

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ФКУЗ Иркутский
научно-исследовательский
противочумный институт
Сибири и Дальнего Востока
Роспотребнадзора

Балахонов С.В.

«2» апреля 2013 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению

**НАБОРА РЕАГЕНТОВ СЫВОРОТКИ ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ХОЛЕРНОЙ
О1 АДСОРБИРОВАННОЙ И НЕАДСОРБИРОВАННОЙ СУХОЙ
ДЛЯ РЕАКЦИИ АГГЛЮТИНАЦИИ (РА)**

2013 г.

ИНН 3811015807

КОПИЯ ВЕРНА

Директор ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Роспотребнадзора



С.В. Балахонов

С.н.с.

101 dec 2016

Андреевская Н.М.

Прошито и пронумеровано

лист 1



1. НАЗНАЧЕНИЕ

Сыворотка диагностическая холерная O1 адсорбированная или неадсорбированная сухая для реакции агглютинации РА, предназначена для выделения и идентификации холерных вибрионов O1 группы.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Метод основан на взаимодействии клеток холерного вибриона с антителами, содержащимися в холерной O1 сыворотке с образованием агглютината, видимого невооруженным глазом, в реакции агглютинации (РА) на стекле и пробирочной РА.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Препарат представляет собой сыворотку крови лошади или кроликов, гипериммунизированных холерными вибрионами сероваров Инаба и Огава в S-форме, инаktivированных прогреванием при температуре 100 °С. Лошадиная сыворотка адсорбирована холерными вибрионами не O1 группы в S-R форме, инаktivированных 0,5 % формалином или прогреванием при температуре 100 °С. Кроличья сыворотка не адсорбирована. Консервант – кислота борная. Стабилизатор – сахароза и натрий серноватистокислый.

Аморфная масса белого цвета с сероватым или розоватым оттенком.

Титр сыворотки в реакции агглютинации на стекле не менее 1:100, в пробирочной реакции агглютинации не менее 1:1600.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения сыворотки класс 2б (ГОСТ Р 51609-2000).

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

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

1. Вода дистиллированная
2. Натрий хлористый
3. Бактериологическая петля
4. Отраслевой стандартный образец мутности ОСО 42-28-86-соответствующего года выпуска
5. Предметные стёкла
6. Пробирки стеклянные объёмом 16 мл
7. Пипетки стеклянные объёмом 1, 5, 10 мл
8. Пробирки с бульоном Хоттингера pH 7,6±0,1
9. Чашки Петри с агаром Хоттингера pH 7,6±0,1
10. Дозатор пипеточный или микропипетки 1000 мкл
11. Холодильник

12. Термостат

13. Штативы для пробирок

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Объектом для исследования может быть клинический материал от людей, пищевые продукты, вода, патологический материал и объекты внешней среды и др. Образцы перед проведением анализа готовят согласно МУК 4.2.2218-07 «Лабораторная диагностика холеры».

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Постановка реакции агглютинации на стекле.

Сыворотку растворяют в 1 мл стерильной дистиллированной воды. Затем разводят 0,9 % раствором натрия хлорида pH $7,2 \pm 0,1$ с таким расчетом, чтобы получить разведение 1:50.

После растворения – опалесцирующие жидкости желтовато-зеленого или соломенно-желтого цвета (лошадиная сыворотка) и от светловато-кремового до розовато-желтого цвета (кроличья сыворотка).

Ампулы, в которых при растворении препарата обнаружены хлопья, не употреблять. После растворения сыворотку можно хранить при температуре от 4 до 10 °C в течение 24 ч.

В чашку Петри наносят каплю (микропипеткой или дозатором пипеточным) в объеме 0,03 мл холерной сыворотки в разведении 1:50 и две капли 0,9 % раствора натрия хлорида (контроли культуры и сыворотки). Расстояние между каплями должно быть не менее 30 мм. Платиновой петлей или стеклянной палочкой исследуемая культура, выращенная на агаре Хоттингера в течение 18-24 ч при температуре 37 °C, равномерно смешивается сначала с каплей 0,9 % раствора натрия хлорида, затем с сывороткой в разведении 1:50. Для ускорения выпадения агглютината рекомендуется легкое покачивание чашки Петри.

7.2. Постановка реакции агглютинации пробирочным методом.

Сыворотку растворяют в 1 мл стерильной дистиллированной воды. Сыворотку разводят 0,9 % раствором натрия хлорида pH $7,2 \pm 0,1$ с таким расчетом, чтобы получить последовательные двукратные разведения, начиная с 1:50 до титра, указанного на этикетке ампулы.

Исследуемую культуру холерного вибриона высевают в пробирки с бульоном Хоттингера pH $7,6 \pm 0,1$ инкубируют при температуре (37 ± 1) °C в течение 3-5 ч; пересевают на чашки Петри с подсушенным агаром Хоттингера pH $7,6 \pm 0,1$. Через 18-24 ч инкубации при температуре (37 ± 1) °C отбирают не менее 5 типичных колоний и высевают на чашки с агаром Хоттингера, инкубируют при температуре (37 ± 1) °C в течение 18-24 ч. Из выросшей культуры готовят взвесь холерных вибрионов в 0,9 % растворе натрия хлорида по отраслевому стандартному образцу мутности 5 МЕ (ОСО 12-28-86-соответствующего года выпуска), эквивалентную $1,1 \times 10^9$ м.к. в 1 мл.

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

Одновременно ставят контроли:

- контроль антигена - к 0,5 мл холерной 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, выдерживают 2 ч при температуре $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ и 18-22 ч при температуре $(21 \pm 1) ^\circ\text{C}$, после чего проводят учет результатов реакции.

8. ОЦЕНКА И УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ

8.1. Учет результатов реакции агглютинации на стекле

Учет результатов проводят по четырёхкрестовой схеме:

- 4 креста - крупно- или мелкозернистая агглютинация при полном просветлении жидкости;
- 3 креста - крупно- или мелкозернистая агглютинация при легкой опалесценции жидкости;
- 2 креста - слабая мелкозернистая агглютинация на фоне мутной жидкости;
- 1 крест - следы агглютинации на фоне мутной жидкости.

Реакцию агглютинации на стекле считают положительной при появлении, в течение 3 мин, мелко- или крупнозернистого агглютината, ясно видимого невооруженным глазом. При отрицательной реакции смесь сыворотки с культурой остается равномерно мутной. В контроле с 0,9 % раствором натрия хлорида микробная взвесь должна оставаться равномерно мутной.

Реакция считается положительной на 3-4 креста. Реакция на 1-2 креста не учитывается.

8.2. Учет результатов реакции агглютинации пробирочным методом проводят по четырёхкрестовой 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.

В контрольных пробирках (контроль сыворотки и контроль культуры) не должно быть агглютинации. При наличии агглютинации в контрольных пробирках реакцию в опытных пробирках считают неспецифической и проводят повторную постановку реакции агглютинации. Реакцию считают положительной, если ясно видна невооруженным глазом крупно- или мелкозернистая агглютинация на 3-4 креста. Положительная реакция свидетельствует о наличии в исследуемом материале холерного вибриона.

9. ФОРМА ВЫПУСКА

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

10. 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 3.3.2.2329-08 при температуре от 2 до 8 °С. Допускается транспортирование при температуре от минус 20 до 20 °С не более 7 суток. Рекламации на качество сыворотки направлять в адрес предприятия-изготовителя ФКУЗ ИркутскНИПЧИ Сибири и ДВ Роспотребнадзора (664047, г. Иркутск, Трилиссера, 78; тел. (395-2) 22-01-35, факс (395-2) 22-01-40.

СОГЛАСОВАНО

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

Е.В. Прохвятилова

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

Л.В. Ляпустина

5 (п. 1 п. 6)
С.н.с. Андреевская Н.М. листов





Федеральная служба по надзору в сфере
защиты прав потребителей и
благополучия человека

ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский
противочумный институт Роспотребнадзора
664047, Россия, г. Иркутск, ул. Трилессера, 78
Тел. (3952)22-01-35, факс (3952)22-01-40

**СЫВОРОТКА ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ
ХОЛЕРНАЯ О1 АДСОРБИРОВАННАЯ
СУХАЯ ДЛЯ РЕАКЦИИ АГГЛЮТИНАЦИИ (РА)**

Консервант: борная кислота
Стабилизатор: сахароза, натрий серноватисто-кислый
10 ампул по 1 мл



Федеральная служба по надзору в сфере
защиты прав потребителей и
благополучия человека

ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский
противочумный институт Роспотребнадзора
664047, Россия, г. Иркутск, ул. Трилессера, 78
Тел. (3952)22-01-35, факс (3952)22-01-40

**СЫВОРОТКА ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ
ХОЛЕРНАЯ О1 НЕАДСОРБИРОВАННАЯ
СУХАЯ ДЛЯ РЕАКЦИИ АГГЛЮТИНАЦИИ (РА)**

Консервант: борная кислота
Стабилизатор: сахароза, натрий серноватисто-кислый
10 ампул по 1 мл

Перистальтический насос
Дата перистальсии
TV 9388-013-01898090-2012
Хранить при температуре от 2 до 8 °C.
Только для in vitro диагностики

Перистальтический насос
Дата перистальсии
TV 9388-013-01898090-2012
Хранить при температуре от 2 до 8 °C.
Только для in vitro диагностики

научно-исследовательский институт Роспотребнадзора
холерная О1
1 мл
пробирочной РА 1:1600
Серия 222
годен до 03. 2016 г.
для in vitro диагностики
температуре от 2 до 8 °С

научно-исследовательский институт Роспотребнадзора
холерная О1
1 мл
пробирочной РА 1:1600
Серия 220
годен до 06. 2015 г.
для in vitro диагностики
температуре от 2 до 8 °С

научно-исследовательский институт Роспотребнадзора
Сыв. холерная О1
1 мл
пробирочной РА 1:1600
Серия 221
годен до 07. 2015 г.
для in vitro диагностики
при температуре от 2 до 8 °С

научно-исследовательский институт Роспотребнадзора
холерная О1
1 мл
пробирочной РА 1:1600
Серия 212
годен до 05. 2015 г.
для in vitro диагностики
температуре от 2 до 8 °С

научно-исследовательский институт Роспотребнадзора
холерная О1
1 мл
пробирочной РА 1:1600
Серия 213
годен до 05. 2016 г.
для in vitro диагностики
температуре от 2 до 8 °С

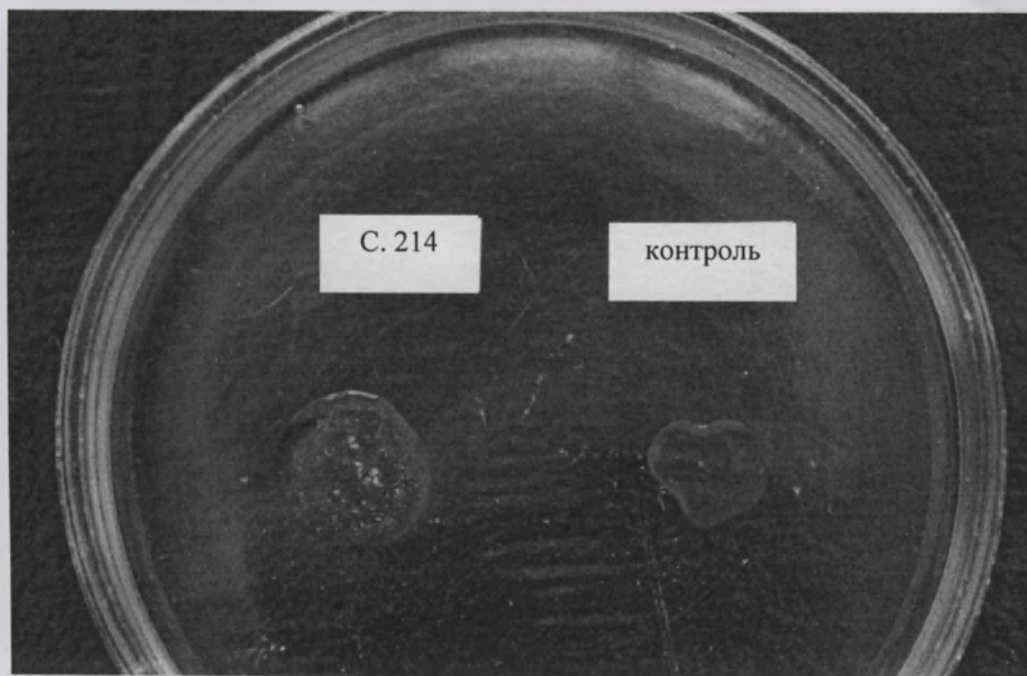
научно-исследовательский институт Роспотребнадзора
холерная О1
1 мл
пробирочной РА 1:1600
Серия 214
годен до 05. 2016 г.
для in vitro диагностики
температуре от 2 до 8 °С

Прил. 1. лист 3

Серия 214
Дата изготовления: 05.2011 г.
Годен до: 05.2016 г.

Серия 222
Дата изготовления: 03.2011 г.
Годен до: 03.2016 г.

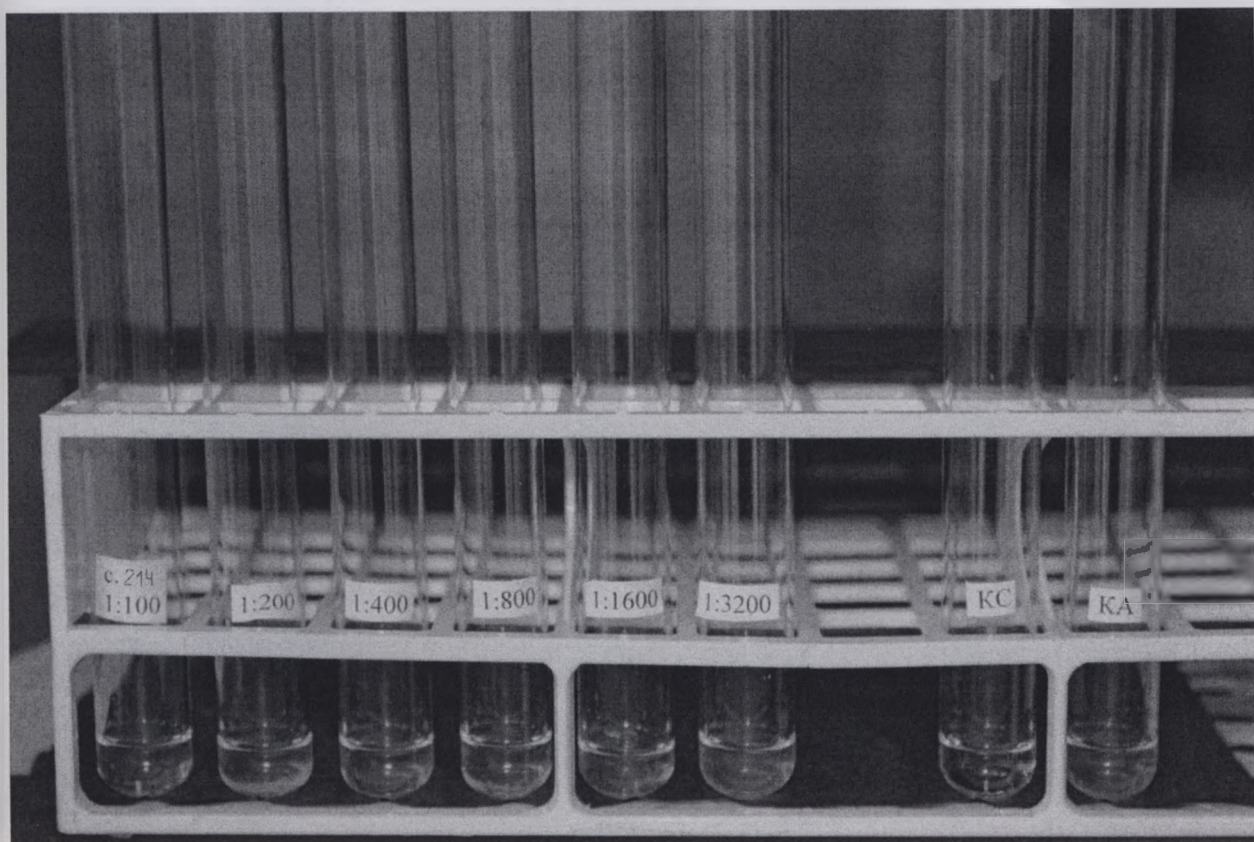
Специфическая активность сыворотки диагностической холерной O1 неадсорбированной сухой с. 214 в реакции агглютинации на стекле



с. 214 Специфическая активность сыворотки диагностической холерной O1 неадсорбированной сухой *V. cholerae* O1 569B – 1:100

контроль - *V. cholerae* O1 569B с 0,9 % раствором натрия хлорида

Специфическая активность сыворотки диагностической холерной O1 адсорбированной сухой с.214 в пробирочной реакции агглютинации



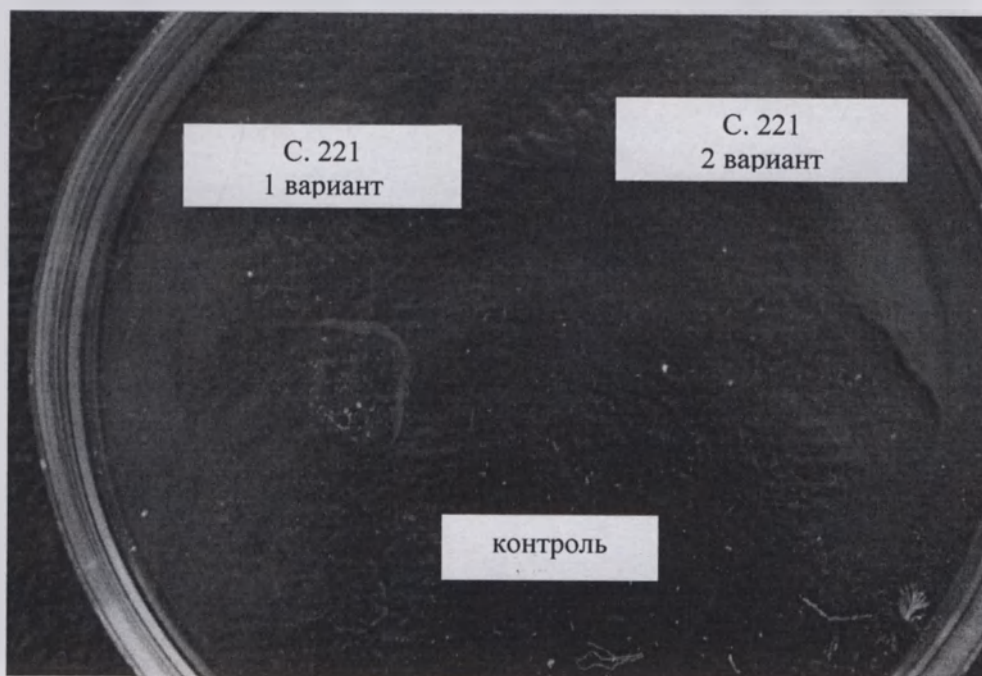
Разведения сыворотки диагностической холерной O1 адсорбированной 1:100-1:3200

КС- контроль сыворотки

КА-контроль антигена

76

Специфическая активность сыворотки диагностической холерной O1 адсорбированной
с. 221 (1и 2 варианты) в реакции агглютинации на стекле



с. 221 (1 вариант) сыворотка диагностическая холерная O1 адсорбированная
с *V. cholerae* O1 569B – 1:25

с. 221 (2 вариант) сыворотка диагностическая холерная O1 адсорбированная
с *V. cholerae* O1 569B – 1:25

контроль - *V. cholerae* O1 569B с 0,9 % раствором натрия хлорида

7

Специфическая активность сыворотки диагностической холерной O1 адсорбированной с.221 (1вариант) в пробирочной реакции агглютинации

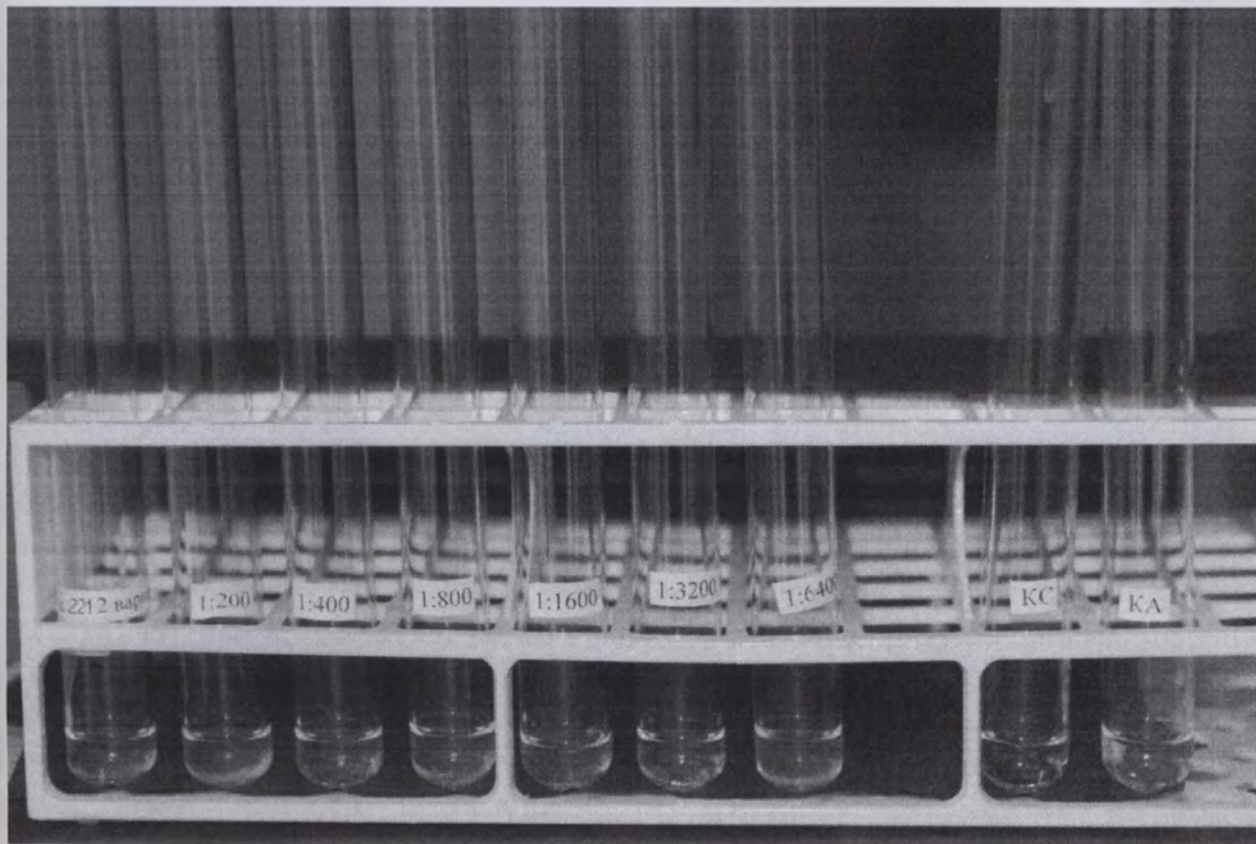


Разведения сыворотки диагностической холерной O1 адсорбированной 1:100-1:3200

КС- контроль сыворотки

КА-контроль антигена

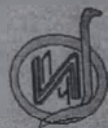
Специфическая активность сыворотки диагностической холерной О1 адсорбированной с.221 (2вариант) в пробирочной реакции агглютинации



Разведения сыворотки диагностической холерной О1 адсорбированной 1:100-1:3200

КС- контроль сыворотки

КА-контроль антигена



Федеральная служба по надзору в сфере
защиты прав потребителей и
благополучия человека

ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский
противочумный институт Роспотребнадзора
664047, Россия, г. Иркутск, ул. Трилиссера, 78
Тел. (3952)22-01-35, факс (3952)22-01-40

**СЫВОРОТКА ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ
ХОЛЕРНАЯ О1 АДсорбированная
СУХАЯ для РЕАКЦИИ АГГЛЮТИНАЦИИ (РА)**

Консервант: борная кислота
Стабилизатор: сахароза, натрий серноватистокислый
10 ампул по 1 мл



Федеральная служба по надзору в сфере
защиты прав потребителей и
благополучия человека

ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский
противочумный институт Роспотребнадзора
664047, Россия, г. Иркутск, ул. Трилиссера, 78
Тел. (3952)22-01-35, факс (3952)22-01-40

**СЫВОРОТКА ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ
ХОЛЕРНАЯ О1 НЕАДсорбированная
СУХАЯ для РЕАКЦИИ АГГЛЮТИНАЦИИ (РА)**

Консервант: борная кислота
Стабилизатор: сахароза, натрий серноватистокислый
10 ампул по 1 мл

Регистрационный номер
Дата регистрации
ТУ 9388-013-01898090-2012
Хранить при температуре от 2 до 8 °С.
Только для in vitro диагностики

Регистрационный номер
Дата регистрации
ТУ 9388-013-01898090-2012
Хранить при температуре от 2 до 8 °С.
Только для in vitro диагностики

Серия 214
Дата изготовления: 05.2011 г.
Годен до: 05.2016 г.

Серия 222
Дата изготовления: 03.2011 г.
Годен до: 03.2016 г.

ОТКРЫВАТЬ ЗДЕСЬ

Титр в пробирочной РА 1:1600
Титр в РА на стекле 1:100

ОТКРЫВАТЬ ЗДЕСЬ

Титр в пробирочной РА 1:1600
Титр в РА на стекле 1:100



