УТВЕРЖДЕНА
Приказом Росздравнадзора от
«12» октября 2007 г.
№ 3168-Пр/07

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
диагностикумов эритроцитарных кишечноиерсиниозных антигенных, лиофилизата для диагностических целей

Диагностикумы эритроцитарные кишечноиерсиниозные О3 и О9 антигенные, лиофилизат для диагностических целей, представляют собой лиофилизированную из объема 1,0 мл 10 % взвесь формалинизированных эритроцитов барана, сенсибилизированных одним из специфических полисахаридных антигенов, выделенных из кишечноиерсиниозных бактерий сероваров О3 и О9.

Выпускаются в комплекте с эритроцитами барана несенсибилизированными формалинизированными сухими для оценки специфичности реакций с исследуемыми сыворотками и сывороткой кишечноиерсиниозной О3 или О9 сероваров неадсорбированной кроличьей сухой для контроля активности диагностикума.

Описание. Диагностикумы и несенсибилизированные эритроциты представляют собой аморфную массу коричневого цвета, после растворения - гомогенную взвесь коричневого цвета.

Сыворотка – аморфная масса белого или светло-желтого цвета, после растворения - бесцветная прозрачная или с легкой опалесценцией жидкость.

Назначение препарата. Выявление в сыворотке крови больных и переболевших кишечным иерсиниозом людей и животных специфических антител и определение их принадлежности к О3 и О9 сероварам в РНГА.

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^{o} 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 кишечноиерсиниозной О3 и О9 (1:5) растворяют в 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±2) ^{o}С могут храниться в течении 7 суток.

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 из 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 исследуемой сыворотки в разведении 1:50 и 0,2 мл 1% взвеси контрольных эритроцитов;

3) контрольной сыворотки – 0,5 мл сыворотки кишечноиерсиниозной О3 и О9 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) ^{o}C на 1,5 - 2 ч, затем при температуре (20±2) ^{o}C на 14 - 18 ч, после чего учитывают реакцию.

Учет реакции проводят по 4-х крестной 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 с контрольной сывороткой в разведении, равному 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 0,05 мл, 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 объеме 0,05 мл.

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

Диагностическим титром антител исследуемой сыворотки считают последнее ее разведение, которое дает четкую агглютинацию эритроцитов и может быть оценено не менее, чем на 3+ при разведении не менее 1:200.

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

При серологической диагностике кишечного иерсиниоза рекомендуется обследовать больного не менее двух раз; первую сыворотку берут в начале заболевания, вторую – с интервалом 10-15 дней. Диагностически достоверным является 4 –кратный и более интенсивный прирост уровня антител.

В отдельных случаях (невозможность взятия парных сывороток, обследование больного в поздние сроки и т.п.) при наличии четких клинических, эпидемиологических, бактериологических и других данных допускается использование минимального условно-диагностического титра. Этот критерий при кишечном иерсиниозе для взрослых равен 1:200-1:400, для детей до 10 лет 1:100-1:200. В связи с тем, что при псевдотуберкулезе и кишечном иерсиниозе наблюдается иммунологическая общность, в сомнительных случаях рекомендуется проверять парные сыворотки параллельно с эритроцитарными кишечноиерсиниозными (03 и 09) и псевдотуберкулезным диагностикумами.

Низкие титры специфических антител (1:50-1:100) могут отмечаться после кратковременного инфицирования, в частности, при кишечном иерсиниозе, протекающему по типу острой пищевой токсиноинфекции. При положительной реакции исследуемой сыворотки с диагностикумом 09 и

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

сомнительной клинической картине кишечного иерсиниоза (отсутствие симптомов расстройства желудочно-кишечного тракта при наличии мышечных и суставных болей и т.п.) следует проводить параллельное серологическое обследование на бруцеллез с диагностикумом бруцеллезным жидким для РА.

При артралгических формах инфекции целесообразно проводить серологическое обследование крови больных с ДИАРЕФ® диагностикумом для обнаружения ревматоидного фактора – для исключения ревматоидного артрита.

Форма выпуска. Комплект состоит из 3 ампул 10% взвеси диагностикума, 1 ампулы гомологичной сыворотки кишечноиерсиниозной неадсорбированной кроличьей сухой в разведении 1:5 сероварианта 03 или 09, 1 ампулы 10% взвеси эритроцитов барана несенсибилизированных формалинизированных сухих в контурной ячейковой упаковке или 6 ампул диагностикума, 2 ампул гомологичной сыворотки кишечноиерсиниозной неадсорбированной кроличьей сухой, 2 ампул эритроцитов барана несенсибилизированных формалинизированных сухих в коробку или пачку 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.

Хранить в соответствии с СП 3.3.2.1248-03 при температуре от 2 до 8 ^{o}C. Транспортирование в соответствии с СП 3.3.2.1248-03 при температуре от 2 до 8 ^{o}C.

Препараты с истекшим сроком годности применению не подлежат.

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

Рекламации направлять в адрес предприятия - изготовителя: Федеральное государстввенное унитарное предприятие «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт вакцин и сывороток и предприятие по производству бактерийных препаратов» Федерального медико-биологического агентсва (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