

ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов
«Диагностикум эритроцитарный сальмонеллезный О - антигенный комплексный
(1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 12), жидкий»
Набор №1

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов №1 предназначен для выявления в сыворотке крови человека специфических антител к О-антигенам сальмонелл в реакции пассивной гемагглютинации (РПГА).

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Действующим началом диагностикума являются специфические антигены сальмонелл, фиксированные на поверхности эритроцитов. При взаимодействии с сыворотками, содержащими антитела к сальмонеллам, наблюдается феномен агглютинации эритроцитов.

2.2. Состав набора

Реагенты	Количество
Диагностикум эритроцитарный сальмонеллезный комплексный (1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 12) получен путем сенсибилизации эритроцитов смесью О-антигенов сальмонелл указанных групп. Представляет собой 1% взвесь формализированных эритроцитов барана, сенсибилизированных антигенами из сальмонелл в фосфатном буферном растворе (рН - 7,2±0,2; концентрация – 0,06 моль/л). Консервант – формалин. Гомогенная суспензия коричневого цвета без хлопьев; при отстаивании образуется 2 слоя: плотный коричневый осадок эритроцитов и прозрачная желтоватая надосадочная жидкость	1 флакон – 8 мл
Сыворотки диагностические сальмонеллезные неадсорбированные сухие к каждой из отдельных серогрупп: А, В, С ₁ , С ₂ , Д, Е - гомогенная масса от белого с коричневатым оттенком до бежевого цвета	6 флаконов - из 0,1 мл каждый
1% взвесь формализированных, несенсибилизированных эритроцитов барана - гомогенная суспензия коричневого цвета без хлопьев; при отстаивании образуется 2 слоя: плотный коричневый осадок эритроцитов и прозрачная желтоватая надосадочная жидкость	1 флакон – 1 мл
Раствор для разведений сыворотки и постановки РПГА - 0,9% раствор натрия хлорида - прозрачная бесцветная жидкость, рН от 6,5 до 7,5	2 флакона – по 8 мл
Планшет круглодонный для иммунологических реакций однократного применения - состоит из 8 рядов, каждый из которых включает в себя 12 лунок с прозрачным, бесцветным, круглым дном	2 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Диагностикум должен агглютинироваться сыворотками диагностическими сальмонеллезными неадсорбированными сухими к каждой из отдельных серогрупп: А, В, С₁, С₂, Д, Е, в РПГА в разведении не менее, чем 1:3200 для сывороток серогрупп В, С₁, С₂, Д, Е и 1:800 для сыворотки серогруппы А.

3.2. Время проведения анализа – 2 ч.

3.3. Набор рассчитан на 16 определений.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При работе с набором следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР (М., 1981 г.).

Анализируемые сыворотки, а также находящиеся с ними в контакте реагенты следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять или передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции - обращаться с ними следует осторожно:

- работать в резиновых перчатках;
- при пипетировании необходимо пользоваться автоматическими дозаторами;
- при завершении работы анализируемые сыворотки и находящиеся с ними в контакте реагенты, инструменты подвергать обработке дезинфицирующим раствором;
- оборудование до и после работы протирать 70% этиловым спиртом.

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

Входящие в состав набора сыворотки диагностические сальмонеллезные неадсорбированные сухие к каждой из отдельных серогрупп: А, В, С₁, С₂, Д, Е инактивированы.

Объективные результаты анализа гарантируются при выполнении следующих условий:

- хранение всех реагентов набора осуществлять при температуре от 2 до 8 °С;
- не использовать реагенты с истекшим сроком годности;
- не использовать реагенты набора при отсутствии на их упаковке соответствующей маркировки;
- для проведения РПГА использовать реагенты, входящие только в данный набор.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- растворы для обеззараживания;
- резиновые перчатки;
- спирт этиловый 70 %;
- полуавтоматические пипетки с переменным или фиксированным объемом со сменяемыми наконечниками, аттестованные на точность по значению средней дозы и воспроизводимость результатов пипетирования (отклонение не более 3 %);
- термостат на 37 °С;
- контейнер для слива обеззараженных анализируемых сывороток и реагентов;
- контейнер для твердых отходов.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

В качестве анализируемых образцов используется сыворотка крови человека, полученная в соответствии с рабочими инструкциями диагностической лаборатории, проводящей исследование.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Приготовление растворов для РПГА

7.1.1. Диагностикум и 1% взвесь формализированных, несенсибилизированных эритроцитов готовы к применению. Перед вскрытием флаконы необходимо осторожно встряхнуть до получения гомогенной суспензии. В процессе работы встряхивание рекомендуется периодически повторять.

7.1.2. Приготовление рабочих растворов сывороток диагностических сальмонеллезных неадсорбированных сухих к каждой из отдельных серогрупп: А, В, С₁, С₂, Д, Е.

Вскрыть флаконы и растворить сыворотки по 0,1 мл 0,9% раствора натрия хлорида и, после полного растворения, внести во все флаконы еще по 0,9 мл 0,9% раствора натрия хлорида, получив, таким образом, разведение 1:10.

Разведение 1:100, являющееся рабочим разведением, для каждой сыворотки диагностической сальмонеллезной неадсорбированной сухой серогрупп: А, В, С₁, С₂, Д, Е, готовить в первой лунке прилагаемого планшета:

- в 1 лунку 1 ряда планшета внести 0,09 мл 0,9% раствора натрия хлорида и 0,01 мл сыворотки диагностической сальмонеллезной серогруппы А;
- в 1 лунку 2 ряда планшета внести 0,09 мл 0,9% раствора натрия хлорида и 0,01 мл сыворотки диагностической сальмонеллезной серогруппы В;
- в 1 лунку 3 ряда планшета внести 0,09 мл 0,9% раствора натрия хлорида и 0,01 мл сыворотки диагностической сальмонеллезной серогруппы С₁;
- в 1 лунку 4 ряда планшета внести 0,09 мл 0,9% раствора натрия хлорида и 0,01 мл сыворотки диагностической сальмонеллезной серогруппы С₂;
- в 1 лунку 5 ряда планшета внести 0,09 мл 0,9% раствора натрия хлорида и 0,01 мл сыворотки диагностической сальмонеллезной серогруппы Д;
- в 1 лунку 6 ряда планшета внести 0,09 мл 0,9% раствора натрия хлорида и 0,01 мл сыворотки диагностической сальмонеллезной серогруппы Е.

7.1.3. 0,9% раствор натрия хлорида. Готов к применению.

7.1.4. Анализируемые сыворотки крови человека должны быть разведены в 10 раз 0,9% раствором натрия хлорида.

7.2. Проведение РПГА

Во все лунки 7 рядов планшета, кроме первой лунки внести по 0,05 мл 0,9% раствора натрия хлорида.

Растирывать 6 рядов сывороток диагностических сальмонеллезных неадсорбированных сухих к каждой из отдельных серогрупп: А, В, С₁, С₂, Д, Е, начиная с первой лунки (1:100), перенося из лунки в лунку при перемешивании по 0,05 мл до титра, указанного на этикетке флакона, каждой титруемой сыворотки, сбросив 0,05 мл из последней лунки в емкость для отходов вместе с наконечником.

В первые 2 лунки седьмого ряда внести по 0,05 мл анализируемой сыворотки в разведении 1:10 и растирывать начиная со второй лунки (1:20) до титра 1:2560, сбросив 0,05 мл из последней лунки в емкость для отходов вместе с наконечником.

Во все лунки семи рядов, начиная с последней лунки каждого ряда, внести по 0,025 мл диагностикума.

7.3. Обязательные контроли:

Контроль	Результат, при котором реакция может быть учтена
Подтверждение факта агглютинации диагностикума с 6 сыворотками диагностическими сальмонеллезными неадсорбированными сухими к каждой из отдельных серогрупп: А, В, С ₁ , С ₂ , Д, Е	Диагностикум должен агглютинироваться сыворотками диагностическими сальмонеллезными неадсорбированными сухими к каждой из отдельных серогрупп А, В, С ₁ , С ₂ , Д, Е в РПГА в разведении не менее чем 1:3200 для сывороток серогрупп В, С ₁ , С ₂ , Д, Е и 1:800 для сыворотки серогруппы А
Контроль на отсутствие спонтанной агглютинации диагностикума - в 2 лунки планшета внести по 0,05 мл 0,9% раствора натрия хлорида и по 0,025 мл диагностикума	Реакция отрицательная - все эритроциты осели на дне лунки в виде «пуговки» или «колечка»
Контроль на отсутствие в сыворотках агглютининов к эритроцитам барана - в 2 лунки планшета внести по 0,05 мл сывороток диагностических сальмонеллезных неадсорбированных сухих к каждой из отдельных серогрупп: А, В, С ₁ , С ₂ , Д, Е (итого 12 лунок) и в 2 лунки внести по 0,05 мл каждой анализируемой сыворотки, затем во все лунки внести по 0,025 мл 1% взвеси формализированных несенсибилизированных эритроцитов барана.	Реакция отрицательная - все эритроциты осели на дне лунки в виде «пуговки» или «колечка»
Контроль всех сывороток - для чего каждую из сывороток, включая анализируемые, внести в 2 лунки по 0,05 мл в том разведении, из которого они растирывались.	В лунках с сыворотками не должно быть хлопьев и осадка

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

8. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

8.1. Учет реакции проводится по четырехкrestной системе:

(4+) - все эритроциты агглютинированы 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.

Титром антител анализируемой сыворотки считается последнее разведение сыворотки, которое дает агглютинацию не менее чем на (3+).

8.2. Интерпретация результатов

Диагностически достоверным является увеличение (или падение) титров специфических антител на три разведения при исследовании парных образцов сыворотки в динамике заболевания.

Первоначально анализируемые сыворотки проверяют в РПГА с комплексным диагностикумом эритроцитарным сальмонеллезным, а при получении положительного результата - с диагностикумами эритроцитарными сальмонеллезными О-антигенными (набор № 2).

9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

9.1. Хранение набора реагентов в упаковке производителя должно осуществляться при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности в строго вертикальном положении. Транспортирование должно проводиться всеми видами крытого транспорта при температуре от 2 до 8 °С. Допускается кратковременное (не более 7 сут) транспортирование при температуре от 9 до 25 °С.

Срок годности 18 месяцев.

9.2. После вскрытия флаконы с 6 сыворотками диагностическими сальмонеллезными неадсорбированными сухими к каждой из отдельных серогрупп: А, В, С₁, С₂, Д, Е в разведении 1:10, диагностикумом и 1% взвесью формализированных, несенсибилизированных эритроцитов барана в закрытом виде можно хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение одного месяца.

9.3. До проведения анализа возможно хранение анализируемых образцов сыворотки крови при температуре минус 20 °С не более 2 мес. Разрешается только однократное замораживание и размораживание анализируемых образцов сыворотки крови.

9.4. Исключается использование для анализа гемолизированных и мутных образцов сыворотки крови.

9.5. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

Рекламации на качество набора реагентов «Диагностикум эритроцитарный сальмонеллезный О - антигенный комплексный (1,2,3,4,6,7,8,9,10,12) жидкий» (набор № 1) направлять в адрес ООО "Био - Диагностика": РФ, 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.