

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный Директор

ЗАО «ЭКОлаб»



Т.Ю. Гашенко

2021 г.

Инструкция по применению
«Набор реагентов для определения антител к О-антигенам шигелл Зонне и Флекснера
в реакции пассивной гемагглютинации»
«Шигелла РПГА»

НАЗНАЧЕНИЕ

«Набор реагентов для определения антител к О-антигенам шигелл Зонне и Флекснера в реакции пассивной гемагглютинации» «Шигелла РПГА» предназначен для полуколичественного выявления антител в сыворотке крови человека к О-антигенам шигелл Зонне и Флекснера, в реакции пассивной гемагглютинации (РПГА).

Для однократного применения набора по назначению.

Для клинической лабораторной диагностики in vitro.

Показания и противопоказания к применению изделия

Применение комплектов набора реагентов «Шигелла РПГА» показано для выявления антител к О-антигенам возбудителям дизентерий, шигелл Зонне (серогруппа D) и Флекснера (серогруппа B).

Набор реагентов «Шигелла РПГА» не предназначен для выявления антител к О-антигенам возбудителям дизентерий, шигелл Дизентерия (серогруппа A) и шигелл Бойда (серогруппа C).

Потенциальные потребители изделия

Лабораторные подразделения лечебно-профилактических учреждений.

Профессиональный уровень потенциальных пользователей

Врач клинической лабораторной диагностики, медицинский лабораторный техник.

Описание целевого анализа, сведения о его научной обоснованности

Целевым анализом, детектируемым набором «Шигелла РПГА», являются антитела к липополисахаридным (О-антигенным) структурам шигелл, относящихся к серогруппам B и D. Микроорганизмы данных серогрупп, а именно, шигеллы Флекснера (*S.flexneri*) подтипов 1-6 и шигелла Зонне (*S.sonnei*) являются основными источниками дизентерии в большинстве стран. Диагноз ставят на основании выделения возбудителя из кала посредством бактериологических методов. Серологические исследования, в частности РПГА, используют в качестве вспомогательного метода в целях подтверждения клинического диагноза при получении отрицательного результата бактериологического обследования; для ретроспективного подтверждения диагноза; при позднем обращении пациента, назначении терапии антибиотиками; затяжном течении заболевания. Антитела в крови в большей части случаев можно выявить через несколько дней от начала заболевания с максимумом через несколько недель, далее снижением и вероятным исчезновением в течение года. Исследование больным с клиническим диагнозом острой дизентерии рекомендуют проводить в динамике в парных сыворотках, в начале заболевания (при поступлении в стационар) и через 7-10 дней после первичного исследования. Диагностически достоверным считают более чем 4-кратное увеличение титров специфических антител в динамике наблюдения.

СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА «ШИГЕЛЛА РПГА»

Набор реагентов выпускается в четырех базовых вариантах комплектации.

	Комплект общий	Комплект Флекснер 1-5	Комплект Флекснер 6	Комплек Зонне
Тест-эритроциты Флекснер 1-5 (ТЭ ФЛ 1-5)	1 фл. (5,0 мл)	1 фл. (5,0 мл)	-	-
Тест-эритроциты Флекснер 6 (ТЭ ФЛ 6)	1 фл. (5,0 мл)	-	1 фл. (5,0 мл)	-
Тест-эритроциты Зонне (ТЭ Зонне)	1 фл. (5,0 мл)	-	-	1 фл. (5,0 мл)
Контрольные эритроциты КЭ	1 фл. (5,0 мл)	1 фл. (5,0 мл)	1 фл. (5,0 мл)	1 фл. (5,0 мл)
Раствор для разведения образцов РРО	1 фл. (30 мл)	1 фл. (10 мл)	1 фл. (10 мл)	1 фл. (10 мл)
Контрольный по- ложительный обра- зец К+ФЛ 1-5	1 фл. (0,25 мл)	1 фл. (0,25 мл)	-	-
Контрольный по- ложительный обра- зец К+ФЛ 6	1 фл. (0,25 мл)	-	1 фл. (0,25 мл)	-
Контрольный по- ложительный обра- зец К+Зонне	1 фл. (0,25 мл)	-	-	1 фл. (0,25 мл)
Контрольный от- рицательный обра- зец К-	1 фл. (0,25 мл)	1 фл. (0,25 мл)	1 фл. (0,25 мл)	1 фл. (0,25 мл)
Планшет для микротитрования	3 шт.	1 шт.	1 шт.	1 шт.

- **Тест-эритроциты Флекснер 1-5 (ТЭ ФЛ 1-5)** - формализированные эритроциты барана, сенсibilизированные О-антигенами *S. flexneri* подтипов 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 3b, 4a, 4b, 5a. Суспензия красно-коричневого цвета при отстаивании расслаивается на 2 слоя: коричнево-красный осадок эритроцитов и надосадочную жидкость желтоватого цвета.
- **Тест-эритроциты Флекснер 6 (ТЭ ФЛ 6)** - формализированные эритроциты барана, сенсibilизированные О-антигеном *S. flexneri* подтипа 6 (Newcastle). Суспензия красно-коричневого цвета при отстаивании расслаивается на 2 слоя: коричнево-красный осадок эритроцитов и надосадочную жидкость желтоватого цвета.
- **Тест-эритроциты Зонне (ТЭ Зонне)** - формализированные эритроциты барана, сенсibilизированные О-антигеном *S. sonnei*. Суспензия красно-коричневого цвета при отстаивании расслаивается на 2 слоя: коричнево-красный осадок эритроцитов и надосадочную жидкость желтоватого цвета.
- **Контрольные эритроциты (КЭ)** – формализированные, несенсibilизированные эритроциты барана. Суспензия красно-коричневого цвета при отстаивании расслаивается на 2 слоя: коричнево-красный осадок эритроцитов и надосадочную жидкость желтоватого цвета.

- **Раствор для разведения образцов (РРО)** – раствор для разведения образцов (сывороток крови), прозрачная жидкость желто-оранжевого цвета.
- **Контрольный положительный образец (К+ФЛ 1-5)** – иммунная сыворотка крови кролика, содержащая антитела к О-антигенам *S. flexneri* подтипов 1-5, прозрачная бесцветная или желтоватого цвета жидкость.
- **Контрольный положительный образец (К+ФЛ 6)** – иммунная сыворотка крови кролика, содержащая антитела к О-антигенам *S. flexneri* подтипа 6, прозрачная бесцветная или желтоватого цвета жидкость.
- **Контрольный положительный образец (К+Зонне)** – иммунная сыворотка крови кролика, содержащая антитела к О-антигенам *S. sonnei*, прозрачная бесцветная или желтоватого цвета жидкость.
- **Контрольный отрицательный образец (К–)** – сыворотка крови кролика не содержащая антитела к О-антигенам *S. flexneri* и *S. sonnei*, прозрачная бесцветная или желтоватого цвета жидкость.
- **Планшет для микротитрования** – планшет полимерный для иммунологических реакций, 96-луночный с круглодонными лунками.

• **Принадлежности:**

Вспомогательные пластиковые (ПВХ) емкости – 3 шт.

Примечание:

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).

В составе изделия отсутствуют лекарственные средства и фармацевтические субстанции.

Компоненты набора и принадлежности упакованы в коробку, в коробку вложена инструкция по применению.

ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

- Комплект общий рассчитан на проведение 36 анализов, включая контроли.
- Комплекты: Флекснер 1-5, Флекснер 6, Зонне рассчитаны на проведение 12 анализов, включая контроли.
- Цветовая индикация внесения образца.
- Все компоненты набора готовы к применению.
- Общая протяженность инкубационных этапов анализа составляет 2 часа.

Методы стерилизации изделия

Изделие не требует стерилизации.

Программное обеспечение работы изделия

Отсутствует.

Техническое обслуживание и ремонт изделия

Изделие не требует технического обслуживания и не подлежит ремонту.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Метод основан на реакции пассивной (непрямой) гемагглютинации. При наличии антител определенной групповой специфичности наблюдается гемагглютинация эритроцитов, sensibilizированных соответствующим групповым О-антигеном шигелл. Это приводит к образованию на дне лунок планшета "зонтика" из осевших эритроцитов. При отсутствии антител определенной специфичности к соответствующему О-антигену шигелл гемагглютинация sensibilizированных эритроцитов не происходит, оседая эритроциты образуют "точку".

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность и специфичность набора определяется по стандартной панели сывороток предприятия, содержащих и не содержащих антитела к О-антигенам шигелл (СОП₂₉₆АТ(+/-)О-Shigella), как процентное содержание образцов, определенных набором как положительные либо отрицательные, и составляет 100%.

Диагностическая чувствительность набора реагентов: 97,76% (с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическая специфичность набора реагентов: 99,60% (с доверительной вероятностью 95%).

Воспроизводимость результатов составила 100%.

При исследовании образцов, содержащих антитела к О-антигенам шигелл Дизентерия (серогруппа А) и шигелл Бойда (серогруппа С) перекрестной реакции с «Набор реагентов для определения антител к О-антигенам шигелл Зонне и Флекснера в реакции пассивной гемагглютинации» «Шигелла РПГА» не наблюдалась.

При исследовании образцов, содержащих интерферирующие вещества в «Наборе реагентов для определения антител к О-антигенам шигелл Зонне и Флекснера в реакции пассивной гемагглютинации» «Шигелла РПГА» интерференции не наблюдалась.

ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Цельные образцы сыворотки крови человека в объеме 10 мкл.

Для образцов, принятых к исследованию, допускается хранение при 2-8⁰С в течение 7 суток или в замороженном виде (-20⁰С и ниже) неограниченно долго. После размораживания образцы следует тщательно перемешать.

Образцы, содержащие агрегированные частицы фибрина или иные видимые глазом примеси, перед исследованием необходимо осветлить центрифугированием.

Для исключения недостоверных результатов не рекомендуется анализировать сыворотки с микробным проростом, гемолизом, повышенным содержанием липидов или подвергшиеся многократному (более 5 раз) замораживанию и оттаиванию.

Перед проведением тестирования анализируемые образцы, изъятые из холодильных камер, необходимо выдержать на лабораторном столе в течение 30-60 мин до достижения ими температуры окружающей среды (от 18 до 30⁰С).

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

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

Все жидкие реагенты содержат натрия азид в безопасной концентрации.

Меры предосторожности при работе с набором – соблюдение правил "Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений" (Утв. Минздравом СССР 17 января 1991 г.), ГОСТ Р 52905–2007 (ИСО 15190:2003).

Набор реагентов, 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 А - отходы, не имеющие контакта с биологическими жидкостями пациентов, инфекционными больными и классу Б (эпидемиологически опасные отходы) – инфицированные и потенциально инфицированные отходы, материалы и инструменты, предметы, загрязненные кровью и/или другими биологическими жидкостями.

Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить 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" и МУ 287-113 "Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения".

СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

Оборудование и материалы

- Поверенный таймер, холодильная камера с температурным режимом 2-8⁰С.
- Пипетки полуавтоматические с рабочими диапазонами: 5-50 мкл, 20-200 мкл.
- Одноразовые наконечники к указанным пипеткам.
- Контейнеры для жидких и твердых отходов.
- Резиновые или латексные перчатки, средства дезинфекции.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ И ОБРАЗЦОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

Все компоненты набора готовы к применению.

Перед проведением анализа извлечь набор из холодильной камеры, выставить компоненты набора, включая планшет, на лабораторный стол, выдержать не менее 30 мин.

Перед вскрытием содержимое флаконов с КЭ и ТЭ перемешать встряхиванием для получения гомогенной суспензии.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Внести по 190 мкл раствора для разведения образцов (РРО) в первый длинный ряд планшета. Во все остальные лунки планшета, кроме лунок второго ряда, внести по 50 мкл РРО.

Внести по 10 мкл контрольных и анализируемых образцов в лунки первого ряда планшета. Например, в первую лунку – контрольный отрицательный образец К⁻, во вторую – контрольный положительный образец К⁺. В остальные лунки, начиная с третьей, - анализируемые сыворотки. При внесении образцов перемешивать содержимое лунок двукратным пипетированием. Полученное разведение образцов в лунках - 1:20. Цвет РРО в лунке после добавления образца должен измениться с желто-оранжевого на красный.

После завершения процедуры внесения образцов из каждой лунки первого ряда внести 50 мкл разведенного 1:20 образца в соответствующие лунки второго и третьего ряда. Начиная с лунок третьего ряда раститровать образцы, перенося по 50 мкл в следующие лунки рядов, получив двукратные разведения от 1:40 до 1:1280. Из лунок последнего длинного ряда удалить по 50 мкл разведенных образцов (1:1280) и слить в дезинфицирующий раствор.

Внести по 50 мкл КЭ во все лунки второго ряда планшета (конечный титр 1:40). В остальные лунки, с третьего по восьмой ряд, внести по 50 мкл ТЭ, соответствующей групповой специфичности (конечный титр от 1:80 до 1:2560).

Внесение эритроцитов увеличивает разведение образцов в 2 раза, что учитывается при определении конечного титра антител.

Планшет осторожно покачать, чтобы перемешать содержимое лунок, и выдержать 2 часа при температуре окружающей среды (от 18 до 30⁰С) в условиях, исключающих вибрацию, после чего учесть результаты реакции.

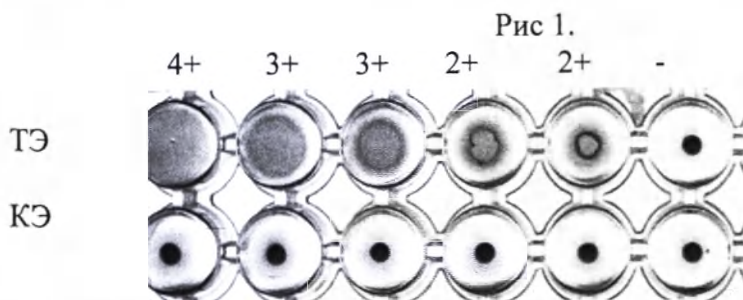
Учет результатов

Результаты анализа исследуемых образцов учитывать при соблюдении условий:

- Контрольный положительный образец (К⁺) дает положительный результат не ниже (3+) с ТЭ в титре не ниже 1:160 и отрицательный результат с КЭ.
- Контрольный отрицательный образец (К⁻) дает отрицательный результат как с ТЭ, так и с КЭ.

- При несоблюдении вышеуказанных условий, результаты анализа исследуемых образцов считать недействительными, а набор не подлежит дальнейшему использованию.

При соблюдении вышеуказанных условий, результаты анализа образцов оцениваются в баллах по внешнему виду осадка тест-эритроцитов (ТЭ), как показано на рисунке 1. Контролем служит реакция с контрольными эритроцитами (КЭ), которая в каждом тесте должна давать отрицательный результат.



- **(4+) Резко положительный** – ровный слой ("зонтик") агглютинированных эритроцитов, распределенных по дну лунки.

- **(3+) Положительный** – на фоне агглютинированных эритроцитов на большей части дна лунки формируется заметное кольцо с размытыми краями.

- **(2+) Отрицательный** – на фоне агглютинированных эритроцитов в центральной части дна лунки формируется маленькое кольцо с четкими краями.

- **(-) Отрицательный** – на свободном от эритроцитов окружающем фоне на дне лунки формируется компактный осадок ("пуговка") или небольшой рыхлый осадок эритроцитов с незначительным просветом в центральной части.

- **(Н) Неопределенный результат** – эритроциты, как ТЭ, так и КЭ дают положительную реакцию (3+) и выше.

При получении неопределенного результата (положительного результата с ТЭ и КЭ) исследование образца необходимо повторить. Повторное получение аналогичного результата свидетельствует о наличии в исследуемой сыворотке антиэритроцитарных антител, которые необходимо предварительно абсорбировать. Для этого в чистую пробирку (микропробирку на 1,5 мл) внести 200 мкл суспензии КЭ и 10 мкл сыворотки, содержимое пробирки перемешать. Выдержать пробирку 30 мин при температуре окружающей среды (от 18 до 30°C), после чего осадить эритроциты центрифугированием: 3 мин, с ускорением 2000 g. Образец надосадочной жидкости непосредственно использовать по 50 мкл в реакции с КЭ, для проведения реакции с ТЭ образец (50 мкл) необходимо раститровать в РРО с шагом 2. Время проведения реакции - 2 часа, оценка результатов, как указано выше по тексту.

- **Положительным результатом** считают гемагглютинацию ТЭ не менее чем на (3+) креста в титре 1:80.

- **Титром антител** в исследуемом образце считается последнее разведение, в котором получен положительный результат не менее чем на (3+), умноженное на 2 (с учетом разведения образца при внесении ТЭ).

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Обнаружение у обследуемых антител к О-антигенам шигелл может свидетельствовать как о текущей, так и о недавно перенесенной шигеллезной инфекции. При наличии клинических признаков кишечной инфекции подтверждение диагноза бактериальная дизентерия (шигеллез) проводится по результатам исследования парных сывороток. Диагностическое значение имеет нарастание титра специфических антител в динамике наблюдения антител в четыре и более раз.

СРОК ГОДНОСТИ.

Срок годности набора – 24 мес. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ

Замораживание не допускается!

Хранение

Хранение наборов должно осуществляться в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности.

После вскрытия упаковок неиспользованные реагенты допускается хранить в течение всего срока годности при вышеуказанных холодовых условиях.

Транспортирование

При температуре от 2 до 8 °С транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. Допускается транспортирование при температуре от 9 до 25 °С в течение 15 сут.

УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для учреждений здравоохранения.

ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

«Набор реагентов для определения антител к О-антигенам шигелл Зонне и Флекснера в реакции пассивной гемагглютинации» «Шигелла РПГА», соответствует ТУ 21.20.23-296-70423725-2021, Национальным стандартам РФ и нормативным документам в части требований безопасности и эффективности.

По вопросам, касающимся обращения и качества набора реагентов «Шигелла РПГА», следует обращаться по адресу 142530 Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1-1а, ЗАО "ЭКОлаб"; тел. 8(49643)3-23-11, 3-30-93, 3-30-85, 8-800-333-33-47.

Директор ЗАО "ЭКОлаб" по научной работе

С.Г. Марданлы

"СОГЛАСОВАНО"

Генеральный директор ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

П.К. Варнавичус

« 12 » 12 2021 г.

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 7 ЛИСТОВ

« 12 » _____ 202 1 год

Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичус И.К.

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

_____ лист 06
Ген. директор ЗАО "ЭКОлаб"
_____ Гашенко Т.Ю.
" 14 " _____ 2021 г.