

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный Директор

ООО «Биохорп»

И.В. Ратковский
« » 2016 г.



**Инструкция по применению набора реагентов
«Диагностикум эритроцитарный сальмонеллезный О-антигенный
комплексный (1,2,3,4,6,7,8,9,10,12) жидкий» (Тест комплексный РПГА)**

Регистрационное удостоверение №..... от г.

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «Диагностикум эритроцитарный сальмонеллезный О-антигенный комплексный (1,2,3,4,6,7,8,9,10,12) жидкий» (Тест комплексный РПГА) предназначен для выявления в сыворотке крови человека специфических антител к О- антигенам сальмонелл в реакции пассивной гемагглютинации (РПГА).

СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

Набор реагентов «Диагностикум эритроцитарный сальмонеллезный О - антигенный комплексный (1,2,3,4,6,7,8,9,10,12), жидкий» (Тест комплексный РПГА) выпускается в 3 вариантах комплектации:

Таблица 1

Наименование реагента	Характеристика	комплект №1	комплект №2	комплект №3
Диагностикум эритроцитарный сальмонеллезный О - антигенный комплексный (1,2,3,4,6,7,8,9,10,12), жидкий	получен путем сенсibilизации эритроцитов смесью О-антигенов сальмонелл указанных групп. Представляет собой 1 % взвесь формализированных эритроцитов барана, сенсibilизированных антигенами из сальмонелл в фосфатном буферном растворе (рН- 7,2 ± 0,2; концентрация – 0,06 моль/л). Консервант – формалин. Гомогенная суспензия коричневого цвета без хлопьев; при отстаивании образуется 2 слоя: плотный коричневый осадок эритроцитов и прозрачная желтоватая надосадочная жидкость	1 флакон (6,0 мл)	1 флакон (8,0 мл)	1 флакон (7,0 мл)

контрольные сыворотки диагностические сальмонеллезные неадсорбированные сухие к каждой из отдельных серогрупп: А, В, С ₁ , С ₂ , Д, Е	гомогенная масса от белого с коричневатым оттенком до бежевого цвета	6 флакон (0,1 мл) каждой	6 флакон (0,1 мл) каждой	6 флакон (0,1 мл) каждой
1 % взвесь формализированных, несенсибилизированных эритроцитов барана	контрольные эритроциты; консервант – формалин; гомогенная суспензия коричневого цвета без хлопьев; при отстаивании образуется 2 слоя: плотный коричневый осадок эритроцитов и прозрачная желтоватая надосадочная жидкость	1 флакон (1,0 мл)	1 флакон (1,0 мл)	1 флакон (1,0 мл)
0,9 % раствор натрия хлорида	раствор для разведения сыворотки и постановки РПГА; содержащий натрия хлористого (ГОСТ 4233- 77) – 9 г, воду очищенную (ФС 42- 2619-97) - до 1 л, pH от 6,5 до 7,5; прозрачная бесцветная жидкость	4 флакона (по 8,0 мл)	4 флакона (по 8,0 мл)	4 флакона (по 8,0 мл)
Планшет круглодонный для иммунологических реакций однократного применения	Полистироловый планшет, состоящий из 8 рядов, каждый из которых включает в себя 12 лунок с прозрачным, бесцветным, круглым дном	2 шт.	2 шт.	2 шт.

ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Набор реагентов «Диагностикум эритроцитарный сальмонеллезный О - антигенный комплексный (1,2,3,4,6,7,8,9,10,12), жидкий» (Тест комплексный РПГА) выпускается в 3 вариантах комплектации:

Комплект №1 «Диагностикум эритроцитарный сальмонеллезный О - антигенный комплексный (1,2,3,4,6,7,8,9,10,12), жидкий» (Тест комплексный РПГА) рассчитан на проведение 20 определений, включая контрольные;

Комплект №2 «Диагностикум эритроцитарный сальмонеллезный О - антигенный комплексный (1,2,3,4,6,7,8,9,10,12), жидкий» (Тест комплексный РПГА) рассчитан на проведение 26 определений, включая контрольные;

Комплект №3 «Диагностикум эритроцитарный сальмонеллезный О - антигенный комплексный (1,2,3,4,6,7,8,9,10,12), жидкий» (Тест комплексный РПГА) рассчитан на проведение 23 определений, включая контрольные.

ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

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

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность набора определяется по стандартной панели сывороток предприятия, содержащих антитела к *Salmonella* O-антигена (СОП- +004) как процентное содержание образцов, определенных набором как положительные, и составляет 100%.

Специфичность набора определяется по стандартной панели сывороток предприятия, не содержащих антитела к *Salmonella* O-антигена (СОП- -004) как процентное содержание образцов, определенных набором как отрицательные, и составляет 100%

Титром положительных сывороток стандартной панели предприятия (СОП+-004) считается последнее разведение сыворотки, которое дает агглютинацию не менее чем на (3+).

Диагностикум должен агглютинироваться сыворотками диагностическими сальмонеллезными неадсорбированными сухими к каждой из отдельных серогрупп: А, В, С₁, С₂, Д, Е, в РПГА в разведении не менее, чем 1:3200 для сывороток серогрупп В, С₁, С₂, Д, Е и 1:800 для сыворотки серогруппы А.

Диагностическая чувствительность

Статистическая достоверность результатов диагностической чувствительности испытаний составила:

Заключение	Общее число клинических образцов с истинно положительными результатами анализа (n)	Негативный результат	Позитивный результат	Диагност. чувствительность (с доверительной вероятностью 95%)
Содержат специфические антитела к О-антигену сальмонелл	33	0	33	93,26% - 100%

Статистическая достоверность диагностической чувствительности набора составила:

Вид клинического материала	Количество образцов от пациентов	Общее количество образцов от пациентов	Диагност.чувствительность (с доверительной вероятностью 95%), не менее %
	При проведении клинических испытаний		
Сыворотки, содержащие специфические антитела к О-антигену сальмонелл	33	33	93,26%

Диагностическая специфичность

Статистическая достоверность результатов диагностической специфичности испытаний составила:

Заключение	Общее число клинических образцов с истинно отрицательными	Негативный результат	Позитивный результат	Диагностическая специфичность (с доверительной вероятностью 95 %)
------------	---	----------------------	----------------------	---

	результатами анализа (n)			
Не содержат специфические антитела к О-антигену сальмонелл	300	300	0	99,24% - 100%

Статистическая достоверность диагностической специфичности набора составила:

Вид клинического материала	Количество образцов от пациентов	Общее количество образцов от пациентов	Диагност. чувствительность (с доверительной вероятностью 95%), не менее %
	При проведении клинических испытаний		
Сыворотки, не содержащие специфические антитела к О-антигену сальмонелл	300	300	99,24

ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

В качестве исследуемых образцов используется сыворотка крови человека в объеме 1 мл, полученная в соответствии с рабочими инструкциями диагностической лаборатории, проводящей исследование.

До проведения анализа возможно хранение анализируемых образцов сыворотки крови при температуре минус 20 °С не более 2 мес. Разрешается только однократное замораживание и размораживание анализируемых образцов сыворотки крови. Исключается использование для анализа гемолизированных и мутных образцов сыворотки крови.

Если образцы необходимо транспортировать, они должны быть упакованы в соответствии с правилами транспортировки инфекционного материала.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2Б (Приказ МЗ РФ №4н от 6 июня 2012 г.).

Набор биологически безопасен, однако с исследуемыми образцами необходимо обращаться как с потенциально инфицированным материалом.

Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 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

Оборудование и материалы

– Автоматические или полуавтоматические пипетки с переменным или

постоянным объемом, позволяющие дозировать 10-100 мкл (ТУ 9452-002-33189998-2002);

- Наконечники одноразовые на 0,5-250 мкл.
- Таймер;
- Термостат суховоздушный, поддерживающий температуру $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$;
- Перчатки резиновые или пластиковые (ГОСТ 3-88)
- Спирт этиловый 70%;
- Растворы для обеззараживания;
- Контейнер для слива обеззараженных анализируемых образцов и реагентов;
- Контейнер для твердых отходов.

Приготовление растворов для РПГА

Диагностикум и 1% взвесь формализированных, несенсибилизированных эритроцитов с количеством эритроцитов $1,2 \cdot 10^8$ готовы к применению. Перед вскрытием флаконы необходимо осторожно встряхнуть до получения гомогенной суспензии. В процессе работы встряхивание рекомендуется периодически повторять.

Приготовление рабочих растворов сывороток диагностических сальмонеллезных неадсорбированных сухих к каждой из отдельных серогрупп: А, В, С₁, С₂, Д, Е.

Вскрыть флаконы и растворить сыворотки по 0,1 мл 0,9% раствора натрия хлорида и, после полного растворения (в течении 1-2 мин), внести во все флаконы еще по 0,9 мл 0,9% раствора натрия хлорида, получив, таким образом, разведение 1:10.

Разведение 1:100, являющееся рабочим разведением, для каждой сыворотки диагностической сальмонеллезной неадсорбированной сухой серогрупп: А, В, С₁, С₂, Д, Е, готовить в первой лунке прилагаемого планшета:

в 1 лунку 1 ряда планшета внести 0,09 мл 0,9% раствора натрия хлорида и 0,01 мл сыворотки диагностической сальмонеллезной серогруппы А

в 1 лунку 2 ряда планшета внести 0,09 мл 0,9% раствора натрия хлорида и 0,01 мл сыворотки диагностической сальмонеллезной серогруппы В

в 1 лунку 3 ряда планшета внести 0,09 мл 0,9% раствора натрия хлорида и 0,01 мл сыворотки диагностической сальмонеллезной серогруппы С₁

в 1 лунку 4 ряда планшета внести 0,09 мл 0,9% раствора натрия хлорида и 0,01 мл сыворотки диагностической сальмонеллезной серогруппы С₂

в 1 лунку 5 ряда планшета внести 0,09 мл 0,9% раствора натрия хлорида и 0,01 мл сыворотки диагностической сальмонеллезной серогруппы Д

в 1 лунку 6 ряда планшета внести 0,09 мл 0,9% раствора натрия хлорида и 0,01 мл сыворотки диагностической сальмонеллезной серогруппы Е.

0,9 % раствор натрия хлорида. Готов к применению.

Анализируемые сыворотки крови человека должны быть разведены в 10 раз 0,9 % раствором

натрия хлорида.

Проведение РПГА

Во все лунки 7 рядов планшета, кроме первой лунки внести по 0,05 мл 0,9% раствора натрия хлорида.

Раститровать 6 рядов контрольные сыворотки диагностические сальмонеллезные неадсорбированные сухие к каждой из отдельных серогрупп: А, В, С₁, С₂, Д, Е, начиная с первой лунки (1:100), перенося из лунки в лунку при перемешивании по 0,05 мл до титра, указанного на этикетке флакона, каждой титруемой сыворотки, сбросив 0,05 мл из последней лунки в емкость для отходов вместе с наконечником.

Впервые 2 лунки седьмого ряда внести по 0,05 мл анализируемой сыворотки в разведении 1:10 и раститровать начиная со второй лунки (1:20) до титра 1:2560, сбросив 0,05 мл из последней лунки в емкость для отходов вместе с наконечником.

Во все лунки семи рядов, начиная с последней лунки каждого ряда, внести по 0,025 мл диагностикума.

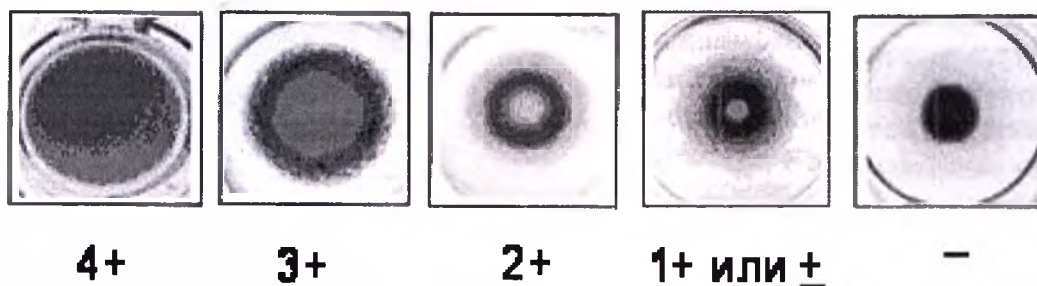
Обязательными контролями являются:

Контроль	Результат, при котором реакция может быть учтена
Подтверждение факта агглютинации диагностикума с 6 сыворотками диагностическими сальмонеллезными неадсорбированными сухими к каждой из отдельных серогрупп: А, В, С ₁ , С ₂ , Д, Е.	Диагностикум должен агглютинироваться сыворотками диагностическими сальмонеллезными неадсорбированными сухими к каждой из отдельных серогрупп: А, В, С ₁ , С ₂ , Д, Е, в РПГА в разведении не менее, чем 1:3200 для сывороток серогрупп В, С ₁ , С ₂ , Д, Е и 1:800 для сыворотки серогруппы А
Контроль на отсутствие спонтанной агглютинации диагностикума - в 2 лунки планшета внести по 0,05 мл 0,9% раствора натрия хлорида и по 0,025 мл диагностикума	Реакция отрицательная - все эритроциты осели на дне лунки в виде «пуговки» или «колечка»
Контроль на отсутствие в сыворотках агглютининов к эритроцитам барана - в 2 лунки планшета внести по 0,05 мл сывороток диагностических сальмонеллезных неадсорбированных сухих к каждой из отдельных серогрупп: А, В, С ₁ , С ₂ , Д, Е (итого 12 лунок) и в 2 лунки внести по 0,05 мл каждой анализируемой сыворотки, затем во все лунки внести по 0,025 мл 1% взвеси формализированных несенсибилизированных эритроцитов барана.	Реакция отрицательная - все эритроциты осели на дне лунки в виде «пуговки» или «колечка»
Контроль всех сывороток - для чего каждую из сывороток, включая анализируемые, внести в 2 лунки по 0,05 мл в том разведении, из которого они раститровывались.	В лунках с сыворотками не должно быть хлопьев и осадка

По окончании постановки реакции планшет осторожно встряхнуть и поместить в термостат при температуре (37±1) °С на 2 ч.

УЧЕТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет реакции проводится визуально по четырехкрестной системе:



(4+) - все эритроциты агглютинированы и равномерно покрывают дно лунки в виде «зонтика».

(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 в виде маленького «колечка» или «пуговки».

(1+) - большинство эритроцитов неагглютинировано и осело в виде маленького «колечка» с неровными краями в центре дна лунки.

(-) - признаков агглютинации нет. Эритроциты осели в виде «пуговки» или «колечка» с ровными краями.

Титром антител анализируемой сыворотки считается последнее разведение сыворотки, которое дает агглютинацию не менее чем на (3+).

Интерпретация результатов

Диагностически достоверным является увеличение (или падение) титров специфических антител на три разведения при исследовании парных образцов сыворотки в динамике заболевания.

Как правило, антитела в наибольшем титре обнаруживают в сыворотки крови только с одним из диагностикумов. В единичных случаях встречаются сыворотки, в которых антитела в разных титрах обнаруживают в реакции с несколькими антигенами. В таких случаях вопрос о возможной серогруппе возбудителя, вызвавшего заболевание у данного больного, решается по наиболее высокому уровню антител, полученному с тем или другим диагностикумом.

Первоначально анализируемые сыворотки проверяют в РПГА с комплексным диагностикумом эритроцитарным сальмонеллезным, а при получении положительного результата – с диагностикумами эритроцитарными сальмонеллезными О-антигенными каждой группы.

СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности набора – 20 мес. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ

Хранение

В упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 4 до 8 °С в строго вертикальном положении в течение всего срока годности набора. Замораживание не допускается. После вскрытия неиспользованные реагенты и флаконы с контрольные сыворотки диагностические сальмонеллезные неадсорбированные сухие к каждой из отдельных серогрупп: А, В, С₁, С₂, Д, Е допускается хранить в плотно закрытых упаковках при температуре от 4 до 8 °С в течение 1 мес.

Транспортирование

При температуре от 4 до 8 °С. Замораживание не допускается. Допускается транспортирование при температуре от 8 до 25 °С в течение 7 сут.

УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для учреждений здравоохранения.

По вопросам, касающимся качества и обращения набора «Диагностикума эритроцитарного сальмонеллезного О-антигенного комплексного (1,2,3,4,6,7,8,9,10,12), жидкий» (Тест комплексный РПГА), следует обращаться по адресу ООО «НПП «ДиаВита»»: Россия, 141090, М.О. г. Юбилейный, ул. М.К. Тихонравова, д.48, тел. + 7 (495) 513-24-97.

Генеральный директор ООО «БиоХолд»
"СОГЛАСОВАНО"

Генеральный Директор ООО «Научно-производственное предприятие
«ДиаВита»»

«Согласовано»:

Генеральный директор ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

« 22 » 08 2016 г.

И.В. Радюшкин

А.О. Глубоковских

П.К. Варнавичус

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 3 ЛИСТОВ
«22» 08 2016 год

Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ – МЕДЦЕНТР»

П.К. Варнавичус

