

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ФБУН ГНЦ ПМ

Роспотребнадзора



И.А. Дятлов

2015

ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинского изделия «Диагностический набор реагентов для быстрой идентификации возбудителя геморрагического колита *Escherichia coli* O157:H7 в реакции латекс-агглютинации, жидкий (Латексная тест-система *E. coli* O157:H7)»

1. Назначение тест-системы

Латексная тест-система *E. coli* O157:H7 предназначена для экспресс-выявления и идентификации микробных клеток *Escherichia coli* O157:H7 при проведении клинических лабораторных исследований и представляет собой набор из трех флаконов с реагентами.

Набор рассчитан на 100 определений.

2. Аналитические и диагностические характеристики тест-системы

Специфический латексный тест *E. coli* O157:H7 (фл. № 1) должен давать реакцию агглютинации латекса (РАЛ) с микробной взвесью *E. coli* O157: H7, штамм ATCC 51658 на 3(+)-4(+) в концентрации 10^9 м.к./мл и с позитивным контролем *E. coli* O157:H7 (фл.№ 3)

Специфический латексный тест *E. coli* O157:H7 (фл. № 1) не должен давать РАЛ с микробной взвесью *E. coli* O104:H4, штамм RKI 112027, взвесью *E. coli* ATCC 25922 в концентрациях 10^9 м.к./мл.

Контрольный латексный тест (фл. № 2) не должен давать РАЛ с микробными взвесями: *E. coli* O157: H7, штамм ATCC 51658; и *E. coli* O104:H4, штамм RKI 112027 в концентрациях 10^9 м.к./мл и с позитивным контролем *E. coli* O157:H7 (фл.№3)

Диагностическая чувствительность - не менее 97,5 % с доверительной вероятностью 90 %; диагностическая специфичность - не менее 99 % с доверительной вероятностью 90 %.

3. Состав тест-системы

В состав Латексной тест-системы *E. coli* O157:H7 входят:

- флакон 1 (специфический латексный тест *E. coli* O157:H7), содержит 0,5 % взвесь частиц моодисперсного полистирольного альдегидного латекса диаметром 0,65 мкм, сенсублизироваанного иммуноглобулинами G, выделенными из сывороток крови кроликов, содержащих антитела к липополисахариду O157 и жгутиковому антигену H7 *E. coli* O157:H7;

- флакон 2 (контрольный тест), содержит 0,5 % взвесь частиц моодисперсного полистирольного альдегидного латекса, сенсублизироваанного иммуноглобулинами из сывороток крови не иммунизированных кроликов;

- флакон 3 (позитивный контроль *E. coli* O157:H7), содержит инактивированную взвесь культуры *E. coli* O157:H7, концентрация 10 ед. по ОСО 42-28-85 П.

4. Принцип действия

Микробные клетки *E. coli* O157:H7, присутствующие в исследуемой пробе, взаимодействуют с латексными частицами, сенсублизироваанными антителами против липополисахаридого антигена O157 и жгутикового антигена H7 с последующим образованием видимых агглютинатов. Специфическими мишенями данного теста являются липополисахарид O157 и жгутиковый антиген H7 *E. coli* O157:H7

5. Меры предосторожности

Потенциальный риск применения Латексной тест-системы *E. coli* O157:H7 класс 3 (Приказ МЗ РФ №4н от 06.06.2012 г.)

Подготовку материала для исследования, его обезвреживание, а также уничтожение использованных реагентов Латексной тест-системы *E. coli* O157:H7 проводят с соблюдением специальной техники безопасности в соответствии с 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», СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

Утилизацию неиспользованных тест-систем с истекшим сроком годности проводят любым способом, предотвращающим повторное использование по назначению (например, сжиганием).

6. Материалы и оборудование

- 0,01 моль натрий-фосфатный буфер, рН 7,4 (ФБР);
- механические дозаторы переменного объема, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,02 и 0,015 мл;
- предметные стекла;
- стеклянные палочки;
- питательные среды для культивирования и выделения *E. coli* O157:H7 «Сорбитол *E. coli* O157:H7агар» производства ФБУН ГНЦ ПМБ (РУ2007/200970), или аналогичные среды других производителей при соответствии требованиям качества и зарегистрированных в установленном порядке.

7. Анализируемые образцы

Подозрительные колонии микроорганизмов (сорбит «-»), выделенные из клинического материала, выращенные на «Сорбитол *E. coli* O157:H7агар» в аэрофильных условиях в течение 18-24 часов при температуре 37 °С.

Примечание – Анализируемые образцы не подвергать автоклавированию.

8. Подготовка к проведению анализа

Извлечь латексную тест-систему из холодильника и выдержать при комнатной температуре 20 минут.

Примечание – перед применением флакон со специфическим латексным тестом тщательно суспендировать до гомогенного состояния.

9. Проведение анализа

К работе с набором допускаются специалисты, прошедшие соответствующие курсы подготовки и имеющие право работы с микроорганизмами 1-2 групп патогенности.

Взятие, посев и хранение исследуемого материала проводить в соответствии с МУК 4.2.992-00 «Методы выделения и идентификации кишечной палочки *E. coli* O157:H7», МУК 4.2.2963-11 «Методические указания по лабораторной диагностике заболеваний, вызываемых *E. coli* , продуцирующих шига-токсины (STEC-культуры), и обнаружению возбудителей STEC-инфекций в пищевых продуктах».

9.1.. Идентификация микробных клеток *E. coli* O157:H7 из колоний, выросших на плотной питательной среде.

На предметное стекло нанести 20 мкл физиологического раствора, стеклянной палочкой снять часть колонии тестируемого штамма

(исследуемый образец) и растереть в капле физиологического раствора до получения гомогенной суспензии. Полученный образец использовать по п. 9.2.

9.2. К исследуемому образцу механическим дозатором нанести на предметное стекло 0,015 мл специфического латексного теста (флакон № 1) и оба компонента осторожно перемешать стеклянной палочкой до получения гомогенной суспензии. Реакционную смесь на стекле инкубировать при комнатной температуре 4 минуты, периодически покачивая, а затем регистрировать результаты реакции.

9.3. Проверка качества контрольного теста. На предметное стекло нанести 20 мкл физиологического раствора, стеклянной палочкой снять часть колонии тестируемого штамма (исследуемый образец) и растереть в капле физиологического раствора до получения гомогенной суспензии.

К 0,02 мл исследуемого образца, нанесенного на предметное стекло, добавить 0,015 мл контрольного теста (флакон № 2) и оба компонента осторожно перемешать стеклянной палочкой до получения гомогенной суспензии. Реакционную смесь на стекле инкубировать при комнатной температуре 4 минуты, периодически покачивая, а затем регистрировать результаты реакции.

9.4. Контроль специфичности латексного теста.

К 0,02 мл позитивного контроля (флакон № 3), нанесенного на предметное стекло, добавить 0,015 мл специфичного латексного теста (флакон № 1) и оба компонента осторожно перемешать стеклянной палочкой до получения гомогенной суспензии. Реакционную смесь на стекле инкубировать при комнатной температуре 4 минуты, периодически покачивая, а затем регистрировать результаты реакции.

10. Регистрация и учет результатов

Учет результатов по п. 9.1, 9.2, 9.3, 9.4 провести через 4 минуты, руководствуясь таблицей и иллюстрацией.

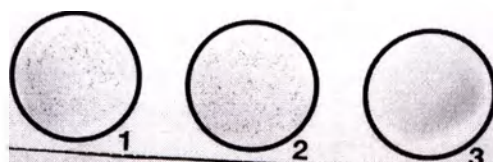
Таблица 1 – Интерпретация результата

Положительный результат	Наличие видимой четкой окрашенной агглютинации частиц при добавлении к исследуемому образцу специфического латексного теста <i>E. coli</i> O157:H7 (флакон 1). Наличие видимой четкой окрашенной агглютинации частиц при добавлении к позитивному контролю (флакон 3) специфического латексного теста <i>E. coli</i> O157:H7 (флакон 1). Отсутствие агглютинации, фон равномерно мутный при добавлении к исследуемому образцу контрольного теста (флакон 2).
-------------------------	--

Отрицательный результат	Отсутствие агглютинации, фон равномерно мутный при добавлении к исследуемому образцу специфического латексного теста <i>E. coli</i> O157:H7 (флакон 1). Наличие видимой четкой окрашенной агглютинации частиц при добавлении к позитивному контролю <i>E. coli</i> O157:H7 (флакон 3) специфического латексного теста (флакон 1).
Тест не работает	Отсутствие агглютинации, фон равномерно мутный при добавлении к позитивному контролю <i>E. coli</i> O157:H7 (флакон 3) специфического латексного теста <i>E. coli</i> O157:H7 (флакон 1).

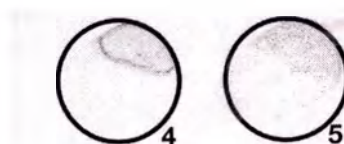
Иллюстрации к таблице интерпретации результатов:

Положительный результат



Исследуемый образец +	Позитивный контроль фл.№3	Исследуемый образец +
Специфический	+	Контрольный тест фл.№2
Латексный тест фл.№1	Латексный тест фл.№1	

Отрицательный результат



Исследуемый образец +	Позитивный контроль фл.№3
Сп.латексный тест фл.№1	+
	Сп.латексный тест фл.№1

11. Срок годности.

Срок годности Латексной тест-системы *E. coli* O157:H7– 1 год со дня изготовления.

12. Условия хранения и эксплуатации латексной тест-системы

Диагностический набор реагентов для быстрой идентификации возбудителя геморрагического колита *Escherichia coli* O157:H7 в реакции латекс-агглютинации, жидкий (Латексная тест-система *E. coli* O157:H7) необходимо хранить в герметично закрытых флаконах в сухом защищенном от света месте при температуре 2-8 °С. Допускается транспортировка МИ

«Латексная тест-система *E. coli* O157:H7»» при температуре 2-30 °С в срок не более 10 суток.

Примечание – Не замораживать.

После вскрытия флаконов, латексную тест-систему можно использовать в течение срока годности при соблюдении условий хранения.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение настоящей инструкции по применению.

По вопросам, касающимся качества медицинского изделия «Диагностический набор реагентов для быстрой идентификации возбудителя геморрагического колита *Escherichia coli* O157:H7 в реакции латекс-агглютинации, жидкий (Латексная тест-система *E. coli* O157:H7)» в течение срока годности, следует обращаться в адрес предприятия-изготовителя: 142279, Московская область, Серпуховский район, п. Оболенск, ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», тел. 8 (4967) 36-00-65, 36-01-16.

Заместитель директора ФБУН ГНЦ ПМБ
по научно-производственной работе

А.П. Шепелин

СОГЛАСОВАНО:

Директор ФКУЗ РосНИПЧИ
«Микроб» Роспотребнадзора

 Кутырев В.В.
«15» 04 2015 г.



Пронумеровано, прошнуровано,
скреплено подписью и печатью

6 (шесть)

листов. Подпись

И. Сергеева

" 02 " 02 20 20

