Взвесь формализированных несенсибилизированных эритроцитов барана в фосфатном буферном растворе (рН $7,2 \pm 0,2$, концентрация – 0,06 моль/л). Консервант – формалин в конечной концентрации 0,5 %.

Гомогенная суспензия коричневого цвета без хлопьев; при отстаивании образуется 2 слоя: плотный коричневый осадок эритроцитов и прозрачная желтоватая надосадочная жидкость.

4. Натрия хлорида 0,9 % раствор (поддерживающий раствор для проведения РПГА в заданных условиях), содержит натрия хлористого - 9 г, воду очищенную - до 1 л, рН от 6,5 до 7,5. Прозрачная бесцветная жидкость.

5. Планшет полимерный для иммунологических реакций однократного применения. Состоит из 8 рядов, каждый из которых включает в себя 12 лунок с прозрачным, бесцветным, круглым дном.

ПРИНЦИП АНАЛИТИЧЕСКОГО МЕТОДА И ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

Действующим началом диагностикума являются специфические антигены сальмонелл, фиксированные на поверхности эритроцитов. При взаимодействии с сыворотками, содержащими антитела к сальмонеллам, наблюдается феномен агглютинации эритроцитов.

ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Набор реагентов «Диагностикум эритроцитарный сальмонеллезный О-антигенный комплексный (1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 12), жидкий» (Набор № 1) рассчитан на проведение 16 анализов.

Изделие предназначено для клинической лабораторной диагностики, для однократного применения по назначению. Вид аналита – полуколичественный. Ремонту и обслуживанию не подлежит.

Пользователями изделия могут быть специалисты бактериологических лабораторий лечебно-профилактических учреждений с высшим и средним специальным образованием, прошедшие специальную подготовку и допущенные к работе с патогенными микроорганизмами в соответствии с СП 1.3.2322-08.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность: диагностикум должен агглютинироваться сыворотками диагностическими сальмонеллезными неадсорбированными сухими к каждой из отдельных серогрупп: А, В, С₁, С₂, Д, Е, в РПГА в разведении не ниже 1/2 их титра, но не менее, чем 1:3200 для сывороток серогрупп В, С₁, С₂, Д, Е и 1:800 для сыворотки серогруппы А.

Специфичность: диагностикум должен агглютинироваться в РПГА сыворотками диагностическими сальмонеллезными (гомологичными) неадсорбированными сухими; диагностикум не должен агглютинироваться в РПГА гетерологичными сыворотками к сальмонеллам серогрупп, не имеющих О-антигенов, в разведениях, превышающих 1/8 титра специфической активности.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С ИЗДЕЛИЕМ

Потенциальный риск применения набора – класс 2 б.

Медицинское изделие является безопасным при транспортировании, хранении и применении и не приносит вреда окружающей природной среде и здоровью человека. Входящие в состав набора сыворотки диагностические сальмонеллезные неадсорбированные сухие к каждой из отдельных серогрупп: А, В, С₁, С₂, Д, Е инаktivированы. Утилизация изделий, не прошедших контроль (забракованные изделия), а также с истекшим сроком годности и неиспользованных изделий, не требует специальных мер безопасности, которые уничтожаются в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требо-

вания к обращению с медицинскими отходами».

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 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности»;
- СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней» (для бактериологических лабораторий учреждений, осуществляющих государственный санитарно-эпидемиологический надзор и лечебно-профилактических учреждений);
- СП 1.3.2518-09 «Дополнения и изменения № 1 к СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III - IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней»;
- СП 1.3.2885-11 «Дополнения и изменения № 2 к СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III - IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

Исследуемые образцы, оборудование и материалы, находящиеся с ними в контакте представляют собой потенциально инфекционный материал, и обращаться с ними следует осторожно. Анализируемые сыворотки должны быть инактивированы в течение 30 минут при температуре 56 °С:

Необходимо:

- работать в боксированных помещениях для проведения микробиологических исследований с применением индивидуальных средств защиты (защитной одежды и одноразовых резиновых перчаток);
- не пипетировать ртом;
- в случае пролива образцов и рабочих растворов на рабочие поверхности, необходимо проводить дезинфекционную обработку с использованием дезинфицирующих средств, эффективность которых подтверждена в отношении используемого в работе возбудителя;
- инструменты и оборудование (до и после работы) подвергать обработке с использованием дезинфицирующих средств, эффективность которых подтверждена в отношении используемого в работе возбудителя;
- утилизировать все использованные материалы, а также их растворы, исследуемые образцы и их растворы в соответствии с действующими санитарными правилами работы с патогенными микроорганизмами.

СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

ПЕРЕЧЕНЬ РИСКОВ, ИДЕНТИФИЦИРОВАННЫХ В ПРОЦЕССЕ АНАЛИЗА РИСКОВ И МЕРЫ ПО СНИЖЕНИЮ РИСКОВ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ИЗДЕЛИЯ

Требования к персоналу, который проводит исследования, изложено в СП 1.3.2322-08.

Объективные результаты анализа гарантируются при выполнении следующих условий:

- хранение всех реагентов набора осуществлять при температуре от 2 до 8 °С;
- не использовать реагенты с истекшим сроком годности;
- не использовать реагенты набора при отсутствии на их упаковке соответствующей маркировки;
- для проведения РПГА использовать реагенты, входящие только в данный набор.

При проведении анализа следует учитывать СП 3.1.7.2616-10 «Профилактика сальмонеллеза», МУ 4.2.2723-10 «4.2. Биологические и микробиологические факторы. Лабораторная диагностика сальмонеллез. Обнаружение сальмонелл в пищевых продуктах и объектах окружающей среды», «Инструкцию о порядке расследования, учета и проведения лабораторных исследований в учреждениях санитарно-эпидемиологической службы при пищевых отравлениях» М. 1973, «Методические указания по микробиологической диагностике заболеваний, вызываемых энтеробактериями» М. 1984.

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

- микропипетки с одноразовыми наконечниками и пипетки для внесения жидкостей;
- термостат на 37 °С;
- контейнер для слива обеззараженных анализируемых сывороток и реагентов;
- контейнер для твердых отходов.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

В качестве анализируемых образцов используют образцы сыворотки крови человека.

Анализируемый образец хранят в условиях, предотвращающих бактериальный пророст при температуре от 2 до 8 °С не более 72 часов. Допускается замораживание, замороженные анализируемые образцы перед исследованием разморозить при комнатной температуре. Парные сыворотки должны исследоваться одновременно (для этого первая сыворотка до исследования должна храниться в замороженном виде).

Анализ образцов с выраженным гемолизом, бактериальным проростом, а также длительно хранившихся без замораживания или повторно замораживаемых не допускается.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Подготовка компонентов для РПГА.

Вскрыть флаконы с сыворотками диагностическими сальмонеллезными неадсорбированными сухими из отдельных серогрупп: А, В, С₁, С₂, Д, Е и добавить в каждый по 1 мл прилагаемого 0,9 % раствора натрия хлорида, получив, таким образом, разведение 1:10.

Разведение 1:100 для каждой сыворотки диагностической сальмонеллезной неадсорбированной сухой серогрупп: А, В, С₁, С₂, Д, Е, готовить в первой лунке прилагаемого планшета: к 0,09 мл 0,9 % раствора натрия хлорида добавить 0,01 мл сыворотки диагностической сальмонеллезной неадсорбированной сухой (к каждой из отдельных серогрупп: А, В, С₁, С₂, Д, Е), разведенной 1:10.

Сыворотки диагностические сальмонеллезные неадсорбированные сухие к каждой из отдельных серогрупп: А, В, С₁, С₂, Д, Е после вскрытия флаконов можно хранить при температуре от 2 до 8 °С в разведении 1:10 в течение одного месяца во флаконах закрытых резиновыми пробками в вертикальном положении.

Диагностикум эритроцитарный сальмонеллезный комплексный (1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 12) готов к применению. Перед вскрытием флакон с диагностикумом необходимо осторожно встряхнуть до получения гомогенной суспензии. В ходе работы встряхивание рекомендуется повторять.

1 % взвесь формализированных, несенсибилизированных эритроцитов барана готова к применению, перед вскрытием флакон необходимо осторожно встряхнуть до получения гомогенной суспензии. В ходе работы встряхивание рекомендуется повторять.

0,9 % раствор натрия хлорида готов к применению.

Вскрытый флакон с диагностикумом, 1 % взвесью формализированных, несенсибилизированных эритроцитов барана можно хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение одного месяца в закрытом виде, в вертикальном положении.

Проведение РПГА.

При контроле любого количества анализируемых сывороток обязательна постановка 6 рядов агглютинации с сыворотками диагностическими сальмонеллезными неадсорбированными сухими к каждой из отдельных серогрупп: А, В, С₁, С₂, Д, Е.

Для постановки РПГА используют планшет для иммунологических реакций однократного применения.

Готовят двукратные серийные разведения анализируемых сывороток в 0,05 мл прилагаемого 0,9 % раствора натрия хлорида начиная с 1:10 до 1:2560 и 6 рядов двукратных серийных разведений сывороток диагностических сальмонеллезных неадсорбированных сухих к каждой из отдельных серогрупп: А, В, С₁, С₂, Д, Е, начиная с разведения 1:100, до удвоенного титра, указанного на этикетках флаконов контрольных сывороток.

В каждую из лунок с разведениями сыворотки добавляют по 0,025 мл диагностикума.

Обязательными контролями являются:

1. Контроль сывороток диагностических сальмонеллезных неадсорбированных сухих к каждой из отдельных серогрупп: А, В, С₁, С₂, Д, Е в разведении 1:100; контроль анализируемой сыворотки в разведении 1:10, для чего в 2 лунки вносят по 0,05 мл каждой из сывороток.

2. Проверка отсутствия спонтанной агглютинации диагностикума, для чего в 2 лунки, содержащие по 0,05 мл 0,9 % раствора натрия хлорида, добавляют по 0,025 мл диагностикума.

3. Контроль на отсутствие в анализируемой сыворотке агглютининов к эритроцитам барана, для чего в 2 лунки вносят по 0,05 мл анализируемой сыворотки в разведении 1:10 и добавляют по 0,025 мл 1 % взвеси несенсибилизированных формализированных эритроцитов барана.

Планшеты осторожно встряхивают и помещают на 2-2,5 часа в термостат при температуре $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$, после чего производят учет результатов.

РЕГИСТРАЦИЯ И УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет реакции производится по четырехкрестной системе:

(4+) - все эритроциты агглютинированы и равномерно покрывают дно лунки;

(3+) - агглютинированы почти все эритроциты. На их фоне имеется малозаметное кольцо из осевших неагглютинированных эритроцитов;

(2+) - наряду с равномерным агглютинатом на дне лунки имеется осадок из неагглютинированных эритроцитов в виде кольца;

(1+) - большинство эритроцитов неагглютинировано и осело в виде маленького «колечка» в центре дна лунки;

(-) – признаков агглютинации нет, эритроциты осели в центре дна лунки в виде «пуговки».

Примечание

В первых лунках планшета может наблюдаться «феномен» сползания агглютинированных эритроцитов с образованием по краю лунки кольца с неровным краем (эффект «свертывания зонтика»).

Положительной считается реакция в РПГА не менее чем на 3+.

Результаты, полученные в РПГА можно считать достоверными в том случае, если с сыворотками диагностическими сальмонеллезными неадсорбированными сухими к каждой из отдельных серогрупп: А, В, С₁, С₂, Д, Е получен положительный результат в разведении не ниже чем $\frac{1}{2}$ их титров, в 2 лунках с сыворотками диагностическими сальмонеллезными неадсорбированными сухими к каждой из отдельных серогрупп: А, В, С₁, С₂, Д, Е в разведениях 1:100, а с анализируемой сывороткой в разведении 1:10 не должно быть хлопьев и осадка; в лунках с 0,9% раствором натрия хлорида и диагностикумом, а также с несенсибилизированными формализированными эритроцитами барана и анализируемой сывороткой – реакция должна быть отрицательная.

Титром антител анализируемой сыворотки считается последнее разведение сыворотки, которая дает положительный результат в РПГА.

Интерпретация результатов.

Первоначально анализируемые сыворотки проверяют в РПГА с комплексным вариан-

том Набора реагентов «Диагностикум эритроцитарный сальмонеллезный О-антигенный комплексный (1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 12), жидкий» (Набор № 1), а при получении положительного результата – с использованием Набора №2 – на реакцию с диагностикумами к каждой из отдельных серогрупп: А, В, С₁, С₂, Д, Е. Условно-диагностическим титром считается титр не ниже 1:320 для взрослых, 1:80 для детей до 6 мес. и 1:110 для детей старше 6 мес.

Диагностически достоверным является увеличение (или падение) титров специфических антител к одному и тому же антигену не менее, чем на три разведения при исследовании парных сывороток в динамике заболевания.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ ИЗДЕЛИЯ

Транспортирование должно проводиться всеми видами крытого транспорта при температуре от 2 до 8 °С. Допускается кратковременное (не более 7 сут) транспортирование при температуре от 9 до 25 °С. Замораживание не допускается.

Хранение изделия в упаковке производителя должно производиться в течение всего срока годности при температуре от 2 до 8 °С. Замораживание не допускается.

Хранение компонентов изделия после вскрытия см. раздел инструкции «Подготовка компонентов для РПГА».

Срок годности – 18 мес со дня приемки. Изделие с истекшим сроком годности использованию не подлежит.

ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

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 04.09.2018 г.