

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ООО «БиоХолд»



И.В. Радюшкин

2024 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Набор реагентов для серологической идентификации *Escherichia coli* в реакции агглютинации «*Escherichia coli* БиоХолд –РА» по ТУ 21.20.23-006-96299156-2021

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для серологической идентификации *Escherichia coli* в реакции агглютинации «*Escherichia coli* БиоХолд –РА» предназначен для серологической идентификации *E. coli* по О- и К-антигенам в реакции агглютинации (РА) на стекле и в развернутой реакции агглютинации в пробирках.

Набор содержит специфические агглютинины к поверхностным (К) и соматическим (О) антигенам *E. coli*, которые при взаимодействии с соответствующими микроорганизмами вызывают их агглютинацию.

Исследуется культура, выделенная при бактериологических исследованиях из биологических жидкостей и выращенная в пробирках на скошенном питательном агаре в течение 18-20 ч при температуре 37 °С.

1.2. Материалом для серологической идентификации *E.coli* по О- и К-антигенам служит посев биоматериала человека (кровь, гной, отделяемое ушей, носа, ран, глаз, экссудат плевральной полости, кал, промывные воды желудка, рвотные массы, выделения из цервикального канала у женщин, моча и др., в соответствии с инструкцией по применению к используемой питательной среде).

Каждый образец материала помещают в отдельную транспортную емкость.

Набор реагентов для серологической идентификации *Escherichia coli* в реакции агглютинации «*Escherichia coli* БиоХолд –РА» представляет собой лиофилизированные иммунные сыворотки, полученные из крови кроликов, гипериммунизированных корпускулярными антигенами эшерихий, предназначенный для серологической идентификации штаммов *E. coli* по О- и К-антигенам в реакции агглютинации (РА) на стекле и в развернутой реакции агглютинации в пробирках.

Компоненты набора представляет собой гигроскопичную пористую аморфную массу от белого и розовато-желтого до темно-коричневого цвета.

1.3. Теоретическое обоснование

Возбудители эшерихиозов.

Эшерихиозы – заболевания, вызываемые *E. coli* – кишечной палочкой.

Различают:

- 1.Энтеральные (эпидемические) эшерихиозы с преимущественным поражением пищеварительного тракта, вызываемые патогенными штаммами эшерихий.
- 2.Парентеральные эшерихиозы, поражающие любые органы, вызываемые условно-патогенными штаммами эшерихий.

кишечная палочка – *Escherichia coli* – является основным представителем рода *Escherichia* (названного именем Т. Эшериха, впервые выделившего в 1885 году из кишечника детей эти бактерии), относящегося к семейству *Enterobacteriaceae*, отряду *Gracilicutes*.

Вид *E. coli* включает как условно-патогенные кишечные палочки, входящие в состав нормальной микрофлоры кишечника человека, млекопитающих, птиц, рыб, рептилий, насекомых, так и патогенные для человека варианты.

Антигенная структура: имеют 3 типа антигенов: О, К и Н.

О-антиген – липополисахариднопротеиновый комплекс, расположен в клеточной стенке, определяет принадлежность культуры к серологической группе. Описано 173 О-серогруппы.

К-антиген – капсульный, полисахаридный, расположен в микробной клетке более поверхностно, чем О-антиген. По степени чувствительности к температурному воздействию подразделяется на 3 группы (L, В, А). У эшерихий выявлено около 100 типов К-антигенов, в основном типа В (термолабильных).

Положительное значение эшерихий:

I. Как нормальный представитель микрофлоры толстой кишки кишечная палочка выполняет ряд полезных функций:

- 1) участвует в процессе пищеварения (расщепляет клетчатку);
- 2) являясь антагонистом патогенных энтеробактерий, дрожжеподобных грибов рода *Candida*, стафилококков, гнилостных бактерий, защищает организм от этих инфекций;
- 3) участвует в синтезе витаминов группы В, Е, К;
- 4) обладает канцеролитической активностью;
- 5) оказывает иммунизирующее действие на организм, способствуя формированию полноценной иммунной системы.

II. *E. coli* широко используется в научных целях, так как является удобным объектом в генетической инженерии и биотехнологии. На основе рекомбинантных штаммов эшерихии получены интерферон, инсулин, интерлейкины, препараты для диагностики ВИЧ, молекулярная вакцина против ВИЧ - инфекции.

III. В практической деятельности человека *E. coli* используется как санитарно-показательный микроорганизм для выявления фекального загрязнения объектов окружающей среды.

Однако наряду с пользой, кишечные палочки могут причинять и вред организму человека.

При ослаблении иммунной системы условно-патогенные эшерихии, в норме обитающие в кишечнике, могут попадать в другие органы и ткани и вызывать там гнойно-воспалительные процессы. Это эндогенные инфекции, парентеральные эшерихиозы, такие как пиелонефрит у детей и взрослых, нефрит, отит, цистит, менингит (часто у новорожденных), холецистит, перитонит, пневмония, респираторные инфекции (более часто возникающие у новорожденных, грудных детей, пожилых) и другие колибактериозы. При выраженном иммунодефиците может возникнуть колисепсис протекающий, как правило, тяжело.

Безусловно патогенные штаммы *E. coli* – энтеропатогенные эшерихии (ЭПЭ) попадают в организм извне и вызывают вспышки острых кишечных заболеваний – эпидемические эшерихиозы. Представители более 80 серогрупп *E. coli* являются энтеропатогенными.

Источником инфекции эпидемических эшерихиозов являются больные люди, рековалесценты, бактерионосители, иногда – инфицированные животные (телята, поросята, куры). Механизм заражения – фекально-оральный. Основные пути передачи: пищевой (основные факторы передачи – молоко, молочные продукты, овощи, фрукты), водный, контактно-бытовой. В передаче инфекции могут участвовать мухи, тараканы.

Патогенные для человека эшерихии по воздействию на организм делят на 4 группы:

I – энтеротоксигенные *E. coli* (представители серогрупп 06, 08, 011, 015, 025, 078, 0148 и др.) – возбудители холероподобных заболеваний. Их термолабильный токсин аналогичен действию токсина холерного вибриона (нарушает водно-солевой обмен и приводит к обезвоживанию организма). Вызывают гастроэнтериты у детей младшего возраста и у взрослых.

II – энтеропатогенные *E. coli* (серогруппы 0111, 026, 055, 086, 0119, 0127, 0142 и др.) – основные возбудители диарей у детей. Возбудители колонизируют эпителий кишечника и повреждают его структуру – микроворсинки). Вызывают колиэнтериты, наиболее тяжело протекающие у грудных детей в силу недостаточного развития у них иммунной системы.

II – энтероинвазивные *E. coli* (серогруппы 029, 0115, 0124, 0135, 0136, 0143, 0144 и др.) – возбудители дизентериеподобных заболеваний у детей и взрослых. Как и шигеллы, эти эшерихии неподвижны, не ферментируют лактозу и способны проникать и размножаться в клетках эпителия кишечника, вызывая диарею с примесью крови.

IV – энтерогеморрагические *E. Coli* (серогруппы 026, 0111 и наиболее часто 0157) – возбудитель геморрагической диареи и острой почечной недостаточности у детей и взрослых. Ведущим фактором патогенности является шигоподобный токсин, аналогичный токсину *Shigella dysenteriae* типа 1, а также цитотоксин. Шигоподобный токсин поражает эндотелий сосудов в клубочках почек, а цитотоксин вызывает гибель клеток.

1.4. Популяционные, демографические аспекты применения медицинского изделия:

Применение медицинского изделия не зависит от популяционных и демографических аспектов.

Острые кишечные инфекции с проявлениями геморрагического колита (ГК) и гемолитикоуремического синдрома (HUS), вызываемые эшерихиями, продуцирующими шигатоксины (STEC), распространены во многих странах мира и регистрируются в виде спорадических случаев или вспышек с охватом больших количеств людей: от десятков до нескольких тысяч.

1.5. Потенциальные потребители медицинского изделия:

Набор предназначен для профессионального применения в медицинских учреждениях и клинко-диагностических лабораториях инфекционного профиля.

Профессиональный уровень потенциальных пользователей – врач клинической лабораторной диагностики, медицинский лабораторный техник.

К работе с Набором допускаются только медицинские работники, обученные методам серологической диагностики и правилам работы в клинко-диагностической лаборатории в установленном порядке.

1.6. Специфическая патология, состояние или фактор риска, для обнаружения, определения или дифференцирования которого предназначен реагент для диагностики *in vitro*:

Основными клиническими симптомами являются острые абдоминальные боли, диарея, часто с кровью (геморрагический колит), рвота, тошнота, температура может быть незначительно повышена.

1.7. Показания к применению Набора является комплексная лабораторная диагностика эшерихиозов у всех групп населения.

1.8. Окончательный диагноз должен быть поставлен врачом после полного клинического и лабораторного обследования пациента.

1.9. Противопоказанием к применению Набора является нарушение целостности первичной упаковки, истекший срок годности, не соблюдение требований инструкции. В составе изделия отсутствуют материалы, вступающие в непосредственный или опосредованный контакт с организмом пациента и персонала, использующего изделие, при выполнении требований эксплуатационной документации (инструкции по применению).

1.10. Принцип действия. Реакция агглютинации микроорганизмов специфическими сыворотками.

1.11. Набор предназначен для диагностики *in vitro*.

2 ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Реакция агглютинации микроорганизмов специфическими сыворотками.

Исследуются культуры, выделенные при бактериологических исследованиях из биологического материала человека и выращенные на питательных средах согласно информации в действующих методических рекомендациях – МУК №04/723-3 от 17.12.1984. Серологическую идентификацию *Escherichia coli* проводят путем постановки реакции агглютинации на стекле с сыворотками и иммуноглобулинами. Сыворотки и иммуноглобулины применяют в следующей последовательности:

1. Испытывают культуру с в реакции с поливалентными сыворотками ОКА, и далее с каждой в отдельности ОКВ, ОКС, ОКД, ОKE.

При положительном результате реакции агглютинации на стекле с одной из поливалентных сывороток (ОКВ, ОКС, ОКД, ОКЕ), культуру испытывают с ОК сыворотками, входящими в состав поливалентной, давшей положительную реакцию.

3. Для серологической идентификации *Escherichia coli* по К и О антигену ставят развернутую реакцию агглютинации в пробирке с ОК сывороткой, давшей положительную реакцию на этапе №2. Иммуноглобулины служат альтернативным методом идентификации *Escherichia coli* по К и О в реакции агглютинации на стекле.

4. Для серологической идентификации *Escherichia coli* по О антигену ставят реакцию агглютинации на стекле с гомологичными сыворотками О-групповыми и факторными.

2.2. В состав медицинского изделия входят следующие компоненты:

- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА- иммуноглобулин к антигену: O1:K1,
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА- иммуноглобулин к антигену: O6:K15,
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА- иммуноглобулин к антигену: O20:K84,
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА- иммуноглобулин к антигену: O25:K11,
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА- иммуноглобулин к антигену: O26:K60,
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА- иммуноглобулин к антигену: O28:K73,
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА- иммуноглобулин к антигену: O32:K-,
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА- иммуноглобулин к антигену: O44:K74,
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА- иммуноглобулин к антигену: O55:K59,
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА- иммуноглобулин к антигену: O75:K95,
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА- иммуноглобулин к антигену: O85:K-,
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА- иммуноглобулин к антигену: O86:K61,
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА- иммуноглобулин к антигену: O111:K58,
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА- иммуноглобулин к антигену: O112:K66,
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА- иммуноглобулин к антигену: O112:K68,
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА- иммуноглобулин к антигену: O114:K90,
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА- иммуноглобулин к антигену: O119:K69,
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА- иммуноглобулин к антигену: O124:K72,
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА- иммуноглобулин к антигену: O125:K70,
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА- иммуноглобулин к антигену: O126:K71,
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА- иммуноглобулин к антигену: O127:K63,
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА- иммуноглобулин к антигену: O128:K67,
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА- иммуноглобулин к антигену: O142:K86,
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА- иммуноглобулин к антигену: O143:K-,
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА- иммуноглобулин к антигену: O144:K-,
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА- иммуноглобулин к антигену: O151:K-,
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА- иммуноглобулин к антигену: O164:K-.
- Сыворотка эшерихиозная ОК сухая -РА- сыворотка к антигену: O1:K1,
- Сыворотка эшерихиозная ОК сухая-РА – сыворотка к антигену: O2:K2,
- Сыворотка эшерихиозная ОК сухая-РА – сыворотка к антигену: O6:K15,
- Сыворотка эшерихиозная ОК сухая-РА – сыворотка к антигену: O18:K77,
- Сыворотка эшерихиозная ОК сухая-РА – сыворотка к антигену: O20:K84,
- Сыворотка эшерихиозная ОК сухая-РА – сыворотка к антигену: O25:K11,
- Сыворотка эшерихиозная ОК сухая-РА – сыворотка к антигену: O26:K60,
- Сыворотка эшерихиозная ОК сухая-РА – сыворотка к антигену: O28:K73,
- Сыворотка эшерихиозная ОК сухая-РА – сыворотка к антигену: O29:K-,
- Сыворотка эшерихиозная ОК сухая-РА – сыворотка к антигену: O32:K-,
- Сыворотка эшерихиозная ОК сухая-РА – сыворотка к антигену: O33:K-,
- Сыворотка эшерихиозная ОК сухая-РА – сыворотка к антигену: O44:K74,
- Сыворотка эшерихиозная ОК сухая-РА – сыворотка к антигену: O55:K59,
- Сыворотка эшерихиозная ОК сухая-РА – сыворотка к антигену: O75:K95,
- Сыворотка эшерихиозная ОК сухая-РА – сыворотка к антигену: O85:K-,
- Сыворотка эшерихиозная ОК сухая-РА – сыворотка к антигену: O86:K61,
- Сыворотка эшерихиозная ОК сухая-РА – сыворотка к антигену: O111:K58,

- [illegible]

- Сыворотка эшерихиозная факторная сухая -РА- сыворотка к антигену: O112b;
- Сыворотка эшерихиозная факторная сухая -РА- сыворотка к антигену: O112c;
- Сыворотка эшерихиозная факторная сухая -РА- сыворотка к антигену: O125b;
- Сыворотка эшерихиозная факторная сухая -РА- сыворотка к антигену: O125c.
- Сыворотка эшерихиозная поливалентная сухая-РА ОКА – сыворотка к антигенам: O18:K77, O20:K84, O25:K11, O26:K60, O33:K-, O44:K74, O55:K59, O75:K95, O86: K61, O111:K58, O114:K90, O119:K69, O124:K72, O125:K70, O126:K71, O127:K63, O128:K67, O142:K86, O143:K-, O144:K-, O151:K-, «408».
- Сыворотка эшерихиозная поливалентная сухая-РА ОКВ – сыворотка к антигенам: O20:K84, O26:K60, O55:K59, O111:K58.
- Сыворотка эшерихиозная поливалентная сухая-РА ОКС – сыворотка к антигенам: O33:K-, O86: K61, O119:K69, O125:K70, O126:K71, O127: K63, O128:K67.
- Сыворотка эшерихиозная поливалентная сухая-РА ОКД – сыворотка к антигенам: O18:K77, O25:K11, O44:K74, O75:K95, O114:K90, O142:K86, O143:K-, O151:K-, «408».
- Сыворотка эшерихиозная поливалентная сухая-РА ОKE – сыворотка к антигенам: O124:K72, O142:K86, O143:K-, O144:K-, O151:K-.

Набор выпускается в одном варианте исполнения:

1.Набор (кат. № E. coli – РА-1)

- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА O1:K1 1,0 мл - 1 ампула;
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА O6:K15 1,0 мл - 1 ампула;
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА O20:K84 1,0 мл - 1 ампула;
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА O25:K11 1,0 мл - 1 ампула;
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА O26:K60 1,0 мл - 1 ампула;
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА O28:K73 1,0 мл - 1 ампула;
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА O32:K- 1,0 мл - 1 ампула;
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА O44:K74 1,0 мл - 1 ампула;
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА O55:K59 1,0 мл - 1 ампула;
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА O75:K95 1,0 мл - 1 ампула;
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА O85:K- 1,0 мл - 1 ампула;
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА O86:K61 1,0 мл - 1 ампула;
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА O111:K58 1,0 мл - 1 ампула;
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА O112:K66 1,0 мл - 1 ампула;
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА O112:K68 1,0 мл - 1 ампула;
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА O114:K90 1,0 мл - 1 ампула;
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА O119:K69 1,0 мл - 1 ампула;
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА O124:K72 1,0 мл - 1 ампула;
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА O125:K70 1,0 мл - 1 ампула;
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА O126:K71 1,0 мл - 1 ампула;
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА O127:K63 1,0 мл - 1 ампула;
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА O128:K67 1,0 мл - 1 ампула;
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА O142:K86 1,0 мл - 1 ампула;
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА O143:K- 1,0 мл - 1 ампула;
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА O144:K- 1,0 мл - 1 ампула;
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА O151:K- 1,0 мл - 1 ампула;
- Иммуноглобулин эшерихиозный сухой – РА O164:K- 1,0 мл - 1 ампула;
- Сыворотка эшерихиозная ОК сухая-РА O1:K1 1,0 мл - 1 ампула;
- Сыворотка эшерихиозная ОК сухая-РА O2: K2 1,0 мл - 1 ампула;
- Сыворотка эшерихиозная ОК сухая-РА O6:K15 1,0 мл - 1 ампула;
- Сыворотка эшерихиозная ОК сухая-РА O18:K77 1,0 мл - 1 ампула;
- Сыворотка эшерихиозная ОК сухая-РА O20:K84 1,0 мл - 1 ампула;
- Сыворотка эшерихиозная ОК сухая-РА O25:K11 1,0 мл - 1 ампула;
- Сыворотка эшерихиозная ОК сухая-РА O26:K60 1,0 мл - 1 ампула;
- Сыворотка эшерихиозная ОК сухая-РА O28:K73 1 мл - 1 ампула;
- Сыворотка эшерихиозная ОК сухая-РА O29:K- 1,0 мл - 1 ампула;
- Сыворотка эшерихиозная ОК сухая-РА O32:K- 1,0 мл - 1 ампула;
- Сыворотка эшерихиозная ОК сухая-РА O33:K- 1,0 мл - 1 ампула;
- Сыворотка эшерихиозная ОК сухая-РА O44:K74 1,0 мл - 1 ампула;
- Сыворотка эшерихиозная ОК сухая-РА O55:K59 1,0 мл - 1 ампула;
- Сыворотка эшерихиозная ОК сухая-РА O75:K95 1,0 мл - 1 ампула;
- Сыворотка эшерихиозная ОК сухая-РА O85:K- 1,0 мл - 1 ампула;
- Сыворотка эшерихиозная ОК сухая-РА O86:K61 1,0 мл - 1 ампула;

Число анализируемых проб – иммуноглобулины эшерихиозные сухие, сыворотки эшерихиозные поливалентные сухие, О-групповые или факторные сыворотки эшерихиозные. – не менее 23 постановки РА на стекле, сыворотки эшерихиозные ОК сухие - не менее 10 постановок РА в пробирках или 100 постановок РА на стекле.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Чувствительность выявления антител в РА (по положительным образцам РПП-ЕС-01), не менее 100 %.

3.2. Специфичность выявления антител в РА (по отрицательным образцам РПП-ЕС-01), не менее 100 %.

3.3. *Потенциальные интерференты:*

Для проведения реакции агглютинации (РА) с сыворотками и иммуноглобулинами эшерихиозными готовят чистую предварительно выделенную культуру *E. coli*, попадание потенциальных интерферентов в образец для исследования не возможно.

3.4. Диагностические характеристики:

В ходе клинико-лабораторных испытаний была проведена идентификация 395 культур *Escherichia coli* (по четыре повтора, всего 1580 анализов) с помощью МИ Набор реагентов для серологической идентификации *Escherichia coli* в реакции агглютинации «*Escherichia coli* БиоХолд –РА» по ТУ 21.20.23-006-96299156-2021 с использованием 395 культур *Escherichia coli*, выделенных от 395 пациентов. Проведена идентификация 51 контрольного штамма *Escherichia coli*. Получены сопоставимые результаты, совпадение результата в 100% случаев.

Полученный результат не может использоваться в качестве единственного показателя для диагностики заболеваний, но используется в сочетании с другими лабораторными показателями и другой диагностической информацией.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения – класс 2Б (Приказ № 4н от 06.06.2012 «Об утверждении номенклатурной классификации медицинских изделий» (с изменениями на 25 сентября 2014 года).

4.2. Набор изготавливается в соответствии с требованиями безопасности производственных процессов (ГОСТ 12.3.002) на оборудовании с использованием ГОСТ 12.2.003. Набор предназначен только для *in vitro* диагностики. Все работы должны проводиться в соответствии с требованиями, изложенными в Инструкциях по технике безопасности, утвержденных генеральным директором предприятия.

4.3. Все компоненты Набора в используемых концентрациях являются нетоксичными и безопасными. Однако, исследуемые клинические образцы, а также сточные растворы, оборудование и материалы, находящиеся с ними в контакте, представляют собой потенциально инфекционный материал, и обращаться с ними следует, соблюдая технику безопасности. Следует избегать любого контакта компонентов набора со слизистыми оболочками. При работе с медицинским изделием следует надевать одноразовые защитные перчатки. Отработанные реагенты обезвреживают в 3% растворе хлорамина или в 6% растворе перекиси водорода в течение 24 часов. 4.4. Сыворотки диагностические эшерихиозные сухие с внесенными в них образцов клинического материала, в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» относятся к классу Б (эпидемиологически опасные отходы).

4.4. При работе следует соблюдать Санитарные правила СП 2.1.3684-21 и СП 3.3686-21.

4.5. При использовании Набора образуются отходы классов А и Б.

Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию Наборов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21, СанПиН 2.1.3686-21, МУК -287-113.

4.6. Химическая посуда и оборудование, которые используются в работе с иммуноглобулинами и сыворотками, должны быть соответствующим образом промаркированы и храниться отдельно.

Запрещается приём пищи, использование косметических средств и курение в помещениях, предназначенных для работы с Набором.

7. Перечень рисков, связанных с применением изделия согласно ГОСТ ISO 14971, приведен в файле менеджмента риска.

4.8. Противопоказаний в рамках установленного назначения не имеет.

4.9. Не использовать Набор, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид Набора не соответствует описанию.

4.10. Не использовать Набор, если не соблюдались условия транспортирования и хранения согласно инструкции.

4.11. Не использовать Набор по истечении срока годности.

4.12. Набор не содержит тканей, клеток и биологических веществ человеческого происхождения. Набор не содержит веществ, обладающих канцерогенным, мутагенным или влияющим на репродуктивную деятельность человека действием. При использовании по назначению и соблюдении мер предосторожности является безопасным.

Используемые в производстве материалы животного происхождения получены от животных, прошедших надлежащий ветеринарный контроль.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Для проведения реакции необходимы следующие ингредиенты и оснащение:

- живые эшерихиозные культуры эшерихий, выращенные в пробирках на скошенном мясо-пептонном агаре при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 18-20 ч.);
- 0,9% свежеприготовленный раствор натрия хлорида (хч по ФС 42-2572-95) – для разведения испытуемых иммуноглобулинов и/или сывороток;
- Агглютиноскоп;
- градуированные пипетки вместимостью 1,0 и 5,0 мл;
- термостат, температура $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$;
- бактериологическая петля;
- предметное стекло;
- горелка спиртовая;
- штативы лабораторные;
- пробирки медицинские полимерные
- стандартный образец мутности (ОСО 42-28-85);
- дезинфицирующий раствор.

Идентификация исследуемой культуры начинается с постановки РА на стекле с сыворотками эшерихиозными поливалентными.

При положительной РА с одной из сыворотки эшерихиозной поливалентной живую культуру далее проверяют в РА на стекле с иммуноглобулинами эшерихиозными сухими или с сыворотками эшерихиозными ОК сухими (в разведении 1:5) тех ОК- групп, антитела к которым содержит сыворотка поливалентная эшерихиозная сухая.

Положительную РА с иммуноглобулинами подтверждают с соответствующими сыворотками эшерихиозными О- групповыми в РА на стекле с культурой, прогретой при 100°C в течении 30 мин и отцентрифугированной в течении 15 минут при 2500-3500 об/мин.

Определение ОК- групп *E. coli* проводят с помощью сывороток эшерихиозных ОК сухих в РА на стекле с живой культурой, а затем в пробирочной РА с живой и прогретой при 100°C в течении 30 мин культурой.

Постановка РА на стекле

Сыворотки эшерихиозные поливалентные и иммуноглобулины эшерихиозные.

Сухую сыворотку (иммуноглобулин) растворяют в 1 мл 0,9% натрия хлорида. Каплю (около 50 мкл) сыворотки (иммуноглобулина) наносят на предметное стекло. Исследуемую культуру, выращенную в пробирках на скошенном мясопептонном агаре в течении 18-20 ч при температуре 37°C снимают с поверхности агара вблизи конденсата петлей, наносят на предметное стекло рядом с каплей сыворотки (иммуноглобулина) и постепенно, начиная с края капли, растирают в ней. При наличии агглютининов к исследуемому штамму в капле сыворотки (иммуноглобулина) в течении 3 мин появляется хлопьевидный агглютинат. Контролем служит полученная аналогичным способом взвесь исследуемой культуры в 0,9% раствора натрия хлорида.

Учет и интерпретация результатов

Результаты РА учитываются визуально и оцениваются следующим образом: 4(+) – крупнохлопчатый хорошо выраженный агглютинат, полностью прозрачная жидкость в капле.

3(+) – крупнохлопчатый хорошо выраженный агглютинат, жидкость в капле не полностью прозрачная.

2(+) – агглютинат слабо выражен, жидкость в капле мутная.

1(+) – следы агглютината, жидкость в капле мутная.

(-) – отрицательный результат, гомогенно мутная жидкость в капле.

Реакция агглютинации с сывороткой эшерихиозной поливалентной учитывается только при ее отсутствии в контроле. Исследуемую культуру относят к соответствующей ОК-группе, если на стекле с иммуноглобулином получена положительная РА этой группы не ниже чем на 3(+).

Сыворотки эшерихиозные О- групповые и эшерихиозные факторные

Идентифицируемую культуру, выращенную в пробирках на скошенном мясопептонном агаре в течение 18-20 ч при температуре 37°C снимают 0,9% раствором натрия хлорида, устанавливают концентрацию микробной взвеси, соответствующую 10 единицам по отраслевому стандарту мутности (ОСО 42-28-85-08П). Полученную стандартизованную взвесь прогревают 30 мин на водяной бане при 100°C. Прогретую микробную взвесь центрифугируют 15 мин при 2500-3500 об/мин, надосадочную жидкость удаляют. Осадок используют для постановки РА.

Сухую сыворотку растворяют в 1 мл 0,9% растворе натрия хлорида. Каплю раствора (около 50 мкл) наносят на предметное стекло. 0,01 мл осадка прогретой микробной взвеси пипеткой наносят на предметное стекло рядом с каплей сыворотки и постепенно, начиная с края капли растирают в ней. При наличии агглютининов к исследуемому штамму в капле сыворотки в течение 3 мин появляется мелкозернистый агглютинат. Контролем служит полученная аналогичным способом взвесь исследуемой культуры в 0,9% раствор натрия хлорида.

Учет и интерпретация результатов

Результаты РА учитываются визуально и оцениваются следующим образом:

4(+) – крупнохлопчатый хорошо выраженный агглютинат, полностью прозрачная жидкость в капле.

3(+) – крупнохлопчатый хорошо выраженный агглютинат, жидкость в капле не полностью прозрачная.

2(+) – агглютинат слабо выражен, жидкость в капле мутная.

1(+) – следы агглютината, жидкость в капле мутная.

(-) – отрицательный результат, гомогенно мутная жидкость в капле.

Реакция агглютинации с сывороткой эшерихиозной О- групповой учитывается только при ее отсутствии в контроле. Исследуемую культуру относят к соответствующей О-группе, если на стекле получена РА с сывороткой этой группы не ниже чем на 3(+).

Сыворотки эшерихиозные факторные используют при положительной РА с соответствующей сывороткой О-групповой при необходимости определения парциального строения О-антигена выделенной культуры.

Сыворотки эшерихиозные ОК сухие.

Сухую сыворотку разводят в 1мл 0,9% растворе натрия хлорида и далее разводят им же в соотношении 1:5. Каплю (около 50 мкл) разведенной сыворотки наносят на предметное стекло. Идентифицируемую культуру, выращенную в пробирках на скошенном мясопептонном агаре в течение 18-20 ч при температуре 37°C снимают с поверхности агара вблизи конденсата петлей, наносят на предметное стекло рядом с каплей сыворотки и постепенно, начиная с края капли, растворяют в ней. При наличии агглютининов к исследуемому штамму в капле сыворотки в течение 3 мин появляется хлопьевидный агглютинат. Контролем служит полученная аналогичным способом взвесь исследуемой культуры в 0,9 % растворе натрия хлористого.

Учет и интерпретация результатов

Результаты РА учитываются визуально и оцениваются следующим образом:

4(+) – крупнохлопчатый хорошо выраженный агглютинат, полностью прозрачная жидкость в капле.

3(+) – крупнохлопчатый хорошо выраженный агглютинат, жидкость в капле не полностью прозрачна.

(+) – агглютинат слабо выражен, жидкость в капле мутная.

1(+) – следы агглютината, жидкость в капле мутная.

(-) – отрицательный результат, гомогенно мутная жидкость в капле.

Реакция агглютинации с сывороткой эшерихиозной ОК учитывается только при ее отсутствии в контроле. Исследуемую культуру относят к соответствующей ОК-группе, если на стекле получена РА с сывороткой этого типа не ниже чем на 3(+).

В связи с наличием значительного количества антигенных связей у *E. coli* разных ОК групп РА на стекле является ориентировочной. Окончательную идентификацию проводят в развернутой РА в пробирках с живой и гретой культурой.

Пробирочная реакция агглютинации

Определение ОК-группы эшерихий проводят обычным способом при помощи сывороток эшерихиозных ОК сухих в пробирочной реакции агглютинации с живой и прогретой (при 100 °С - 1 час) культурами. Для постановки пробирочной реакции агглютинации в объеме 1 мл делают два ряда возрастающих двукратных разведений сывороток в стерильном 0,9 % растворе натрия хлористого, начиная от разведения 1:50 до О-титра, указанного на этикетке, не принимая во внимание титр К-антител. Во все пробирки первого ряда вносят по 1 капле взвеси живых бактерий в 0,9 % растворе натрия хлористого, а второго ряда - по 2 капли той же взвеси бактерий, предварительно прогретой и охлажденной.

Контролем антигенов являются взвеси живых и прогретых бактерий в пробирках с 0,9 % растворе натрия хлористого, в том же объеме, что и в разведениях сыворотки. Учет результатов проводят через 18 - 20 часов инкубации при 37 °С невооруженным глазом (живая культура) и в агглютиноскопе (прогретая культура). Для живой культуры характерно образование крупнохлопчатого К-агглютината, для прогретой - мелкозернистого О-агглютината. Результат оценивают как положительный при одновременном наличии К-агглютината до титра или половины титра К-антител, указанного на этикетке, а также О-агглютината до титра или половины титра О-антител, указанного на этикетке, либо О-агглютината в обоих рядах пробирок до титра или половины титра О-антител. Последнее указывает на отсутствие К-антигена (*E. coli* 0151:K-) или на его потерю у штамма, принадлежащего к определенной серогруппе.

Постановка развернутой РА в пробирках

В развернутой РА в пробирках сыворотки эшерихиозные ОК сухие агглютинируют живые культуры гомологичных ОК групп в разведении не ниже 1:200, а прогретые в течение 30 мин на водяной бане при температуре 100°С в разведении не ниже 1:1600; живые культуры гетерологичных ОК групп не агглютинируются, возможна агглютинация прогретых гетерологичных культур до титра не выше 1/8 титра гомологичных культур. Идентифицируемую культуру, выращенную в пробирках на скошенном мясопептонном агаре в течение 18-20 ч при температуре 37°С, смывают 0,9 % раствором хлористого натрия, устанавливают концентрацию микробной взвеси, соответствующую 10 единицам по отраслевому стандарту мутности (ОСО 42-28-85-08П). Полученную стандартизованную взвесь делят на две части, одну из которых прогревают 30 мин на водяной бане при 100°С. Сухую сыворотку растворяют в 1 мл 0,9% растворе натрия хлорида и далее разводят им же в соотношении 1:100. Из полученного разведения готовят два ряда последовательных двукратных разведений в объеме 1,0 мл. В пробирки первого ряда вносят по 0,1 мл не гретой (живой) стандартизованной взвеси исследуемой культуры, в пробирки второго ряда – по 0,1 мл прогретой взвеси.

Контролями служат пробирки, содержащие 1,0 мл сыворотки в разведении 1:100 без культуры (контроль сыворотки) и по 1,0 мл 0,9 % раствора натрия хлористого с 0,1 мл живой и гретой культуры (контроль культуры). Все пробирки выдерживают в течение 18-20 ч при 37°С.

Учет и интерпретация результатов

Результаты РА с живой культурой (крупнохлопчатый агглютинат) учитываются визуально, результаты РА с прогретой культурой (мелкозернистый агглютинат) учитываются с помощью агглютиноскопа. Результаты оцениваются следующим образом:

4(+) – хорошо выраженный агглютинат, выпавший в осадок, полностью прозрачная надосадочная жидкость.

3(+) – хорошо выраженный агглютинат, выпавший в осадок, слегка мутная надосадочная жидкость.

2(+) – небольшой, но отчетливо различимый агглютинат, выпавший в осадок, мутная надосадочная жидкость.

1(+) – следы агглютината, мутная жидкость.

(–) – отрицательный результат, гомогенно мутная жидкость.

Результаты РА с исследуемой культурой учитывают только при условии отрицательной РА в контрольных пробирках. Положительной РА считается реакция интенсивностью не ниже 3(+).

Заключение о принадлежности исследуемой культуры к соответствующему серотипу может быть сделано при наличии положительной РА с данной сывороткой, разведенной не ниже 1/2 титра О и К антител, указанного на этикетке.

7. ОГРАНИЧЕНИЕ МЕТОДА

Набор «Escherichia coli БиоХолд –РА» предназначен для диагностических целей, однако окончательный диагноз не должен основываться только на результатах данного теста. Диагноз должен быть поставлен врачом после полного клинического и лабораторного обследования пациента.

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВКИ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

8.1. Транспортирование медицинского изделия должно проводиться при температуре от +2° до +8° С. Транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. (СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней»). Допускается транспортирование при температуре от 9° до 25° С в течение не более 14 суток. Изделия, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

8.2. Хранение

8.2.1. Хранение Набора – в упаковке предприятия-производителя в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим при температуре от +2 до +8°С в течение всего срока годности. Замораживание не допускается.

8.2.2. Растворенный Реагент допускается хранить плотно закрытым во флаконе не более 1 месяца в холодильнике, при температуре от 2 до 8 °С, добавив 1-2 мг кристаллов борной кислоты.

8.2.3. Срок годности: 3 года со дня приемки ОКК предприятия-производителя.

Реагенты с истекшим сроком годности применению не подлежат.

8.3. Эксплуатация.

8.3.1. Реагент должен применяться согласно инструкции по применению, утверждённой в установленном порядке.

8.3.2. Неправильное обращение с образцами и изменение процедуры постановки анализа могут повлиять на результаты. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению.

8.3.3. Определение производится из посева биоматериала человека (кровь, гной, отделяемое ушей, носа, ран, глаз, экссудат плевральной полости, кал, промывные воды желудка, рвотные массы, выделения из цервикального канала у женщин, моча и др., в соответствии с инструкцией по применению к используемой питательной среде).

Каждый образец материала помещают в отдельную транспортную емкость.

8.4. Утилизация.

8.4.1. Изделия, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежат утилизации.

8.4.2. При использовании набора образуются отходы классов А и Б.

8.4.3. Удалять неиспользованные реактивы необходимо в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий», МУ 287-113 по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения.

8.4.4. Реагенты в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» относится к классу Б (эпидемиологически опасные отходы). Применять МИ строго по назначению, согласно инструкции.

8.4.5. Утилизация проводится специализированными организациями, которые имеют лицензию на право утилизации медицинских отходов.

9. ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

7.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

7.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

7.3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

10. КЛИЕНТСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ

По вопросам качества медицинского изделия

Набор реагентов для серологической идентификации *Escherichia coli* в реакции агглютинации «*Escherichia coli* БиоХолд –РА» по ТУ 21.20.23-006-96299156-2021 просьба обращаться на предприятие-производитель:

Общество с ограниченной ответственностью «БиоХолд» (ООО «БиоХолд»), 111394, Г.МОСКВА, ВН.ТЕР.Г.МУНИЦИПАЛЬНЫЙ ОКРУГ НОВОГИРЕЕВО, УЛ ПЕРОВСКАЯ, Д. 61/2, СТР.1, тел.+7 (495) 280-35-52; e-mail: info@biohold.ru

Адрес производства:

Общество с ограниченной ответственностью «Научно-Производственное Предприятие «ДиаВита» (ООО «НПП «ДиаВита»), 141074, Московская область, г. Королев, ул. Пионерская, д.4, к. 203

Генеральный директор

ООО «БиоХолд»



Радюшкин И.В.

Прошито, пронумеровано
(13 лист (ов)),
скреплено печатью



Генеральный директор
ООО «БиоХолд»

И.В. Радюшкин