УТВЕРЖДЕНА
Приказом Росздравнадзора
от «12» октября 2007 г.
№ 3167 – Пр/07

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
БЕРЛЕЗ® диагностикума эритроцитарного псевдотуберкулезного антигенного для РНГА, лиофилизата для диагиостических целей

БЕРЛЕЗ Диагностикум эритроцитарный псевдотуберкулезный антигенный для РНГА, лиофилизат для диагностических целей представляет собой лиофилизированную из объема 1 мл 10% взвесь формалинизированных эритроцитов, сенсибилизированных специфическим полисахаридным антигеном, выделенным из псевдотуберкулезных бактерий сероварианта 1.

Стабилизатор: сахароза - 5%, натрия тетраборат - 1% янтарная кислота - 0.3%, мясо-пептонный бульон -30%.

Выпускается комплекте с эритроцитами барана несенсибилизированными формалинизированными сухими для оценки специфичности реакций с исследуемыми сыворотками и сывороткой псевдотуберкулезной неадсорбированной кроличьей сухой для РНГА для контроля активности диагностикума.

Описание. Диагностикум и несенсибилизированные эритроциты имеют вид аморфной массы коричневого цвета, после растворения - гомогенная взвесь коричневого цвета.

Сыворотка - аморфная масса белого или слегка желтоватого цвета, после растворения - бесцветная прозрачная или с легкой опалесценцией жидкость.

Назначение. Выявление специфических антител с помощью реакции непрямой гемагглютинации в сыворотке крови людей и животных, больных и переболевших псевдотуберкулезом.

Биологические свойства. Агглютинация эритроцитов происходит в результате взаимодействия специфических антител исследуемой сыворотки и антигенов, иммобилизованных на поверхности эритроцитов.

Способ применения. Постановку реакции макро- и микрометодами проводят в строго разграниченных по типам диагностикума полистироловых пластинах.

Для проведения РНГА макрометодом используют полистироловые пластины с лунками вместимостью 2,0 мл. РНГА микрометодом проводят в "V" - образных лунках микротитратора типа "Такачи" или в одноразовых планшетах производства АО "Медполимер" с "U"-образными лунками. Перед постановкой реакции макрометодом каждую лунку полистироловой пластины протирают 70 этиловым спиртом, затем промывают 5-6 раз очищенной водой, протирают каждую лунку насухо. Это делают при обработке пластины после учета реакции.

Пластины микротитратора "Такачи" для постановки микрометодом обрабатывают аналогичным образом.

При постановке РНГА содержимое ампулы с диагностикумом и эритроцитами барана разводят в 10 мл 0,9% раствора натрия хлорида для получения 1% взвеси. Содержимое ампулы с сывороткой псевдотуберкулезной (1:5) разводят 5 мл 0,9% раствора натрия хлорида, получая разведение 1:25. Препараты разводят с соблюдением правил асептики. Разведенные диагностикум, эритроциты и сыворотка при температуре $(10\pm2)^0$С могут храниться в течение 7 сут.

Методика постановки РНГА в полистироловых пластинах макрометодом.

В 10 лунок ряда вносят по 0,5 мл 0,9% раствора хлорида натрия. Затем в 1-ую лунку ряда вносят 0,5 мл исследуемой сыворотки, разведенной 1:25 и делают двукратные разведения от 1:50 до 1:6400 путем переноса лунки в лунку 0,5 мл и перемешивая их содержимое не менее 3 - 4 раз. После этого в каждую лунку добавляют по 0,2 мл 1% взвеси диагностикума.

Одновременно на той пластине в свободных лунках проводят контроль:

1) диагностикума - 0,5 мл 0,9% раствора хлорида натрия и 0,2 мл 1% взвеси диагностикума.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

2) исследуемой сыворотки - 0,5 мл исследуемой сыворотки в разведении 1:50 и 0.2 мл 1% взвеси контрольных эритроцитов.

3) контрольной сыворотки - 0,5 мл сыворотки псевдотуберкулезной в разведениях от 1:50 до титра, указанного на ампуле, и 0,2 мл 1% взвеси диагностикума.

Пластины слегка встряхивают, держа двумя руками в горизонтальном положении и оставляют при температуре (37±1)^{0}С на 1,5-2 ч, затем при температуре (20±2)^{0}С на 14-18 ч, после чего учитывают реакцию.

Учет реакции проводят по четырехкрестковой системе:

4+ - все эритроциты агглютинированы и равномерно покрывают дно лунки;

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 из неагглютинированных эритроцитов в виде маленького колечка или "пуговки";

1+ - большинство эритроцитов не агглютинировано и осело в виде маленького колечка с неровными краями в центре дна лунки;

- - признаков агглютинации нет.

Диагностическим титром антител испытуемой сыворотки считают последнее ее разведение, которое дает четкую агглютинацию эритроцитов и может быть оценено не менее, чем 3+.

Реакцию РНГА с испытуемыми сыворотками считают положительной, если контрольной сывороткой в разведении, равном титру, указанному на ампуле, наблюдается положительная реакция, а в контрольных лунках с испытуемой сывороткой и несенсибилизированными эритроцитами - реакция отрицательная.

Методика постановки РНГА микрометодом.

Начиная с первой лунки пипеткой - капельницей вносят по 2 капли (0,05 мл) 0,9% раствора натрия хлорида. В первую лунку вносят 0,05 мл исследуемой сыворотки, предварительно разведенной 1:25 0,9% раствором натрия хлорида и путем последовательных перемешиваний и переносов платиновой петлей вместимостью 0,05мл делают двукратные разведения сыворотки от 1:50 до 1:6400. Затем во все 8 лунок вносят по 2 капли (0,05 мл) 1% взвеси диагностикума.

Одновременно проводят контроли диагностикума и сывороток аналогично как описано для макрометода, в обьеме 0,05 мл.

Пластины встряхивают и оставляют при температуре (37±1) ^{0}С на 1,5 - 2 ч, производят предварительный учет реакции, выдерживают планшеты дополнительно при температуре (20±2) ^{0}С в течение 14 - 18 ч, после чего производят окончательный учет реакции, по четырехкрестовой схеме, как при оценке макрометодом.

В случае положительной реакции испытуемой сыворотки с несенсибилизированными эритроцитами результат реакции учету не подлежит. В случае получения сомнительных результатов реакцию необходимо повторить.

Рекомендуется исследовать парные сыворотки крови в динамике заболевания. Первую сыворотку следует брать в начале болезни, вторую - спустя 7 - 10 суток. Наиболее достоверным серологическим показателем является 4-кратный (и более интенсивный) прирост титра антител. При отсутствии выраженной динамики титров, а также при необходимости оценки одиночных результатов следует учитывать эпидобстановку, форму и сроки болезни. При этом рекомендуется использовать минимальный условно-диагностический титр для РНГА при псевдотуберкулезе. При проведении реакции макрометодом он равен 1:200, для микрометода - 1:100.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Диагностическая значимость одиночных результатов может быть оценена по шкале:

Критерий оценки результатов	Титры антител в РНГА	
	микрометод	макрометод
Сомнительный Слабоположительный Положительный Резкоположительный	1:50 1:100 1:200 – 1:400 1:800 и выше	1:100 1:200 1:400 – 1:800 1:1600 и выше

При групповых вспышках псевдотуберкулеза для детей до 5 лет условно - диагностический титр может снижен на одно разведение (для макрометода - 1:100, для микрометода 1:50).

Форма выпуска. Лиофилизат в ампулах. Комплект состоит из 3 ампул 10% взвеси диагностикума эритроцитарного псевдотуберкулезного антигенного сухого, 1 ампулы сыворотки псевдотуберкулезной неадсорбированной кроличьей сухой для РНГА в разведении 1:5, 1 ампулы 10 % взвеси эритроцитов барана несенсибилиированных формалинизированных сухих в контурной ячейковой упаковке или 6 ампул диагностикума, 2 ампул сыворотки псевдотуберкулезной, 2 ампул несенсибилиированных эритроцитов барана в коробке или пачке из картона вместе с инструкцией по применению и скарификатором ампульным. При упаковке ампул с насечками, кольцами и точками излома скарификаторы ампульные не вкладывают.

Срок годности. Условия хранения и транспортирования. 2 года, сыворотки - 3 года. Хранят препарат в соответствии с СП 3.3.2.1248-03 при температуре от 2 до 8°С. Препараты с истекшим сроком годности применению не подлежат.

Транспортировать в соответствии с СП 3.3.2.1248-03 при температуре от 2 до 8 °С.

Условия отпуска. Для лечебно-профилактических и санитарно-профилактических учреждений.

Рекламации направлять в адрес предприятия изготовителя: Федеральное государственное унитарное предприятие «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт вакцин и сывороток и предприятие по производству бактерийных препаратов» Федерального медико-биологического агентства (198320, Санкт-Петербург, г Красное Село, ул. Свободы, д 52, тел.: (812) 741-10-58, факс: (812) 741-28-95, www.spbniivs.ru).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru