

ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов
«Диагностикумы эритроцитарные шигеллезные Флекснера 1-5 и Зонне антигенные, жидкие»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов предназначен для выявления специфических антител к различным видам шигелл в сыворотке крови человека в реакции пассивной геммагглютинации (РПГА).

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Действующим началом диагностикумов являются специфические антигены шигелл, фиксированные на поверхности эритроцитов. При взаимодействии с сыворотками, содержащими антитела к шигеллам, наблюдается феномен агглютинации эритроцитов.

2.2. Состав набора

Реагенты	Количество
Диагностикум эритроцитарный шигеллезный Флекснера 1-5 получен путем сенсibilизации эритроцитов смесью антигенов шигелл Флекснера-подтипов 1а, 1в, 2а, 3а, 4в и 5 или Диагностикум эритроцитарный шигеллезный Зонне получен путем сенсibilизации эритроцитов моноантигенами из шигелл Зонне. Представляют собой 1% взвесь формализированных эритроцитов барана сенсibilизированных липополисахаридными антигенами из шигелл 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 - 5 мл
Сыворотки диагностические шигеллезные (Флекснера 1-5 или Зонне) неадсорбированные сухие - гомогенная масса от белого с коричневатым оттенком до бежевого цвета	1 флакон - из 0,1 мл
1% взвесь формализированных, несенсibilизированных 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	1 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Диагностикумы должны агглютинироваться сыворотками диагностическими шигеллезными (Флекснера 1-5 или Зонне) неадсорбированными сухими в РПГА в разведении не ниже, чем 1:6400.

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 сыворотка диагностическая шигеллезная (Флекснера 1-5 или Зонне) неадсорбированная 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 воспроизводимости 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. Приготовление рабочего раствора сыворотки диагностической шигеллезной (Флекснера 1-5 или Зонне) неадсорбированной сухой: вскрыть флакон и растворить сыворотку 0,1 мл 0,9% раствора натрия хлорида и, после полного растворения, внести еще 0,9 мл 0,9% раствора натрия хлорида, получив, таким образом разведение 1:10.

Разведение 1:100, являющееся рабочим разведением, для сыворотки диагностической шигеллезной (Флекснера 1-5 или Зонне) неадсорбированной сухой готовить в первой лунке прилагаемого планшета:

в первую лунку первого ряда планшета внести 0,09 мл 0,9% раствора натрия хлорида и 0,01 мл сыворотки диагностической шигеллезной (Флекснера 1-5 или Зонне) неадсорбированной сухой.

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

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.

Растритовать 1 ряд сыворотки диагностической шигеллезной (Флекснера 1-5 или Зонне) неадсорбированной сухой, начиная с первой лунки (1:100), перенося из лунки в лунку при перемешивании по 0,05 мл до титра, указанного на этикетке флакона сыворотки, 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 растритовать 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 2 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 сывороткой диагностической шигеллезной (Флекснера 1-5 или Зонне) неадсорбированной сухой	Диагностикумы должны агглютинироваться сыворотками диагностическими шигеллезными (Флекснера 1-5 или Зонне) неадсорбированными сухими в РПГА в разведении не ниже, чем 1: 6400
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 - для чего в 2 лунки планшета внести по 0,05 мл сыворотки диагностической шигеллезной (Флекснера 1-5 или Зонне) неадсорбированной 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 всех сывороток для чего каждую из сывороток, включая анализируемые, внести в 2 лунки по 0,05 мл в том разведении, из которого они растритовывались	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 реакции проводится 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

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

9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

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

Срок годности 18 месяцев.

9.2. После вскрытия флаконы с сывороткой диагностической шигеллезной (Флекснера 1-5 или Зонне) неадсорбированной сухой в разведении 1:10, с диагностикумом и с 1% взвесью формализированных, несенсибилизированных эритроцитов барана в закрытом виде можно хранить при температуре от 2 до 8°C в течение одного месяца.

9.3. До проведения анализа возможно хранение анализируемых образцов сыворотки крови при температуре минус 20°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 шигеллезные Флекснера 1-5 и Зоне антигенные, 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.