

отрицательная (-). В противном случае следует повторить исследование. Если при повторной постановке появляется гемагглютинация, то препарат не используется.

Сыворотки с отрицательным результатом следует считать не содержащими антител к Vi-антигену в диагностическом титре 1:20 и ниже.

Сыворотки, дающие положительный результат в разведении 1:40 и выше, следует исследовать повторно в варианте с титрованием сыворотки для установления ее титра.

Результаты можно считать достоверными только в том случае, если титр прилагаемой контрольной сыворотки (K+) соответствует титру, указанному на этикетке.

8.2. Учет результатов при титровании сывороток крови

Титром сыворотки считается ее разведение, дающее агглютинацию не менее, чем на 3 (+++) креста.

Контролем качества диагностикума служат лунки ряда для контроля СЭД. В этих лунках не должно быть спонтанной агглютинации – реакция отрицательная (-). В противном случае следует повторить исследование. Если при повторной постановке появляется агглютинация, то препарат не используется.

Лица, у которых обнаружены антитела к Vi-антигену в титре 1:40 и выше, рассматриваются как подозрительные на хроническое носительство возбудителя брюшного тифа. Для окончательной постановки диагноза необходимо углубленное бактериологическое обследование этих лиц.

Результаты можно считать достоверными только в том случае, если титр прилагаемой контрольной сыворотки (K+) соответствует титру, указанному на этикетке.

9. УТИЛИЗАЦИЯ

Утилизация отходов после использования набора реагентов осуществляется в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790–10 («Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами»).

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

Набор СЭД–Vi в упаковке предприятия-изготовителя следует хранить при температуре 2–8°C в течение всего срока годности.

Срок годности набора – 1 год. По истечению срока годности набор реагентов использованию не подлежит.

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

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться в ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, 197101, Россия, Санкт-Петербург, улица Мира, дом 14.

Телефон (812) 233-20-92, факс (812) 232-92-17.

E-mail: pasteur@pasteurorg.ru; www.pasteurorg.ru

Федеральное бюджетное учреждение науки
**САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ им. ПАСТЕРА**
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
(ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера)
197101, Россия, Санкт-Петербург, улица Мира, дом 14. Телефон (812) 233-20-92, факс (812) 644-63-10
E-mail: pasteur@pasteurorg.ru; www.pasteurorg.ru
ОКПО 01967164, ОГРН 001037828006314; ИНН/КПП 7813047047/781301001

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Набора реагентов

**Диагностикум эритроцитарный сальмонеллезный Vi-антигенный
для РПГА (СЭД-Vi) по ТУ 9398-017-01967164-2014**

Регистрационное удостоверение № РЗН 2016/3905 от 04.04.2016 г.

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов Диагностикум эритроцитарный сальмонеллезный Vi-антигенный для РПГА (СЭД-Vi) предназначен для выявления антител к Vi-антигену возбудителя брюшного тифа в сыворотках крови людей в реакции пассивной гемагглютинации (РПГА). Набор рассчитан на исследование 42 сывороток крови в варианте скрининга или 10 сывороток крови в варианте их титрования.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

При наличии антител к возбудителю брюшного тифа наблюдается агглютинация сенсibilизированных Vi-антигеном куриных эритроцитов, что приводит к образованию на дне U-образных лунок планшета «зонтика» из осевших эритроцитов. При отсутствии антител к возбудителю брюшного тифа эритроциты оседают, образуя «точку».

2.2. СОСТАВ НАБОРА

Наименование реагента	Описание	Количество в наборе
Диагностикум эритроцитарный сальмонеллезный Vi-антигенный, сухой 6 % (СЭД)	Акролеинизированные куриные эритроциты, сенсibilизированные Vi-антигеном S.typhi. Сухая гигроскопичная масса от светло-коричневого до коричневого цвета. После растворения — суспензия красно-коричневого цвета	1 фл., из 0,6 мл
Сыворотка диагностическая сальмонеллезная адсорбированная к рецептору Vi, сухая (в разведении 1:20, (K+))	Кроличья сыворотка сальмонеллезная адсорбированная, рецептор Vi, в разведении 1:20. Пористая однородная масса белого цвета, гигроскопична. После растворения – прозрачная, слегка опалесцирующая бесцветная или светло-желтая жидкость без хлопьев и осадка.	1 фл., из 0,3 мл
Разбавитель исследуемых проб (РИП)	Прозрачная жидкость сине-фиолетового цвета	1 фл., 10 мл
Фосфатный буферный раствор (ФБР)	Прозрачная бесцветная жидкость.	1 фл., 10 мл
Планшет полимерный для иммунологических реакций однократного	Планшет полимерный для иммунологических реакций однократного применения из прозрачного бесцветного полистирола.	1 шт.

применения		
------------	--	--

3. ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диагностикум должен агглютинироваться в РПГА сывороткой диагностической сальмонеллезной адсорбированной к рецептору Vi, сухой (в разведении 1:20), до титра, указанного на этикетке сыворотки.

Условным уровнем диагностической характеристики сыворотки крови здоровых людей следует считать разведение сыворотки не выше 1:20.

Время проведения анализа – 30–40 минут.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор предназначен только для in vitro диагностики. Входящие в компоненты набора вещества инактивированы и безопасны. При работе с набором следует соблюдать СП 1.3.2322-08 и СанПиН 2.1.7.2790-10.

5. ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Оборудование, материалы, растворы:

- дозаторы пипеточные 1-канальные с варьируемым объемом дозирования 5-40 мкл; 40-200 мкл; 200-1000 мкл и 1000-5000 мкл;
- дозаторы пипеточные 8- или 12-канальные с варьируемым объемом дозирования 5-40 мкл и 40-200 мкл;
- вода дистиллированная (ГОСТ 6709-72);
- растворы для обеззараживания;
- резиновые перчатки;
- контейнер для слива обеззараженных исследуемых сывороток и реагентов;
- контейнер для твердых отходов.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Исследуемые образцы сыворотки крови хранят при температуре от 2 до 8°C не более 3 суток от момента взятия крови. Допускается хранение сыворотки в замороженном состоянии при температуре не выше минус 18 °C не более 1 года. Перед использованием образцы размораживают при температуре от 16 до 25 °C и перемешивают встряхиванием. Повторное замораживание не допускается. Нельзя использовать образцы с бактериальным проростом и гемолизом. Перед постановкой реакции испытуемые сыворотки прогревают при 56 °C в течение 60 минут.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Подготовка контрольной диагностической сыворотки (K+)

Готовят рабочий раствор сыворотки диагностической сальмонеллезной адсорбированной к рецептору Vi, сухой (K+). Для получения рабочего разведения сыворотки 1:20 к содержимому флакона с K+ добавляют **0,3 мл** фосфатного буферного раствора (ФБР), и выдерживают при температуре от 16 до 25 °C в течение 1 мин. Оставшееся количество сыворотки можно аликвотировать и хранить в замороженном состоянии при температуре не выше минус 18° C не более 6 месяцев.

7.2. Подготовка диагностикума эритроцитарного сальмонеллезного (СЭД)

Для приготовления рабочего разведения суспензии диагностикума эритроцитарного сальмонеллезного к содержимому флакона с сухим 6% СЭД добавляют **0,6 мл** дистиллированной воды и оставляют для гидратации на 2 час при температуре от 16 до 25 °C. Для получения рабочего разведения СЭД к раствору добавляют **2,4 мл** фосфатного буферного раствора (ФБР). Рабочий раствор хранят при температуре от 2 до 8°C не более 1 мес. Замораживание не допускается.

7.3. Постановка РПГА при скрининге сывороток крови

Сыворотки крови для скринингового исследования разводят в лунках планшета следующим образом:

- предварительные разведения 1:20 готовят в первых лунках длинного ряда планшета,

внося в них сначала 190 мкл раствора РИП, затем – по 10 мкл исследуемых сывороток. Каждую сыворотку вносят отдельно наконечником и тщательно пипетируют (при этом цвет раствора в лунках после добавления сывороток должен измениться с сине-фиолетового на зеленый);

- скрининговые разведения 1:40 готовят во вторых лунках длинного ряда планшета, внося в них сначала по 25 мкл раствора ФБР, а затем – по 25 мкл предварительно разведенных сывороток и тщательно пипетируют.

При каждой постановке РПГА необходимо проводить контрольное определение титра K+. Для этого в 8 лунок длинного ряда вносят по 50 мкл раствора ФБР. Затем в первую лунку вносят 50 мкл рабочего раствора K+ (1:20), тщательно пипетируют и переносят в следующие лунки по 50 мкл, получая 2-кратные разведения от 1:40 до 1:5120. Еще в 4 лунки вносят по 50 мкл раствора ФБР для контроля СЭД на отсутствие спонтанной агглютинации.

Во все лунки планшета со скрининговыми разведениями исследуемых сывороток (кроме первых, содержащих РИП) и контролями вносят по 25 мкл рабочего разведения СЭД. **Суспензию СЭД во флаконе или ванночке перед использованием перемешать!** Планшет тщательно встряхивают и оставляют при температуре от 16 до 25°C на 30-40 минут до полного оседания эритроцитов в контроле.

7.4. Постановка РПГА при титровании исследуемых сывороток крови

Титрование исследуемых сывороток и рабочего раствора K+ проводят в коротких рядах планшета. Еще один короткий ряд используют для контроля на отсутствие спонтанной агглютинации СЭД.

В первые лунки коротких рядов для титрования исследуемой сыворотки вносят 180 мкл раствора РИП. Во все остальные лунки вносят по 50 мкл раствора ФБР.

В лунки с раствором РИП вносят 20 мкл исследуемых сывороток (получают разведение 1:10). Каждую сыворотку вносят своим наконечником и тщательно пипетируют (цвет раствора в лунках должен измениться с сине-фиолетового на зеленый). Затем из первых лунок переносят по 50 мкл в следующие лунки рядов, получая двукратные разведения от 1:20 до 1:1280. В конце титрования из последних лунок растворы в объеме 50 мкл удаляют.

При каждой постановке РПГА необходимо проводить контрольное определение титра K+. Для этого в 8 лунок короткого ряда вносят по 50 мкл раствора ФБР. Затем в первую лунку вносят 50 мкл рабочего раствора K+ (1:20), тщательно пипетируют и переносят в следующие лунки по 50 мкл, получая 2-кратные разведения от 1:40 до 1:5120.

Для контроля диагностикума на отсутствие спонтанной агглютинации во все лунки короткого ряда вносят по 50 мкл раствора ФБР.

Во все лунки (кроме первых лунок каждого ряда для исследуемых сывороток, содержащих РИП) вносят по 25 мкл рабочего разведения СЭД. **Суспензию СЭД во флаконе или ванночке перед использованием перемешать!** Планшет тщательно встряхивают и оставляют при температуре от 16 до 25°C на 30-40 минут до полного оседания эритроцитов в контроле.

8. УЧЕТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

8.1. Учет результатов при скрининге сывороток крови

Учет результатов проводят по условной шкале четырех крестов: Титром сыворотки считается ее разведение, дающее гемагглютинацию не менее чем на 3 (+++) креста.

++++ (4+) – агглютинированные эритроциты образуют на дне лунки перевернутый "зонтик", края его опадают;

+++ (3+) – агглютинированные эритроциты образуют на дне лунки перевернутый "зонтик", края его ровные;

++ (2+) – наряду с агглютинированными эритроцитами на дне лунки имеется осадок в виде небольшого «кольца» из неагглютинированных эритроцитов;

+ (1+) – большинство эритроцитов не агглютинировано и оседает в виде небольшого «кольца»;

(–) – неагглютинированные эритроциты образуют на дне лунки «точку».

Титром сыворотки считают ее последнее разведение, дающее агглютинацию не менее чем на 3 (+++) креста.

Контролем качества диагностикума служат 4 лунки контрольного ряда, в которые вносили только раствор ФБР и СЭД. В этих лунках не должно быть спонтанной гемагглютинации – реакция