

Утверждена
Приказом Росздравнадзора
от _____ 20 ____ г. № _____



Директор ФКУЗ Ставропольский
противочумный институт
Роспотребнадзора
А.Н. Куличенко
_____ 2013 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ СЫВОРОТКИ ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ БРУЦЕЛЛЕЗНЫЕ МОНОСПЕЦИФИЧЕСКИЕ АДсорбированные *ANTI-ABORTUS* И *ANTI-MELITENSIS*, ЖИДКИЕ

1 НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов сыворотки диагностические бруцеллезные моноспецифические адсорбированные *anti-abortionus* и *anti-melitensis*, жидкие (далее – набор) предназначен для межвидовой дифференциации штаммов возбудителя бруцеллеза.

2 ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Набор включает две сыворотки *anti-abortionus* и *anti-melitensis*, полученные из крови кроликов, иммунизированных живой культурой штамма *B. abortus* 544 (получение сыворотки *anti-abortionus*) и живой культурой штамма *B. melitensis* 548 (получение сыворотки *anti-melitensis*) и адсорбированные живой культурой штаммов *B. melitensis* 548 (*anti-abortionus*) и *B. abortus* 544 (*anti-melitensis*).

Титр сывороток – не менее 1:80.

Сыворотки представляют собой полупрозрачную, слегка опалесцирующую жидкость, от соломенного до светло-коричневого цвета, разлиты по 1 мл в ампулы ШПВ-6 по ОСТ 64-2-485-85.

2.1 Принцип действия

Сыворотки диагностические бруцеллезные моноспецифические адсорбированные *anti-abortionus* и *anti-melitensis* содержат специфические антитела против антигенов бруцелл (сыворотка *anti-abortionus* – А-антигенов, *anti-melitensis* – М-антигенов), которые обуславливают при взаимодействии с бруцеллезным микробом специфическую реакцию агглютинации (РА).

2.2 Состав набора

В комплект поставки входят набор, инструкция по применению, паспорт.

В состав набора входят следующие компоненты:

Сыворотка <i>anti-abortionus</i>	5 ампул
Сыворотка <i>anti-melitensis</i>	5 ампул
Скарификатор дисковый ампульный керамический СДАК 19-01	1 шт.

3 АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

На основании результатов реакции агглютинации за счет специфичности действия сывороток, которая проявляется в способности сыворотки *anti-abortionus* агглютинировать культуры *B. abortus* в S-форме в пробирочной РА в титре не менее 1:80 (на 3 – 4 креста) и не агглютинировать штаммы *B. melitensis* в рабочем разведении и способности сыворотки *anti-melitensis* агглютинировать культуру *B. melitensis* в S-форме в пробирочной РА в титре не менее 1:80 (на 3 – 4 креста) и не агглютинировать штаммы *B. abortus* в рабочем разведении, в комплексе с другими дифференциальными тестами, регламентированными МУ 3.1.7.1189-03 «Профилактика и лабораторная диагностика бруцеллеза людей», проводят определение вида и биовара возбудителя бруцеллеза.

4 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1 Потенциальный риск применения набора класс 3 (ГОСТ Р 51609-2000).

4.2 Набор безопасен для персонала, допущенного в установленном порядке к его эксплуатации, а так же для окружающей среды.

4.3 При работе с набором следует соблюдать СП 1.3.1285-03 «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)».

4.4 Утилизация компонентов набора с истекшим сроком годности не требует специальных мер безопасности. Удаляют неиспользованные сыворотки в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

Ампулы с сыворотками вскрывают, жидкую часть сливают в канализацию, твердые отходы сбрасывают в контейнеры для сбора отходов. Большое количество ампул разрушают механически (помещают в мешок, смоченный водой, и разбивают). После этого жидкую часть сливают в канализацию, твердую – сбрасывают в контейнеры для сбора отходов.

5 ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

При исследовании используют:

- термостат суховоздушный, поддерживающий температуру $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$;
- холодильник бытовой;
- пробирки стеклянные (ГОСТ 1770-74);
- пипетки стеклянные вместимостью 1, 2, 10 см³ (ГОСТ 29227-91);
- отраслевой стандартный образец мутности 10 единиц (ОСО 42-28-85 соответствующего года выпуска) ФГБУ «НЦ ЭСМП» Минздрава России;
- агар Альбими (эритрит-агар) pH $7,2 \pm 0,1$;
- 0,9 % раствор натрия хлорида, pH $7,0 \pm 0,1$;
- перчатки резиновые (ГОСТ 3-88);
- эталонные штаммы бруцелл (*B. melitensis* 16 М, *B. abortus* 544).

6 АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Культуры возбудителя бруцеллеза, выделенные из клинического материала, объектов внешней среды.

7 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

При исследовании образцов руководствуются требованиями, изложенными в МУ 3.1.7.1189-03 «Профилактика и лабораторная диагностика бруцеллеза людей».

7.1 Подготовка культуры для анализа

Выделенную культуру возбудителя бруцеллеза рассеивают на скошенный в пробирке агар (возможен посев секторами на чашку Петри) с одной из сред: агар Альбими (pH $7,2 \pm 0,1$), эритрит-агар (pH $7,2 \pm 0,1$), инкубируют при температуре $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ в течение 48 ч. Через 48 ч. инкубации готовят взвесь агаровой культуры исследуемого штамма бруцелл в 0,9 % растворе натрия хлорида до конечной концентрации $1,7 \times 10^9$ микробных клеток (м.к.)/мл. Концентрацию бруцеллезного микроба определяют по отраслевому стандартному образцу (ОСО 42-28-85 соответствующего года выпуска) ФГБУ «НЦ ЭСМП» Минздрава России 10 единиц (эквивалентен $1,7 \times 10^9$ м.к./мл *Brucella*). Таким же образом готовят взвеси культур эталонных штаммов *B. melitensis* 16 М и *B. abortus* 544.

7.2 Подготовка набора реагентов

Ампулы с сыворотками вскрывают, асептически переносят содержимое каждой из ампул в стеклянные пробирки. Сыворотки разводят 0,9 % раствором натрия хлорида с таким расчетом, чтобы получить ряд последовательных двукратных разведений, начиная с 1:10 до диагностического титра сыворотки, указанного на этикетке ампулы.

7.3 Постановка реакции агглютинации

К 0,5 мл каждого разведения сыворотки добавляют по 0,5 мл взвеси исследуемой культуры. Таким образом разведение удваивается; одновременно проводят контрольные реакции:

- контроль с эталонным штаммом вида *B. melitensis* 16 М: готовят ряд разведений сыворотки, как описано ранее, и во все пробирки вносят по 0,5 мл взвеси культуры эталонного штамма *B. melitensis* 16 М;
- контроль с эталонным штаммом вида *B. abortus* 544: готовят ряд разведений сыворотки как описано ранее и во все пробирки вносят по 0,5 мл взвеси культуры эталонного штамма *B. abortus* 544;
- контроль антигена (0,5 мл взвеси культуры + 0,5 мл 0,9 % раствора натрия хлорида);
- контроль сыворотки (0,5 мл сыворотки в разведении 1:10 + 0,5 мл 0,9 % раствора натрия хлорида).

Штативы с пробирками встряхивают и помещают в термостат при температуре $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ на (22 – 24) ч.

8 РЕГИСТРАЦИЯ И УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет производят визуально по следующей схеме:

- четыре креста – полное просветление жидкости с крупно- или мелкозернистой агглютинацией,
- три креста – почти полное просветление жидкости с заметными хлопьями,
- два креста – незначительное просветление жидкости с заметными хлопьями агглютинации,
- один крест – мутная жидкость с едва заметной зернистостью,
- отрицательный результат – равномерная мутность жидкости.

Реакция считается положительной при агглютинации не менее чем на три креста.

На основании результата реакции в комплексе с результатами других дифференциальных тестов проводят определение вида и биовара исследуемой культуры бруцелл в соответствии с МУ 3.1.7.1189-03 «Профилактика и лабораторная диагностика бруцеллеза людей».

9 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

9.1 Транспортирование набора должно проводиться в соответствии с СП 3.3.2.1248-03 и МУ 3.3.2.2437-09 всеми видами крытых транспортных средств с соблюдением условий и требований, установленных на данном виде транспорта, при температуре $2 \div 8 ^\circ\text{C}$. Допускается транспортирование набора при температуре до $25 ^\circ\text{C}$ не более 7 сут.

9.2 Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно проводиться при температуре $2 \div 8 ^\circ\text{C}$ в течение всего срока годности. Замораживание компонентов набора не допускается.

9.3 Срок годности набора – 2 года. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

9.4 После вскрытия компоненты набора можно использовать в течение 7 суток при условии хранения в закрытой стерильной посуде при температуре $2 \div 8 ^\circ\text{C}$.

Рекламации направлять в адрес предприятия-изготовителя – ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора (355035, г. Ставрополь, ул. Советская, 13-15, тел./факс (865-2) 26-03-12; E-mail: snipchi@mail.stv.ru)

Заместитель директора по научно-производственной работе ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора

Л.В. Ляпустина

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 3 ЛИСТ

«28» октября 20 13

Директор
ФКУЗ Ставропольский противочумный
институт Роспотребнадзора

