



ФКП "Армавирская биофабрика"

**Сыворотки "О" - коли агглютинирующие и сыворотки  
агглютинирующие эшерихиозные к адгезивным антигенам  
K88, K99, 987P, F41**

*изготовлены из сыворотки крови клинически здоровых кроликов  
«Для ветеринарного применения»*

Поливалентные группы по 2 см<sup>3</sup>: 1; 2; 3; 4 серии № 32, 33, 34, 35

Моновалентные серогруппы по 2 см<sup>3</sup>: O1; O2; O4; O8; O9; O15; O18; O20; O26; O33; O35;  
O41; O55; O78; O86; O101; O103; O111; O115; O117; O119; O126; O127; O137; O138; O139;  
O141; O142; O147; O149; O157

серии № 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26,  
27, 28, 29, 30, 31

Сыворотки к адгезивным антигенам K88, K99, 987P, F41 серии № 36, 37, 38, 39

Дата выпуска 10.2022

39 флаконов

*Применять согласно инструкции по применению. Срок годности 4 года.  
Хранить в защищенном от света месте при температуре от 2°С до 10°С.*

*Хранить в местах, недоступных для детей.*

*Отпускать без рецепта.*

НД 00482849-0102-2022

352212, Россия, Краснодарский край, Новокубанский район,

пос. Прогресс, ул. Мечникова, 11

тел. (86195) 4-10-28

факс (86195) 2-11-15



УТВЕРЖДАЮ:

Директор ФКП

«Армавирская биофабрика»

Е.В. Сусский

10 20 22 г



## ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора сывороток «О» - коли агглютинирующих и сывороток агглютинирующих эшерихиозных к адгезивным антигенам К88, К99, 987Р, F41.

(Организация–разработчик: ФКП «Армавирская биофабрика», 352212, Краснодарский край, Новокубанский район, п. Прогресс, ул. Мечникова, дом 11)

### I. Общие сведения

1. Торговое наименование: Набор сывороток «О» - коли агглютинирующих и сывороток агглютинирующих эшерихиозных к адгезивным антигенам К88, К99, 987Р, F41.

Международное непатентованное наименование: Набор сывороток «О» - коли агглютинирующих и сывороток агглютинирующих эшерихиозных к адгезивным антигенам К88, К99, 987Р, F41.

2. Лекарственная форма: лиофилизат для диагностических целей.

Сыворотки получают из крови клинически здоровых кроликов, гипериммунизированных эшерихиями определенных серогрупп: O1, O2, O4, O8, O9, O15, O18, O20, O26, O33, O35, O41, O55, O78, O86, O101, O103, O115, O117, O119, O126, O127, O137, O138, O139, O141, O142, O147, O149, O157 и адгезивными антигенами E. Coli К88, К99, 987Р, F41.

Выпускают агглютинирующие сыворотки в наборе, включающем моновалентные - к эшерихиям 31 серогруппы (O1, O2, O4, O8, O9, O15, O18, O20, O26, O33, O35, O41, O55, O78, O86, O101, O103, O111, O115, O117, O119, O126, O127, O137, O138, O139, O141, O142, O147, O149, O157);

четыре поливалентные, каждая к эшерихиям 6-8 серогрупп:

- 1) O1, O2, O4, O8, O78, O111, O115, O126;
- 2) O9, O15, O18, O20, O26, O119;
- 3) O33, O35, O41, O86, O101, O103, O117, O137;
- 4) O55, O127, O138, O139, O141, O142, O147, O149.

Сыворотка серогруппы O157 в состав поливалентных сывороток не входит.

Сыворотки для диагностики в реакции агглютинации (РА) на стекле поверхностных адгезивных антигенов у энтеропатогенных эшерихий К88, К99, 987Р, F41.

3. По внешнему виду сыворотки представляют собой пористую массу розовато-белого цвета, легко растворимую в очищенной воде или физиологическом растворе в течение 1-2 минут.



Срок годности сывороток 4 года с даты выпуска при соблюдении условий хранения и транспортирования. После первого вскрытия флакона сыворотки пригодны к применению в течение 1 месяца при условии хранения при температуре от 2° С до 10° С. По истечении срока годности сыворотки к применению не пригодны.

4. Сыворотки расфасовывают по 2,0 см<sup>3</sup> в стеклянные флаконы соответствующей вместимости, герметично закупоренные резиновыми пробками, укрепленные алюминиевыми колпачками.

Флаконы с сыворотками упаковывают в коробки (пачки) обеспечивающие сохранность, снабженные инструкцией по применению. Коробки (пачки) упаковывают в ящики из гофрированного картона.

5. Сыворотки хранят и транспортируют в защищенном от света месте при температуре от 2° С до 10° С. Допускается транспортирование сыворотки в упаковке организации – производителя или термоконтейнерах многоразового использования при температуре не выше 25° С, при этом срок транспортирования не должен превышать 5 суток.

6. Сыворотки следует хранить в местах, недоступных для детей.

7. Сыворотки во флаконах без маркировки, с нарушением целостности и/или герметичности закупорки, с измененным цветом и/или консистенцией содержимого, с наличием посторонних примесей, с истекшим сроком годности, подвергшиеся замораживанию после растворения, а также сыворотки, не использованные в течение 1 месяца после вскрытия, подлежат выбраковке и обеззараживанию путем кипячения не менее 15 минут.

Утилизация обеззараженных сывороток не требует специальных мер предосторожности.

8. Набор сывороток агглютинирующих отпускают без рецепта ветеринарного врача.

## II. Биологические свойства

9. Диагностический препарат. Лечебными свойствами не обладает. Реакция агглютинации строго специфична. Агглютинин (антитело) соединяется только с тем агглютиногеном (антигеном), против которого он получен.

## III. Порядок применения

10. Сыворотки «О» - коли применяют для определения серогрупповой принадлежности эшерихий. Серогрупповую принадлежность эшерихий определяют только у культур, отнесённых по морфологическим, культуральным свойствам к роду эшерихий.

Не использовать для диагностики другого вида культур.

Агглютинирующие сыворотки К88, К99, 987Р, F41 предназначены для выявления в реакции агглютинации (РА) на стекле поверхностных адгезивных

антигенов у энтеропатогенных эшерихий. Адгезивные антигены K88, K99, 987P, F41 являются факторами вирулентности эшерихий. Они обеспечивают прилипание (адгезию) энтеропатогенных эшерихий к слизистой оболочке тонкого отдела кишечника животных и последующее их бурное размножение, обуславливающее клинические проявления колибактериоза (колидиареи).

11. При работе с сывороткой следует соблюдать общие правила личной гигиены и техники безопасности, предусмотренные при работе с лекарственными средствами ветеринарного назначения.

12. Специальных средств защиты при работе с сывороткой не требуется. При попадании сыворотки на кожу и/или слизистые оболочки их промывают большим количеством водопроводной воды. В местах работы должна быть аптечка первой доврачебной помощи.

13. Флаконы с сывороткой перед постановкой реакции вскрывают и в каждый добавляют 2,0 см<sup>3</sup> очищенной воды, восстанавливая до первоначального объема, восстановленная сыворотка должна быть прозрачной или слегка опалесцирующей светло-желтого или красноватого цвета.

Сыворотки агглютинирующие эшерихиозные к адгезивным антигенам K88, K99, 987P, F41 разводят 1:10 (рабочий титр). Разведенные сыворотки хранят в пробирках (флаконах) под резиновой пробкой.

14. Выращивание культур эшерихий для определения серогрупповой принадлежности эшерихий.

Испытуемую культуру выращивают на скошенном мясопептонном агаре (МПА) при температуре 37<sup>0</sup>С в течение 18-20 ч, смывают физиологическим раствором, переносят в сухие стерильные пробирки, маркируют этикетками из пергаментной бумаги, прогревают в течение 1 ч на водяной бане при температуре 100<sup>0</sup> С для разрушения поверхностных термолабильных "L" и "B" антигенов или автоклавируют при температуре 120<sup>0</sup> С в течение 2 ч, для разрушения термостабильного "А"-антигена.

Вода при прогревании на водяной бане должна полностью закрывать уровень культуры в пробирках. Нарушение режима прогревания может привести к выпадению осадка вследствие сохранения поверхностных антигенов.

Культуры, образующие после кипячения или автоклавирования хлопья, зернистость ("О" или "R"-форма) - не используют для реакции.

Прогретую взвесь бактерий центрифугируют при 3000 об./мин в течение 20 минут, надосадочную жидкость сливают, а осадок используют в качестве антигена для постановки реакции агглютинации на стекле.

Оставшуюся часть антигена разводят стерильным физиологическим раствором по оптическому стандарту мутности до концентрации 500 млн/см<sup>3</sup> микробных тел и используют для постановки пробирочной реакции агглютинации.



Определение серогрупповой принадлежности культур начинают с постановки реакции агглютинации на стекле с групповыми поливалентными сыворотками и моновалентной сывороткой O157.

На чистое обезжиренное предметное стекло наносят по капле сывороток, в каждую каплю петлей вносят осаждённую центрифугированием культуру и хорошо перемешивают. Реакция протекает при температуре 18-20<sup>0</sup>С, учитывают её в течение 3 минут.

Положительная реакция характеризуется образованием мелкозернистого агглютината и полным или частичным просветлением жидкости.

При отрицательном результате антиген остаётся в капле сыворотки в виде равномерной взвеси.

Каждый антиген, который агглютинируется одной из поливалентных сывороток, исследуют в реакции агглютинации на стекле с моновалентными, разведёнными 1:10, сыворотками, входящими в состав данной поливалентной сыворотки, а затем в пробирочной реакции агглютинации с каждой сывороткой, давшей положительную реакцию на стекле.

Пробирочную реакцию агглютинации ставят в серологических или бактериологических пробирках в объёме 1,0 см<sup>3</sup>.

Сыворотку разводят стерильным физиологическим раствором 1:25, а затем до титра, указанного на этикетке. Для приготовления исходного разведения к 2,4 см<sup>3</sup> физиологического раствора добавляют 0,1 см<sup>3</sup> сыворотки. Во все другие пробирки разливают по 0,5 см<sup>3</sup> физиологического раствора. Из исходного разведения переносят 0,5 см<sup>3</sup> смеси во вторую пробирку, из второй - в третью и т.д. Каждое разведение готовят отдельной пипеткой. Содержимое каждой пробирки тщательно смешивают. Из первой пробирки удаляют 1,5 см<sup>3</sup>, из последней 0,5 см<sup>3</sup> смеси. В пробирки с разведённой сывороткой добавляют по 0,5 см<sup>3</sup> антигена, имеющего концентрацию 500 млн./см<sup>3</sup> микробных тел.

Одновременно ставят контроли:

- а) антиген+физиологический раствор (для исключения самоагглютинации);
- б) сыворотка в разведении 1:25 без антигена (для исключения флоккуляции).

Штатив с пробирками встряхивают и выдерживают 16-18 ч при температуре 37<sup>0</sup> С и 6-8 ч при температуре 18-20<sup>0</sup> С. Учитывают реакцию при помощи агглютиноскопа.

Реакцию оценивают как положительную при просветлении жидкости и образования на дне пробирки осадка бактерий в форме раскрытого зонтика, который при встряхивании распадается на хлопья или комочки.

Реакцию считают отрицательной, когда на дне пробирки образуется дискообразный осадок, который при встряхивании разбивается в равномерную взвесь.

В контрольных пробирках также должен быть дискообразный осадок, а после встряхивания - равномерная взвесь бактерий.

15. Исследуемую культуру относят к той О-группе, с сывороткой которой она вступает в реакцию до титра или не ниже половины титра сыворотки, указанного на этикетке. Если культура не агглютинируется ни одной из имеющихся сывороток, то её относят к числу не типизируемых.

16. В случае, когда поливалентные О-коли сыворотки не агглютинируют в реакции на стекле (антиген, прогретый при температуре  $100^{\circ}\text{C}$ ,) суспензию из исследуемых бактерий автоклавируют при температуре  $120^{\circ}\text{C}$  в течение 2 ч.

17. Применение сывороток О-коли агглютинирующих строго специфично.

18. Выращивание культур эшерихий для выявления в реакции агглютинации (РА) на стекле поверхностных адгезивных антигенов у энтеропатогенных эшерихий.

Высев из каждой пробы патологического материала производят в 2-3 чашки со средой Эндо, посеvy культивируют до суток при температуре  $37-38^{\circ}\text{C}$ . Отбирают 10 типичных для эшерихий колоний и пересевают в пробирки (чашки Петри) с мясопептонным агаром (МПА) или агаром Хоттингера для выявления антигенов K88, 987P и в пробирки (чашки Петри) со средой Минка - для обнаружения антигенов K99, F41.

Колонии слизистой консистенции (тянущиеся за петлей) обязательно сделать посев со среды Эндо на Минка.

Живую культуру, выращенную в пробирках на скошенном мясопептоном агаре (МПА) при температуре  $(37\pm 1)^{\circ}\text{C}$  в течение 18-20 ч, снимают с поверхности агара вблизи конденсата бактериальной петлей, наносят на предметное стекло рядом с каплей сыворотки и постепенно, начиная с края капли, растирают в ней. Реакцию учитывают в течение пяти минут при легком покачивании стекла при подогреве над пламенем спиртовки (температура не выше  $37^{\circ}\text{C}$ ).

Контролем служит испытываемая культура, смешанная с каплей физиологического раствора (рН 7,2-7,4) или с каплей нормальной кроличьей сыворотки, разведенной 1:10 (для исключения самоагглютинации).

Положительная реакция характеризуется склеиванием микробных клеток в зерна или хлопья различной величины и полным или частичным просветлением сыворотки при отсутствии агглютинации в контроле. При наличии агглютининов к изучаемому штамму в капле сыворотки появляется хлопьевидный агглютинат. В контрольной капле (взвесь культуры в 0,9% растворе натрия хлорида) агглютинат должен отсутствовать.

При наличии агглютининов к изучаемому штамму в капле сыворотки появляется хлопьевидный агглютинат. В контрольной капле (взвесь культуры в 0,9% растворе натрия хлорида) агглютинат должен отсутствовать.



Учет результатов производят визуально в крестах по четырех-балльной системе:

++++ - агглютинат крупнохлопчатый, хорошо выражен, полное просветление капли.

+++ - агглютинат крупнохлопчатый, хорошо выражен, просветление капли неполное.

++ - агглютинат слабо выражен, капля мутная.

+ - следы агглютината, капля мутная.

- гомогенная мутная капля.

19. Эшерихии, давшие положительную реакцию агглютинации с одной из сывороток, считают возбудителем колибактериоза (колидиареи).

20. Культуры эшерихий, выделенные от больного или павшего от диареи молодняка и не давшие РА с антиадгезивными сыворотками К88, К99, 987Р и F41 относят к числу не типизируемых.

21. При случайном попадании испытуемой культуры на кожу, слизистые оболочки человека, пораженный участок необходимо срочно обработать любым антисептиком (5%-ным раствором йода или 70%-ным раствором спирта ректификата) и обратиться в медицинское учреждение.

22. Наименование, адрес организации - производителя: ФКП «Армавирская биофабрика», 352212, Краснодарский край, Новокубанский район, пос. Прогресс, ул. Мечникова, дом 11.

Инструкция по применению набора сывороток «О» - коли агглютинирующих и сывороток агглютинирующих эшерихиозных к адгезивным антигенам К88, К99, 987Р, F41 разработана: ФКП «Армавирская биофабрика», 352212, Краснодарский край, Новокубанский район, пос. Прогресс, ул. Мечникова, дом 11.

Инструкция утверждена директором ФКП «Армавирская биофабрика».