

**ИНСТРУКЦИЯ**  
**по применению набора реагентов**  
**«Диагностикумы эритроцитарные менингококковые**  
**полисахаридные групп А, В, С, жидкие»**

**1. НАЗНАЧЕНИЕ**

Набор реагентов предназначен для выявления специфических антител к полисахаридным менингококковым антигенам в сыворотке крови человека в реакции пассивной гемагглютинации (РПГА).

**2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА**

**2.1. Принцип метода**

Действующим началом диагностикумов являются менингококковые антигены серогрупп А, В, С, фиксированные на поверхности эритроцитов. При взаимодействии с сыворотками, содержащими антитела к указанным антигенам, наблюдается феномен агглютинации эритроцитов.

**2.2. Состав набора**

Реагенты	Количество
<b>Диагностикумы эритроцитарные менингококковые полисахаридные групп А, В, С</b> , представляют собой 1% взвесь в фосфатном буферном растворе (рН 7,2±0,2) в концентрации 0,06 моль/л формализированных эритроцитов барана, sensibilizированных группоспецифическими полисахаридами <i>N.meningitidis</i> . Гомогенная суспензия коричневого цвета без хлопьев; при отстаивании образуется 2 слоя: плотный коричневый осадок эритроцитов и прозрачная желтоватая надосадочная жидкость	1 флакон – 3 мл
<b>Гомологичные сыворотки диагностические менингококковые серогрупп А, В, С неадсорбированные кроличьи сухие</b> – гомогенная масса от белого с коричневатым оттенком до бежевого цвета	1 флакон – из 0,1 мл
<b>1% взвесь формализированных, несенсибилизированных эритроцитов барана</b> – гомогенная суспензия коричневого цвета без хлопьев; при отстаивании образуется 2 слоя: плотный коричневый осадок эритроцитов и прозрачная желтоватая надосадочная жидкость	1 флакон – 1 мл
<b>Раствор для разведений сыворотки и постановки РПГА</b> – 0,9% раствор натрия хлорида – прозрачная бесцветная жидкость, рН от 6,5 до 7,5	2 флакона – по 8 мл
<b>Планшет круглодонный для иммунологических реакций однократного применения</b> – состоит из 8 рядов, каждый из которых включает в себя 12 лунок с прозрачным, бесцветным, круглым дном	1 шт.

**3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ**

3.1. Диагностикумы полисахаридные должны агглютинироваться в РПГА гомологичными сыворотками диагностическими менингококковыми серогрупп А, В, С неадсорбированными кроличьими сухими в разведении не ниже, чем 1:320 (для диагностикумов групп А, С) и не ниже, чем 1:80 (для диагностикума группы В).

Уровнем диагностических характеристик сыворотки крови здоровых людей следует считать разведение сыворотки не выше 1:40 с эритроцитарным А диагностикумом (т.е. для МИ серогруппы А); разведение не выше 1:10 с эритроцитарными диагностикумами серогрупп В, С (для МИ серогрупп В, С). У здоровых детей до 5 лет уровень диагностических характеристик в два раза меньше, указанных выше.

3.2. Время проведения анализа – 2 ч.

3.3. Набор рассчитан на 8 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 при температуре 56 °С в течение 30 мин.

Входящая в состав набора гомологичная сыворотка диагностическая менингококковая серогрупп А, В, С неадсорбированная кроличья сухая инактивирована.

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 исследуемых 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 барана – готовы к применению. Перед вскрытием флаконы необходимо осторожно встряхнуть до получения гомогенной суспензии. В процессе работы встряхивание рекомендуется периодически повторять.

7.1.2. Приготовление рабочего раствора гомологичной сыворотки диагностической менингококковой серогрупп А, В, С неадсорбированной кроличьей сухой - флакон с гомологичной сывороткой диагностической менингококковой серогрупп А, В, С неадсорбированной кроличьей сухой вскрыть и растворить 0,1 мл 0,9% раствора натрия хлорида. Затем во флакон внести еще 0,9 мл 0,9% раствора натрия хлорида, получив, таким образом, разведение 1:10, являющееся рабочим разведением.

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 двух рядов планшета, кроме первых двух лунок, внести по 0,05 мл 0,9% раствора натрия хлорида;
- в первые две лунки первого ряда планшета внести по 0,05 мл гомологичной сыворотки диагностической менингококковой серогрупп А, В, С неадсорбированной кроличьей сухой в разведении 1:10 и раститровать, начиная со второй лунки (1:20) до удвоенного титра сыворотки, указанного на этикетке флакона с сывороткой, сбросив 0,05 мл из последней лунки в емкость для отходов вместе с наконечником;
- в первые две лунки второго ряда внести по 0,05 мл анализируемой сыворотки в разведении 1:10 и раститровать, 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 обоих 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 гомологичной сывороткой диагностической менингококковой серогрупп А, В, С неадсорбированной кроличьей сухой (первый ряд планшета)	Диагностикумы полисахаридные должны агглютинироваться в РПГА гомологичными сыворотками диагностическими менингококковыми серогрупп А, В, С неадсорбированными кроличьими сухими в разведении не ниже чем 1:320 (для диагностикумов групп А, С) и не ниже чем 1:80 (для диагностикума группы В)
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 0,05 мл гомологичной сыворотки диагностической менингококковой серогрупп А, В, С неадсорбированной кроличьей сухой 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 сывороток в разведении 1:10: в 2 лунки внести по 0,05 мл гомологичной сыворотки диагностической менингококковой серогрупп А, В, С неадсорбированной кроличьей сухой и в 2 лунки внести по 0,05 мл каждой анализируемой сыворотки	В лунках с сыворотками не должно быть хлопьев и осадка

По окончании постановки реакции планшет осторожно встряхнуть и поместить в термостат при температуре  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$  на 2 ч.

## 8. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

### 8.1. Учет результатов реакции проводят по четырехкrestной системе:

(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.

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

### 8.2. Интерпретация результатов

В образцах сыворотки крови здоровых людей антитела к антигенам менингококков серогрупп А, В, С обнаруживаются в невысоких титрах, поэтому при исследовании сыворотки лиц с предполагаемым диагнозом менингококковой инфекции (МИ), условно диагностическим титром следует считать разведение сыворотки 1:80 и выше с эритроцитарным А диагностикумом (т.е. для МИ серогруппы А); разведение 1:20 и выше с эритроцитарными диагностикумами серогрупп В, С (для МИ серогрупп В, С). При исследовании сыворотки детей до 5 лет условно диагностическими титрами следует считать разведение в два раза меньше указанных выше. Важным диагностическим признаком МИ является положительная сероконверсия выявляемых в РПГА антител соответствующих серогрупп. Нарастание титров антител в четыре и более раз в пределах от первого – второго до седьмого-десятого дня появления клинических признаков болезни следует считать диагностическим признаком МИ.

Анализируемые сыворотки проверяют в РПГА, используя параллельно диагностикумы всех групп (А, В, С). Как правило, антитела в диагностическом титре обнаруживают в сыворотке крови только с одним из диагностикумов. В единичных случаях встречаются сыворотки, в которых антитела в высоких титрах обнаруживают в реакции с несколькими антигенами. В таких случаях вопрос о возможной серогруппе возбудителя, вызвавшего заболевание у данного больного, решается по наиболее высокому уровню антител, полученному с тем или другим препаратом. При этом разница показателей должна быть не меньше, чем на два разведения. При получении одинаковых результатов с несколькими диагностикумами значительную помощь оказывают исследования сыворотки в динамике.

## 9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

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

Срок годности 18 месяцев.

9.2. После вскрытия флаконы с гомологичной сывороткой диагностической менингококковой серогрупп А, В, С неадсорбированной кроличьей сухой в разведении 1:10, диагностикумом и с 1% взвесью формализированных, несенсибилизированных эритроцитов барана в закрытом виде можно хранить при температуре от 2 до 8 $^\circ\text{C}$  в течение одного месяца.

9.3. До проведения анализа возможно хранение анализируемых образцов сыворотки крови при температуре минус 20 $^\circ\text{C}$  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 «Диагностикумы эритроцитарные менингококковые полисахаридные групп А, В, С, жидкие» 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.