



УТВЕРЖДАЮ

Главный государственный
санитарный врач
Российской Федерации

Г.Г. Онищенко

"22" 04 2010 г.
№ 01-11/105-10

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

сыворотки диагностической туляремийной сухой для реакции агглютинации (РА)

Сыворотка диагностическая туляремийная сухая для реакции агглютинации (РА) представляет собой сыворотку, полученную из крови лошади, гипериммунизированной смесью трех вирулентных штаммов туляремийного микроба, инаktivированных формалином. Консервант - кислота борная. Стабилизатор - сахароза и натрий серноватистокислый.

Аморфная масса белого цвета с розоватым или желтоватым оттенком.

Титр сыворотки в пробирочной реакции агглютинации не менее 1:3200, в реакции кольцепреципитации - не менее 1:20.

НАЗНАЧЕНИЕ

Идентификация туляремийного микроба в пробирочной реакции агглютинации и обнаружение его антигенов в органах трупов диких и лабораторных животных в реакции кольцепреципитации.

СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

Постановка реакции агглютинации пробирочным методом

Сыворотку растворяют в 1 мл дистиллированной воды. После растворения прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость соломенно-желтого или розовато-желтого цвета. Ампулы, в которых при растворении препарата обнаружены хлопья, не употреблять. Сыворотку разводят 0,9 % раствором натрия хлорида pH 7,2±0,1 с таким расчетом, чтобы получить последовательные двукратные разведения, начиная с 1:50 до титра, указанного на этикетке ампулы.

После растворения препарат можно хранить при температуре от 4 до 10 °C в течение 24 ч.

Культуру туляремийных микробов выращивают на желточной среде Мак-Коя или на

Взамен Инструкции по применению, утвержденной 29.01.2007 г.

СОГЛАСОВАНО:

Директор ФГУН

ГИСК им. И.А. Тарасевича

Роспотребнадзора

И.В. Борисевич

« 07 » 2010 г.

1176
суд

питательной среде для выделения и культивирования туляремиального микроба (FT-агар), в течение 46-48 ч при температуре 37 °С. Из выросших культур готовят взвесь туляремиальных микробов в 0,9 % растворе натрия хлорида, соответствующую 10 единицам стандартного образца мутности (ОСО 42-28-85 П), соответствующего года выпуска, эквивалентные $5 \cdot 10^9$ м.к./мл.

К 0,5 мл каждого разведения сыворотки добавляют по 0,5 мл туляремиальной микробной взвеси, получают разведения сыворотки от 1:100 до удвоенного титра, указанного на этикетке ампулы.

Одновременно ставят контроли:

- контроль антигена - к 0,5 мл туляремиальной микробной взвеси добавляют 0,5 мл 0,9 % раствора натрия хлорида;
- контроль сыворотки - к 0,5 мл сыворотки в разведении 1:50 добавляют 0,5 мл 0,9 % раствора натрия хлорида;

Штативы с пробирками тщательно встряхивают, инкубируют при температуре 37 °С в течение 2 ч и выдерживают 18-20 ч при температуре 20-22 °С, после чего проводят учет результатов.

Учет результатов проводят по четырехкрестовой схеме:

- 4 креста - крупно- или мелкозернистая агглютинация при полном просветлении надосадочной жидкости;
- 3 креста - крупно- или мелкозернистая агглютинация при легкой опалесценции надосадочной жидкости;
- 2 креста - слабая агглютинация, надосадочная жидкость непрозрачная;
- 1 крест - следы агглютинации; надосадочная жидкость непрозрачная.

Реакция считается положительной при агглютинации на 2-4 креста. При наличии агглютинации в контрольных пробирках, реакцию в опытных пробирках считают неспецифической и проводят повторную постановку РА.

Испытуемая культура может быть отнесена к туляремиальному микробу, если она агглютинируется сывороткой не менее чем на два креста до титра или до 1/2 титра, указанного на пачке. Если культура агглютинируется до 1/4 - 1/8 титра сыворотки, принадлежность ее к возбудителю туляремии определяют с учетом биохимических свойств.

Постановка реакции кожно-преципитации

При исследовании трупов диких или лабораторных животных берут кусочек селезенки, печени массой от 0,5 до 1 г, растирают в ступке, добавляют 2-3 мл 0,9 % раствора натрия хлорида, размешивают до получения гомогенной суспензии и вносят пипеткой в стерильную

пробирку. Суспензию кипятят в течение 20 мин с последующим добавлением формалина до 2 % концентрации и выдерживают в течение 2 ч при комнатной температуре, после чего центрифугируют при 7000 об/мин. в течение 1 ч до получения прозрачного экстракта. Мутный экстракт для постановки реакции не пригоден.

В пробирку вместимостью 2,5 мл вносят 0,3 мл цельной туляремийной сыворотки (в случае опалесценции сыворотку следует развести натрия хлорида раствором 0,9 % 1:2 или 1:3, или 1:4, или 1:5 до прозрачности) и осторожно по стенке пробирки наслаивают пастеровской пипеткой равный объем полученного экстракта, избегая смешивания жидкостей.

Одновременно ставят контроли:

- к 0,3 мл нормальной лошадиной сыворотки добавляют равный объем исследуемого экстракта;
- к 0,3 мл исследуемого экстракта добавляют натрия хлорида раствор 0,9 % в равном объеме;
- к 0,3 мл туляремийной сыворотки добавляют натрия хлорида раствор 0,9 % в равном объеме;
- к 0,3 мл нормальной лошадиной сыворотки добавляют натрия хлорида раствор 0,9 % в равном объеме.

Учет результатов

Реакция кольцепреципитации считается положительной при появлении в течение 4-5 мин на границе двух жидкостей кольца беловатого цвета, ясно различимого невооруженным глазом. В контрольных пробирках кольцо должно отсутствовать.

Положительная реакция свидетельствует о наличии в исследуемом материале антигенов туляремийного микроба.

БЕЗОПАСНОСТЬ

Работу с исследуемым материалом проводят в соответствии с СП 1.3.1285-03 "Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)".

ФОРМА ВЫПУСКА

По 1 мл в ампуле. Упаковка содержит 10 ампул, Инструкцию по применению и нож ампульный.

СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

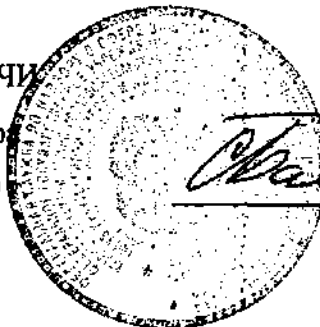
Срок годности 5 лет. Сыворотка с истекшим сроком годности применению не подлежит.

Сыворотку хранят и транспортируют в соответствии с СП 3.3.2.1248-03 при температуре от 0 до 8 °С. Допускается транспортирование при температуре от минус 20 до 20 °С не более 7 суток.

Рекламации на качество сыворотки направлять в ФГУН ГИСК им. Л. А. Тарасевича Роспотребнадзора (119002, г. Москва, Сивцев Вражек, 41; тел. (495) 241-39-22, факс (495) 241-92-38 и в адрес предприятия-изготовителя ФГУЗ ИркутскНИПЧИ Сибири и ДВ Роспотребнадзора (664047, г. Иркутск, Трилиссера, 78; тел. (395-2) 22-01-35, факс (395-2) 22-01-40.

Директор ФГУЗ ИркутскНИПЧИ
Сибири и ДВ Роспотребнадзора

"26" мая 2010



С.В. Балахонов