

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____ 20__ г. № _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Первый заместитель

генерального директора

ФГУП «НПО «Микроген»

Минздравсоцразвития России



П.В. Смачков

«18» _____ 2011 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

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов № 1 предназначен для выявления в сыворотке крови человека специфических антител к О-антигенам сальмонелл в реакции пассивной гемагглютинации (РПГА).

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода.

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

2.2. Состав набора.

Реагенты	Количество
1	2
Диагностикум эритроцитарный сальмонеллезный комплексный (1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 12) получен путем сенсибилизации эритроцитов смесью О-антигенов сальмонелл указанных групп. Представляет собой 1 % взвесь формализированных эритроцитов барана, сенсибилизированных 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 мл
Сыворотки диагностические сальмонеллезные неадсорбированные сухие к каждой из отдельных серогрупп: А, В, С₁, С₂, Д, Е - гомогенная масса от белого с коричневатым оттенком до бежевого цвета.	6 флаконов – (из 0,1 мл)
1 % взвесь формализированных, несенсибилизированных эритроцитов барана - гомогенная суспензия коричневого цвета без хлопьев; при отстаивании образуется 2 слоя: плотный коричневый осадок эритроцитов и прозрачная желтоватая надосадочная жидкость	1 флакон – 1 мл

1	2
Поддерживающий раствор - 0,9 % раствор натрия хлорида - прозрачная бесцветная жидкость, pH от 6,5 до 7,5.	4 флакона – по 8 мл
Планшет круглодонный для иммунологических реакций однократного применения - состоит из 8 рядов, каждый из которых включает в себя 12 лунок с прозрачным, бесцветным, круглым дном.	2 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

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. Диагностикум не должен агглютинироваться в РПГА гетерологичными сыворотками к сальмонеллам серогрупп, имеющие общие О-антигены, в разведениях, превышающих 1/4 титра специфической активности; не должен агглютинироваться гетерологичными сыворотками к сальмонеллам серогрупп, не имеющих О-антигенного родства, в разведениях, превышающих 1/8 титра специфической активности.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Входящие в состав набора сыворотки диагностические сальмонеллезные неадсорбированные сухие к каждой из отдельных серогрупп: А, В, С₁, С₂, Д, Е инактивированы.

Анализируемые сыворотки должны быть инактивированы в течение 30 минут при температуре 56⁰ С.

Анализируемые сыворотки, а также находящиеся с ними в контакте реагенты, оборудование и инструменты, могут представлять собой потенциально инфекционный материал, и обращаться с ним следует осторожно:

- работать в резиновых перчатках;
- при пипетировании необходимо пользоваться автоматическими устройствами;
- при завершении работы анализируемые сыворотки и находящиеся с ними в контакте реагенты, инструменты подвергать обработке дезинфицирующим раствором;
- оборудование до и после работы протирать 96 % этиловым спиртом.

Объективные результаты анализа гарантируются при выполнении следующих условий:

- хранение всех реагентов набора осуществлять при температуре от 2 до 8⁰С;
- 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.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- растворы для обеззараживания;
- резиновые перчатки;

- спирт этиловый;
- 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.

6. 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.

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

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Приготовление растворов для РПГА.

7.1.1. Флаконы с сыворотками диагностическими сальмонеллезными неадсорбированными сухими к каждой из отдельных серогрупп: А, В, С₁, С₂, Д, Е, вскрыть и добавить 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.

Вскрытые флаконы с сыворотками диагностическими сальмонеллезными неадсорбированными сухими к каждой из отдельных серогрупп: А, В, С₁, С₂, Д, Е, при разведении 1:10 в закрытом виде можно хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение одного месяца.

7.1.2. Диагностикум 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.

7.1.3. 0,9 % раствор натрия хлорида. Готов к применению.

7.2. 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 двукратного серийного разведения 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 этикетке флаконов контрольных сывороток.

В каждую из лунок с разведениями сыворотки прибавляют 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 ч в термостат при температуре $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$, после чего производят учет результатов.

8. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

8.1. Учет реакции производится по четырехкрестной системе:

++++ - все эритроциты агглютинированы и равномерно покрывают дно лунки;

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

++ - наряду с равномерным агглютинатом на дне лунки имеется осадок из неагглютинированных эритроцитов в виде маленького «колечка» или «пуговки»;

+ - большинство эритроцитов неагглютинировано и осело в виде маленького «колечка» с ровными краями или «пуговки» в центре дна лунки.

Положительной считается реакция 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 1:100 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 отрицательная.

Титром антител анализируемой сыворотки считается последнее разведение сыворотки, которая еще дает положительную агглютинацию эритроцитов.

8.2. Интерпретация результатов.

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

Первоначально анализируемые сыворотки проверяют в РПГА с комплексным препаратом диагностикума эритроцитарного сальмонеллезного, а при получении положительного результата – с диагностикумами эритроцитарными сальмонеллезными О - антигенными (набор № 2).

9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

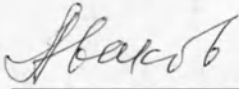
Хранение набора реагентов в упаковке производителя должно осуществляться при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности. Транспортирование должно производиться всеми видами крытого транспорта при температуре от 2 до 8 °С. Допускается кратковременное (в течение 7 сут) транспортирование при температуре от 9 до 25 °С.

Срок годности 18 месяцев.

Рекламации на качество набора реагентов в течение срока годности с обязательным указанием номера серии и даты изготовления следует направлять в адрес предприятия – производителя: ФГУП «НПО «Микроген» Минздравсоцразвития России, Россия, 115088, г. Москва, ул. 1-ая Дубровская, д. 15, тел. (495) 710-37-87.

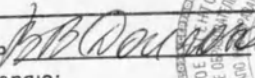
Адрес производства: Россия, 127006, г. Москва, Успенский переулок, д. 5, строение 1, тел. (495) 699-87-65.

Ответственный за производство:
Заместитель директора по производству
филиала ФГУП «НПО «Микроген»
Минздравсоцразвития России в г. Москва
«Предприятие по производству
бактерийных препаратов им. Г.Н. Габричевского»,
канд.хим.наук

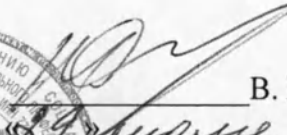

А.А. Аваков
«23» июня 2014 г.

«СОГЛАСОВАНО»

Зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики
ГОУ ДПО «РМАПО Росздрава»
д.м.н., профессор

Подпись 
удостоверяю:
Специалист по кадрам РМАПО
Подпись 
«29» июня 2014 года




В. В. Долгов
«29» июня 2014 г.