

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

ИНСТРУКЦИЯ
по применению медицинского изделия
Набор реагентов
«Диагностикумы эритроцитарные шигеллезные
Флекснера 1-5 и Зонне антигенные, жидкие» по ТУ 21.20.23-069-20401675-2018
Регистрационное удостоверение № ФСР 2008/03074

НАЗНАЧЕНИЕ

Изделие для диагностики *ин витро* предназначено для выявления в сыворотке крови человека специфических антител к различным видам шигелл в реакции пассивной гемагглютинации (РПГА).

Функциональное назначение - вспомогательное средство в диагностике дизентерии.

Показания к применению изделия в соответствии с его назначением.

Противопоказания при применении изделия согласно инструкции – отсутствуют.

ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗДЕЛИЯ

Изделие выпускается в двух вариантах исполнения: набор реагентов «Диагностикум эритроцитарный шигеллезный Флекснера 1-5 антигенный, жидкий» или набор реагентов «Диагностикум эритроцитарный шигеллезный Зонне антигенный, жидкий».

Состав.

Вариант 1 - Набор реагентов «Диагностикум эритроцитарный шигеллезный Флекснера 1-5 антигенный, жидкий».

Компонент	Количество
1.Диагностикум эритроцитарный шигеллезный Флекснера 1-5 антигенный, жидкий	1 флакон, 3 мл
2.Сыворотка диагностическая шигеллезная Флекснера 1-5 неадсорбированная сухая	1 флакон, лиофилизат 0,1 мл
3. 1 % взвесь формализированных, несенсибилизированных эритроцитов барана	1 флакон, 1 мл
4. Натрия хлорида 0,9 % раствор	2 флакона по 8 мл
5. Планшет полимерный для иммунологических реакций однократного применения	1 шт.

Вариант 2 - Набор реагентов «Диагностикум эритроцитарный шигеллезный Зонне антигенный, жидкий».

Компонент	Количество
1.Диагностикум эритроцитарный шигеллезный Зонне антигенный, жидкий	1 флакон, 3 мл
2.Сыворотка диагностическая шигеллезная Зонне неадсорбированная сухая	1 флакон, лиофилизат 0,1 мл
3.1 % взвесь формализированных, несенсибилизированных эритроцитов барана	1 флакон, 1 мл
4.Натрия хлорида 0,9 % раствор	2 флакона по 8 мл
5. Планшет полимерный для иммунологических реакций однократного применения	1 шт.

Характеристика компонентов набора реагентов «Диагностикум эритроцитарный шигеллезный Флекснера 1-5 антигенный, жидкий».

1.Диагностикум эритроцитарный шигеллезный Флекснера 1-5 антигенный, жидкий

Получен путем сенсибилизации эритроцитов смесью антигенов шигелл Флекснера-подтипов 1а, 1в, 2а, 3а, 4в и 5. Представляет собой 1 % взвесь формализированных эритроцитов барана, сенсибилизированных липополисахаридными антигенами из шигелл в фосфатном буферном растворе (рН 7,2±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.Сыворотка диагностическая шигеллезная Флекснера 1-5 неадсорбированная сухая

Получают из крови кроликов, иммунизированных обработанной формалином микробной взвесью шигелл Флекснера 1-5. Кроликов иммунизируют внутривенно трех-пятикратно с интервалом 4-5 сут микробной взвесью в концентрации 500 млн, 1 млрд, 2 млрд, 4 млрд, 8 млрд микробных тел в 1 мл соответственно. Кровопускание проводят через 5 сут после последней инъекции антигена. Сыворотку сухую получают путем лиофилизации жидкой сыворотки 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.

Представляет собой 1 % взвесь формализированных несенсибилизированных эритроцитов барана в фосфатном буферном растворе ($\text{pH} - 7,2 \pm 0,2$); 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 хлорида - 9 г, воду очищенную - до 1 л, pH 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

Характеристика компонентов набора реагентов «Диагностикум эритроцитарный шигеллезный Зонне антигенный, жидкий».

1. Диагностикум эритроцитарный шигеллезный Зонне антигенный, жидкий

Получен путем сенсибилизации эритроцитов моноантигенами из шигелл Зонне. Представляют собой 1 % взвесь формализированных эритроцитов барана, сенсибилизированных липополисахаридными антигенами из шигелл в фосфатном буферном растворе ($\text{pH} 7,2 \pm 0,2$); 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. Сыворотка диагностическая шигеллезная Зонне неадсорбированная сухая

Получают из крови кроликов, иммунизированных обработанной формалином микробной взвесью шигелл Зонне. Кроликов иммунизируют внутривенно трех-пятикратно с интервалом 4-5 суток микробной взвесью в концентрации 500 млн, 1 млрд, 2 млрд, 4 млрд, 8 млрд микробных тел в 1 мл соответственно. Кровопускание проводят через 5 суток после последней инъекции антигена. Сыворотку сухую получают путем лиофилизации жидкой сыворотки из объема 0,1 мл. Консервант борная кислота в конечной концентрации 2 %. Стабилизатор – сахароза (ГОСТ 5833) в конечной концентрации 4 %.

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

3.1 % взвесь формализированных, несенсибилизированных эритроцитов барана	Контрольные эритроциты. Представляет собой 1 % взвесь формализированных не-сенсибилизированных эритроцитов барана в фосфатном буферном растворе (рН- 7,2 ± 0,2); концентрация – 0,06 моль/л). Консервант – формалин в конечной концентрации 0,5 %.
4. Натрия хлорида 0,9 % раствор	Гомогенная суспензия коричневого цвета без хлопьев; при отстаивании образуется 2 слоя: плотный коричневый осадок эритроцитов и прозрачная желтоватая надосаточная жидкость.
5. Планшет полимерный для иммунологических реакций однократного применения	Поддерживающий раствор для проведения РПГА в заданных условиях, содержит натрия хлорида - 9 г, воду очищенную - до 1 л, рН от 6,5 до 7,5. Прозрачная бесцветная жидкость.
	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 диагностикумов являются специфические антигены шигелл, фиксированные на поверхности эритроцитов диагностикума. При взаимодействии с сыворотками, содержащими антитела к шигеллам, наблюдается феномен агглютинации эритроцитов.

ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Набор реагентов «Диагностикум эритроцитарный шигеллезный Флекснера 1-5 антигенный, жидкий» и набор реагентов «Диагностикум эритроцитарный шигеллезный Зонне антигенный, жидкий» рассчитаны на проведение 8 анализов каждый.

Изделие предназначено для клинической лабораторной диагностики, для однократного применения по назначению. Вид анализа – полуколичественный. Ремонт 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: диагностикумы должны агглютинироваться гомологичной сывороткой диагностической шигеллезной (Флекснера 1-5 или Зонне) неадсорбированной сухой в РПГА в разведении не ниже, чем $\frac{1}{2}$ ее специфического титра, но не ниже, чем 1:6400.

Специфичность: диагностикумы должны агглютинироваться в РПГА гомологичными сыворотками диагностическими шигеллезными (Флекснера 1-5 или Зонне) неадсорбированными сухими.

Диагностикумы не должны агглютинироваться в РПГА гетерологичными шигеллезными сыворотками в разведении, превышающем 1/8 титра установленного при контроле специфической активности.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С ИЗДЕЛИЕМ

Потенциальный риск применения набора – класс 2 б.

Медицинское изделие набор реагентов является безопасным при транспортировании, хранении и применении и не приносит вреда окружающей природной среде и здоровью человека. Входящие в состав изделия сыворотка диагностическая шигеллезная Флекснера 1-5 неадсорбированная сухая или сыворотка диагностическая шигеллезная Зонне неадсорбированная сухая инаktivированы. 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».

Анализируемые сыворотки должны быть инаktivированы в течение 30 минут при температуре 56 °С.

Оборудование и материалы, находящиеся в контакте с исследуемыми образцами также представляют собой потенциально инфекционный материал, и обращаться с ними следует осторожно.

Необходимо:

- работать в боксированных помещениях для проведения микробиологических исследований с применением индивидуальных средств защиты (защитной одежды и одноразовых резиновых перчаток);
- не пипетировать ртом;

- при попадании на кожу или слизистые оболочки компонентов набора место контакта необходимо промыть большим количеством воды;
- 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.

Утилизация изделий, не прошедших контроль (забракованные изделия), с истекшим сроком годности и неиспользованных изделий, а также изделий, бывших в контакте с биологическими образцами в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

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 «Методические указания по микробиологической диагностике заболеваний, вызываемых энтеробактериями» М. 1984.

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

- Дозаторы переменного объема с одноразовыми наконечниками для внесения жидкостей;
- термостат на $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$;
- контейнер для слива обеззараженных анализируемых сывороток и реагентов;
- контейнер для твердых отходов;
- дезинфицирующие растворы для обеззараживания;
- резиновые перчатки.

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 одномоментно (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.

Флакон с сывороткой диагностической шигеллезной Флекснера 1-5 неадсорбированной сухой/сывороткой диагностической шигеллезной Зонне неадсорбированной сухой вскрыть и добавить 1 мл прилагаемого 0,9 % раствора натрия хлорида, получив, таким образом, разведение 1:10. Разведение 1:100 готовить в первой лунке прилагаемого планшета: к 0,09 мл 0,9 % раствора натрия хлорида добавить 0,01 мл сыворотки диагностической шигеллезной, разведенной 1:10.

Сыворотку диагностическую шигеллезную (Флекснера 1-5 или Зонне) неадсорбированную сухую после вскрытия флакона в разведении 1:10 можно хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение одного месяца в закрытом флаконе (в вертикальном положении).

Диагностикум (диагностикум эритроцитарный шигеллезный Флекснера 1-5 антигенный, жидкий/диагностикум эритроцитарный шигеллезный Зонне антигенный, жидкий) готов к применению. Перед вскрытием флакон с диагностикумом необходимо осторожно встряхнуть до получения гомогенной суспензии. В ходе работы встряхивание рекомендуется повторять.

Вскрытый флакон с диагностикумом в закрытом виде можно хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение одного месяца в вертикальном положении.

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.

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

0,9 % раствор натрия хлорида готов к применению.

Проведение РПГА.

При контроле любого количества анализируемых сывороток обязательна постановка 1 ряда агглютинации с сывороткой диагностической шигеллезной (Флекснера 1-5 или Зонне) неадсорбированной сухой.

Для постановки РПГА используют планшет полимерный для иммунологических реак-

ций 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 1 ряд двукратного серийного разведения сыворотки диагностической шигеллезной (Флекснера 1-5 или Зонне) неадсорбированной сухой, начиная с разведения 1:100, до удвоенного титра, указанного на этикетке флакона.

В каждую из лунок с разведениями сывороток прибавляют по 0,025 мл диагностикума.

Обязательными контролями являются:

1. Контроль сыворотки диагностической шигеллезной (Флекснера 1-5 или Зонне) неадсорбированной сухой 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 0,05 мл 0,9 % раствора натрия хлорида, добавляют по 0,025 мл диагностикума;

3. Контроль на отсутствие в анализируемых сыворотках 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 формализированных, несенсибилизированных эритроцитов барана (контрольные эритроциты).

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 четырехкrestной 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 не менее чем на 3+.

Титром антител считается последнее разведение сыворотки, которое дает положитель-

ную агглютинацию эритроцитов.

Результаты, полученные в РПГА можно считать достоверными в том случае, если с сывороткой диагностической шигеллезной (Флекснера 1-5 или Зонне) неадсорбированной сухой получен положительный результат в разведении не ниже чем $\frac{1}{2}$ ее титра, и в 2 лунках с анализируемой сывороткой в разведении 1:10, и с сывороткой диагностической шигеллезной (Флекснера 1-5 или Зонне) неадсорбированной сухой в разведении 1:100 нет хлопьев и осадка; в лунках с 0,9% раствором натрия хлорида и диагностикумом, а также с формалинизированными, несенсибилизированными эритроцитами барана и анализируемой сывороткой – реакция отрицательная.

Интерпретация результатов. Диагностически достоверным является увеличение (или падение) титров специфических антител 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. инструкцию раздел «Подготовка компонентов для РПГА».

Срок годности – 18 мес. со дня приёмки. 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.