

ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов
«Диагностикум эритроцитарный шигеллезный Флекснера б антигенный жидкий»

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «Диагностикум эритроцитарный шигеллезный Флекснера б антигенный жидкий» предназначен для выявления в сыворотке крови человека специфических антител к антигену шигеллы Флекснера б в реакции пассивной гемагглютинации (РПГА) в формате полуквантитативного анализа.

Функциональное назначение

Мониторинг и диагностика. Применение изделия не имеет популяционных и демографических аспектов. Изделие предназначено для обследования лиц с симптомами шигеллезной инфекции.

Показания

Набор реагентов «Диагностикум эритроцитарный шигеллезный Флекснера б антигенный жидкий» показан к применению для идентификации антител к бактерии рода *Shigella flexneri* б с целью назначения правильного лечения больного, а также при расследовании вспышек дизентерии (шигеллеза) и установления источников и факторов передачи возбудителя инфекции.

Для однократного применения набора по назначению.

Для клинической лабораторной диагностики *in vitro*.

Противопоказания

Не существует.

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

Шигеллез – острое антропонозное заболевание с фекально-оральным механизмом передачи, вызываемое бактериями рода *Shigella* и характеризующееся поражением кишечника и интоксикацией. Синоним – дизентерия бактериальная. Относится к числу наиболее распространенных во всем мире кишечных инфекций.

Шигеллы – грамотрицательные бактерии, представленные несколькими биологически родственными между собой бактериями, объединенными в род *Shigella*, входящий в семейство Enterobacteriaceae. Известно около 40 серотипов шигелл, объединенных в 4 серогруппы (А, В, С, D), которые отличаются друг от друга по своим биохимическим свойствам и характеристикам О-антигенов. Серогруппа А образует вид *Shigella dysenteriae*, наиболее типичными представителями которого являются серотипы Григорьева-Шига и Штуцера-Шмитца. Серогруппа В образует вид *Shigella flexneri*, наиболее типичные серотипы – шигеллы Флекснера, Ньюкасла. Серогруппа С образует вид *Shigella boydii*, и серогруппа D образует вид *Shigella sonnei*. Наиболее типичными для Российской Федерации являются серогруппы В и D (виды *Shigella flexneri* и *Shigella sonnei*).

Основными антигенами шигелл являются О-антиген (термостабильный соматический антиген клеточной стенки, представляющий собой липополисахаридно-протеиновый комплекс) и К-антиген (капсульный или оболочечный термолabile антиген, обладающий большой специфичностью; у шигелл вида Зонне он отсутствует).

Серологические методы диагностики дизентерии (шигеллеза), как правило, используют в сомнительных случаях и при отрицательных результатах бактериологического исследования испражнений. Определяют титр специфических антител в сыворотке крови больного и антигена в испражнениях. Исследование рекомендуют проводить в динамике в парных сыворотках больным с клиническим диагнозом острой дизентерии в первые дни заболевания (при поступлении в стационар) и через 7-10 дней после первичного исследования. Следует принимать во внимание, что результат определения антител может быть положительным после ранее перенесенной инфекции; в некоторых случаях возможны перекрестные реакции, связанные с кросс-реагирующими антителами к другим патогенам.

Минимальным условно диагностическим титром к диагностикуму Флекснера для взрослых считают положительный результат реакции в разведении 1:400, для детей до 3 лет - 1:100, старше 3 лет - 1:200; для остальных диагностикумов - 1:200. В связи с большим числом неспецифических положительных результатов этой реакции, в особенности в отношении диагностикумов Флекснера и Зонне, достоверным положительным результатом следует считать не менее чем четырехкратное нарастание титра в динамике заболевания.

СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

Таблица 1

Реагенты	Количество
Диагностикум эритроцитарный шигеллезный Флекснера б антигенный жидкий (ДЭ) – представляет собой 1% взвесь формализированных, сенсibiliзированных эритроцитов барана антигеном шигеллы Флекснера б в фосфатном солевом буфере. Гомогенная суспензия коричневого цвета без хлопьев, при отстаивании образует два слоя: плотный коричневатый осадок эритроцитов и прозрачная желтоватая надосадочная жидкость	1 флакон – 5 мл
Сыворотка контрольная диагностическая шигеллезная Флекснера б адсорбированная сухая (КС) – гомогенная масса от белого с коричневатым оттенком до бежевого цвета	1 флакон - из 0,1 мл
1% взвесь формализированных несенсibiliзированных эритроцитов барана (КЭ) представляет собой гомогенную суспензию коричневого цвета без хлопьев, при отстаивании образует два слоя: плотный коричневатый осадок эритроцитов и прозрачная желтоватая надосадочная жидкость	1 флакон - 1 мл
Раствор для постановки РПГА представляет собой фосфатный солевой буфер (рН 6,5–7,5)	2 флакона по 8 мл
Планшет полимерный для иммунологических реакций однократного применения - состоит из 96 лунок с прозрачным, бесцветным, круглым дном	1 шт
Инструкция по применению	1 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 упакованы в коробку, в коробку вложена инструкция по применению.

В комплект поставки входят: набор реагентов и паспорт.

ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Набор реагентов «Диагностикум эритроцитарный шигеллезный Флекснера б антигенный жидкий» при использовании точного метода дозирования ДЭ по 25 мкл рассчитан на 16 определений, включая контроли.

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 ДЕЙСТВИЯ

Действующим началом ДЭ является специфический антиген шигеллы Флекснера б, фиксированный на поверхности эритроцитов. При взаимодействии с сыворотками, содержащими антитела к указанному антигену, наблюдается феномен агглютинации эритроцитов. Реакция регистрируется визуально.

ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Исследуются образцы сыворотки крови человека (далее – образцы), полученной в соответствии с рабочими инструкциями диагностической лаборатории, проводящей исследование, в объеме не менее 30 мкл.

Сыворотки должны быть инактивированы при температуре 56 °С в течение 30 мин.

Допускается хранение при 2-8 °С в течение 7 суток или в замороженном виде (-20 °С 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.

Во время приготовления образцов не допускается применение коагулянтов, консервантов и стабилизаторов, изменяющих значение рН.

Сбор, хранение и подготовка биологического материала человека должны производиться в соответствии с ГОСТ Р 53079.4 «Обеспечение качества клинических лабораторных исследований» и МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории»

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Специфическая активность набора

ДЭ должен агглютинироваться КС в РПГА в разведении не менее, чем 1:6400 с оценкой не менее чем на (3+) по истечении 2 ч ±15 мин.

ДЭ не должен агглютинироваться гетерологичными сыворотками шигеллезными в РПГА в разведении, превышающем 1/8 титра специфической активности с КС с оценкой не менее чем на (3+) по истечении 2 ч ±15 мин.

Чувствительность и специфичность

Определяется в РПГА с помощью стандартных образцов предприятия – сывороток шигеллезных, содержащих и не содержащих антитела к антигену шигеллы Флекснера б соответственно, и составляет 100%.

Аналитическая специфичность

При исследовании образцов, содержащих различные концентрации следующих интерферирующих веществ, набором реагентов «Диагностикум эритроцитарный шигеллезный Флекснера б антигенный жидкий» интерференции не наблюдалось:

- эндогенные интерференты: гемоглобин в концентрации 10 г/л, билирубин в концентрации 200 мкмоль/л, триглицериды в концентрации 5,6 ммоль/л.
- экзогенные интерференты: ацетоаминофен в концентрации 500 мкмоль/л, ацетилсалициловая кислота в концентрации 1,4 ммоль/л, ибупрофен в концентрации 100 мг/л, ампициллин в концентрации 5 мг/л, ципрофлоксацин в концентрации 5,4 мг/л.

Диагностические характеристики

Диагностическая чувствительность набора реагентов: 96,33% - 100% (с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическая специфичность набора реагентов: 98,25% - 100% (с доверительной вероятностью 95%).

Воспроизводимость: 100%.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор биологически безопасен. Входящие в ДЭ эритроциты барана, сенсibilизированные антигеном шигеллы Флекснера 6 в фосфатном солевом буфере, находятся в безопасной концентрации и не представляют угрозы для медицинского персонала. Изделие не взаимодействует с тканями пациента и не представляет опасности при использовании в соответствии с инструкцией по применению набора реагентов. Дополнительные меры предосторожности не требуются, однако с исследуемыми образцами необходимо обращаться как с потенциально инфицированным материалом.

Потенциальный риск применения набора – класс 2Б, ГОСТ 31508 «Изделия медицинские. Классификация в зависимости от потенциального риска применения. Общие требования».

Меры предосторожности при работе с набором – соблюдение требований ГОСТ Р 52905 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

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 (секундомер);

холодильная камера с температурным режимом 2–8 °С;

термостат суховоздушный, поддерживающий температуру (37±1) °С;

дозаторы постоянного или переменного объема: 25 мкл, 50 мкл, (100-1000) мкл;

одноразовые наконечники к указанным дозаторам;

контейнеры для жидких и твердых отходов;

резиновые или латексные перчатки, средства дезинфекции;

70% раствор спирта этилового и 6% раствор перекиси водорода (дез. растворы) или растворы иных дезинфектантов, разрешенных к применению в соответствии с СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

Подготовка компонентов для РПГА

Перед проведением анализа набор реагентов необходимо выдержать не менее 30 мин при комнатной температуре.

ДЭ и КЭ готовы к применению. Перед вскрытием флаконы необходимо осторожно встряхнуть до получения гомогенной суспензии. В процессе работы встряхивание рекомендуется повторять.

Раствор для постановки РПГА готов к применению.

КС необходимо растворить в 1000 мкл раствора для постановки РПГА, разведение 1:10.

Образцы необходимо использовать в разведении 1:10.

Для постановки РПГА используют планшет для иммунологических реакций однократного применения.

Рабочим разведением при постановке РПГА для сывороток шигеллезных является разведение 1:100 и готовится в первой лунке прилагаемого планшета.

Постановка РПГА при проведении полуколичественного анализа

Для разведения сывороток 1:100 внести по 90 мкл раствора для постановки РПГА в первые лунки двух смежных рядов планшета. Во все оставшиеся лунки внести 50 мкл раствора для постановки РПГА.

Внести по 10 мкл КС и образца в 90 мкл раствора для постановки РПГА в первые лунки двух смежных рядов планшета соответственно.

Растирать КС и образец, начиная с первой лунки (1:100), последовательным переносом 50 мкл из лунки в лунку до удвоенного титра, указанного на этикетке флакона с сывороткой, сбросив 50 мкл из последней лунки в емкость для твердых отходов вместе с наконечником.

Внести по 25 мкл ДЭ во все лунки двух смежных рядов, начиная с последней лунки каждого ряда.

По окончании постановки реакции планшет осторожно встряхнуть и поместить в термостат при температуре (37±1) °С на 2 ч ± 15 мин.

Учет результатов

Результаты РПГА следует учитывать следующим образом (см. Рисунок 1):

(4+) – все эритроциты агглютинированы и равномерно покрывают дно лунки в виде «зонтика».

(3+) – агглютинированы почти все эритроциты, на их фоне имеется малозаметное кольцо из осевших неагглютинированных эритроцитов.

(2+) – наряду с равномерным агглютинатом на дне лунки имеется осадок в виде маленького «колечка» или «пуговки».

(1+) – большинство эритроцитов неагглютинировано и осело в виде маленького «колечка» с неровными краями в центре дна лунки.

(–) – признаков агглютинации нет. Эритроциты осели в виде «пуговки» или «колечка» с ровными краями.



Рисунок № 1

Титром антител исследуемой сыворотки следует считать последнее разведение, которое дает агглютинацию не менее чем на (3+), что свидетельствует о наличии антигена в исследуемой сыворотке.

Отрицательной следует считать реакцию агглютинации интенсивностью на (2+) и менее.

Обязательные контроли при постановке РПГА

Таблица 2

Контроль	Результат, при котором реакция может быть учтена
Подтверждение факта агглютинации ДЭ с КС	ДЭ должен агглютинироваться КС в РПГА в разведении не менее чем 1:160
Контроль на отсутствие спонтанной агглютинации ДЭ – в две лунки планшета внести по 50 мкл раствора для постановки РПГА и по 25 мкл ДЭ	Реакция отрицательная – все эритроциты осели на дне лунки в виде «пуговки» или «колечка»
Контроль на отсутствие в сыворотках (разведение 1:10) агглютининов к эритроцитам барана – в две лунки планшета внести по 50 мкл КС и в две лунки внести по 50 мкл исследуемой сыворотки, затем во все четыре лунки внести по 25 мкл КЭ	Реакция отрицательная – все эритроциты осели на дне лунки в виде «пуговки» или «колечка»
Контроль КС и исследуемой сыворотки в разведении 1:10 – в две лунки внести по 50 мкл КС и в две лунки внести по 50 мкл исследуемой сыворотки	В лунках с сыворотками не должно быть хлопьев и осадка

СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности набора реагентов «Диагностикум эритроцитарный шигеллезный Флекснера 6 антигенный жидкий» составляет 24 месяца со дня приемки ОКК предприятия-изготовителя.

ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ

Хранение

Хранение набора реагентов должно осуществляться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности в строго вертикальном положении. Замораживание не допускается.

После вскрытия компонентов набора допускается хранение в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8 °С, для ДЭ и КЭ – в течение всего срока годности, для растворённой КС – в течение 1 месяца.

Транспортирование

Транспортирование набора реагентов должно осуществляться при температуре от 2 до 8 °С в строго вертикальном положении крытым транспортом всех видов. Замораживание не допускается. Допускается транспортирование при температуре от 9 до 25 °С в течение 14 суток.

УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для учреждений здравоохранения.

ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Производство имеет систему менеджмента качества, сертифицированную на соответствие требованиям ГОСТ ISO 13485 «Изделия медицинские. Системы менеджмента качества. Требования для целей регулирования»

Набор реагентов «Диагностикум эритроцитарный шигеллезный Флекснера 6 антигенный жидкий» соответствует Национальным стандартам РФ и нормативным документам в части требований безопасности и эффективности.

По вопросам, касающимся качества и обращения набора реагентов «Диагностикум эритроцитарный шигеллезный Флекснера 6 антигенный жидкий», а также для получения технической консультации и поддержки обращаться по адресу:

Общество с ограниченной ответственностью «Био-Диагностика» (ООО «Био-Диагностика»): Россия, 111524, г. Москва, вн.тер.г. Муниципальный округ Перово, ул. Электродная, д. 10, стр. 3, тел. +7(495)646-23-51, +7(903)72-896-72, bio-d@mail.ru.