

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора
От №

"УТВЕРЖДАЮ"

Генеральный директор
ЗАО "ЭКОлаб"



В.Ю.Борисов
20 14 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ набора реагентов

"Сыворотки и иммуноглобулины диагностические эшерихиозные для реакции агглютинации"

Регистрационное удостоверение №..... от г.

Набор реагентов "Сыворотки и иммуноглобулины диагностические эшерихиозные для реакции агглютинации" представляет собой жидкие или лиофильно высушенные сыворотки крови кролика или барана, содержащие антитела к О-антигенам (О групповые и факторные сыворотки) и О- и К-антигенам (ОК сыворотки) патогенных штаммов *Escherichia coli*, и групповые иммуноглобулины, полученные при осаждении риванолом из соответствующих сывороток и последующей лиофилизации, предназначенные для серологической идентификации штаммов *E.coli* с помощью реакции агглютинации (РА).

Набор выпускается в виде самостоятельных комплектов:

1. "Сыворотки диагностические эшерихиозные ОК-поливалентные для реакции агглютинации"

Представляют собой жидкие или лиофилизированные иммунные сыворотки, полученные из крови кроликов или баранов, гипериммунизированных корпускулярными антигенами *Escherichia coli* следующих ОК групп:

ОКА: 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».

ОКВ: O20:K84, O26:K60, O55:K59, O111:K58.

ОКС: O33:K-, O86: K61, O119:K69, O125:K70, O126:K71, O127: K63, O128:K67.

ОКД: O18:K77, O25:K11, O44:K74, O75:K95, O114:K90, O142:K86, O143:K-, O151:K-, «408».

ОКЕ: O124:K72, O142:K86, O143:K-, O144:K-, O151:K-.

2. "Сыворотки диагностические эшерихиозные ОК для реакции агглютинации"

Представляют собой жидкие или лиофилизированные иммунные сыворотки, полученные из крови кроликов, гипериммунизированных корпускулярными антигенами *Escherichia coli* серотипов: O1:K1, O2:K2, O6:K15, O18:K77, O20:K84, O25:K11, O26:K60, O28:K73, O29:K-, O32:K-, O33:K-, O44:K74, O55:K59, O75:K95, O85:K-, O86:K61, O111:K58, O114:K90, O115:K-, O119:K69, O124:K72, O125:K70, O126:K71, O127:K63, O128:K67, O136:K78, O142:K86, O143:K-, O144:K-, O152:K-, O159:K-, O164:K-, «408».

3. "Иммуноглобулины диагностические эшерихиозные типовые ОК для реакции агглютинации"

Представляют собой жидкие или лиофилизированные препараты, полученные при осаждении риванолом фракции иммуноглобулинов из нативной сыворотки кроликов, гипериммунизированных корпускулярными антигенами *Escherichia coli* следующих ОК-типов: O1:K1, O6:K15, O20:K84, O25:K11, O26:K60, O28:K73, O32:K-, O44:K74, O55:K59, O75:K95, O85:K-, O86:K61, O111:K58, O112:K66, O112:K68, O114:K90, O119:K69, O124:K72, O125:K70, O126:K71, O127:K63, O128:K67, O142:K86, O143:K-, O144:K-, O151:K-, O164:K-.

4. "Сыворотки диагностические эшерихиозные О-групповые и факторные адсорбированные для реакции агглютинации"

Представляют собой жидкие или лиофилизированные иммунные сыворотки, полученные из крови кроликов, гипериммунизированных О-антигенами *Escherichia coli*:

Групповые:

O1, O2, O4, O5, O6, O7, O8, O9, O11, O18abc, O20, O22, O25, O26, O28, O32, O33, O44, O55, O75, O85, O86, O111, O112abc, O114, O119, O124, O125abc, O126, O127, O128, O142, O143, O144, O157, O164.

Факторные:

O18b, O18c, O112b, O112c, O125b, O125c.

Сыворотки (иммуноглобулины) представляют собой прозрачные бесцветные или розовато-желтого цвета жидкости или гигроскопичную пористую аморфную массу белого или розовато-желтого цвета.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Сыворотки (иммуноглобулины) эшерихиозные ОК содержат специфические агглютинины к поверхностным (К) и соматическим (О) антигенам *E.coli*, сыворотки эшерихиозные О групповые и факторные содержат специфические агглютинины к соматическим (О) антигенам *E.coli*, которые при взаимодействии с соответствующими микроорганизмами вызывают их агглютинацию.

НАЗНАЧЕНИЕ

Серологическая идентификация *E.coli* по О- и К-антигенам в реакции агглютинации (РА) на стекле и в развернутой РА в пробирках. Исследуется культура, выделенная при бактериологических исследованиях из биологических жидкостей и выращенная в пробирках на скошенном мясо-пептонном агаре в течение 18-20 ч при температуре 37 °С.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Специфическая активность: сыворотки и иммуноглобулины должны давать положительную РА с гомологичными тест-штаммами *E.coli* и давать отрицательную реакцию с гетерологичными тест-штаммами *E.coli*.

Специфическая активность набора при определении на музейных тест-штаммах *E.coli* - 100%.

Диагностическая специфичность набора определяется на музейных тест-штаммах *E.coli* как процентное содержание образцов, определенных набором как отрицательные, и составляет более 97%.

Диагностическая чувствительность определяется на музейных тест-штаммах *E.coli*, как процентное содержание образцов, определенных набором как положительные и составляет более 99%.

Воспроизводимость результатов составляет 100%.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 1 (Приказ МЗ РФ № 4н от 06.06.2012 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

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

При положительной РА с одной из поливалентных сывороток живую культуру далее проверяют в РА на стекле с ОК-иммуноглобулинами или с типовыми ОК-сыворотками (в разведении 1:5) тех ОК-групп, антитела к которым содержит поливалентная сыворотка.

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

При отсутствии ОК-иммуноглобулинов определение ОК-групп *E.coli* проводят с помощью ОК-сывороток в пробирочной РА с живой и прогретой при 100 °С в течение 30 мин культурой.

Положительная РА живой культуры с ОК-иммуноглобулином или ОК-сывороткой и гретой культуры с ОК-сыворотками или с соответствующей адсорбированной групповой О-сывороткой позволяет сделать заключение о принадлежности выделенной культуры *E.coli* к соответствующей ОК-группе.

Постановка РА на стекле

Поливалентные ОК-сыворотки и ОК-иммуноглобулины

Сухую сыворотку (иммуноглобулин) растворяют в 1 мл 0,9% водного раствора хлористого натрия. Каплю (около 50 мкл) сыворотки (иммуноглобулина) наносят на предметное стекло.

Исследуемую культуру, выращенную в пробирках на скошенном мясо-пептонном агаре в течение 18-20 ч при температуре 37 °С 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 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.

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

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

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

РА с диагностической сывороткой учитывается только при ее отсутствии в контроле.

Исследуемую культуру относят к соответствующей ОК-группе, если на стекле получена РА с поливалентной сывороткой этой группы не ниже чем на 3(+).

Групповые и факторные О-сыворотки

Идентифицируемую культуру, выращенную в пробирках на скошенном мясо-пептонном 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 прогревают 30 мин на водяной бане при 100 °С. 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% водного раствора хлористого натрия. 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 % растворе натрия хлористого.

Учет и интерпретация результатов

Результаты РА учитываются визуально и оцениваются следующим образом:

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

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

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

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

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

РА с диагностической сывороткой 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(+).

Адсорбированные факторные О-сыворотки используют при положительной РА с соответствующей групповой адсорбированной сывороткой при необходимости определения парциального строения О-антигена выделенной культуры

Типовые ОК-сыворотки

Сухую сыворотку растворяют в 1 мл 0,9% водного раствора хлористого натрия 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 мясо-пептонном агаре в течение 18-20 ч при температуре 37 °С снимают с поверхности агара вблизи конденсата петлей, 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 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.

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

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

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

РА с диагностической сывороткой учитывается только при ее отсутствии в контроле.

Исследуемую культуру относят к соответствующему серотипу, 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.

Постановка развернутой РА в пробирках

В развернутой РА в пробирках сыворотки 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 мясо-пептонном 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% водного раствора хлористого натрия 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(+).

Закключение 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.

ФОРМА ВЫПУСКА

Базовый вариант комплектации включает по 1 флакону (1,0 мл) каждой сыворотки (иммуноглобулина) из числа поименованных в комплекте; флаконы помещены вместе с инструкцией по применению соответствующего комплекта в картонную коробку.

По желанию потребителя базовая комплектация (конкретный набор типов или групп из числа поименованных в инструкции и число флаконов с каждым типом или группой) может быть изменена.

СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности каждой серии сывороток (иммуноглобулинов): сухих – 5 лет и жидких – 2 года со дня приемки ОБТК предприятия-изготовителя. Срок годности набора, составленного из серий сывороток (иммуноглобулинов) разных сроков выпусков: для сухих – не менее 3 лет и для жидких – не менее 1,5 лет со дня приемки ОБТК предприятия-изготовителя.

Сыворотки (иммуноглобулины) с истекшим сроком годности применению не подлежат.

Растворенные сыворотки (иммуноглобулины) с добавкой нескольких кристаллов борной кислоты можно хранить до использования при температуре от 2 до 8 °С не более 1 мес.

ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ

Хранение

В упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8 °С.

Транспортирование

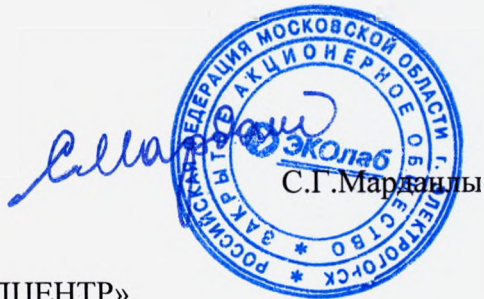
При температуре от 2 до 8 °С. Допускается транспортирование при температуре от 9 до 25 °С сухих сывороток (иммуноглобулинов) в течение 14 сут, жидких – в течение 10 сут.

УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для учреждений здравоохранения.

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться по адресу 142530, Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д.1, тел: (49643)3-1374, 3-2311, факс 3-3143.

Директор ЗАО "ЭКОлаб" по научной работе



"СОГЛАСОВАНО"

Генеральный директор ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

" 22 АПР 2014 " 2014 г.



Ю.Н. Егоров

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

лист 06

Начальник ОНД ЗАО "ЭКОлаб"
Гашенко Т. Ю.

15.06.14 2014г.