

## ФЕБРИЛЬНАЯ СЕРОДИАГНОСТИКА

Агглютинация  
СЛАЙДЫ И ПРОБИРОЧНЫЕ ТЕСТЫ

33309 <i>B. abortus</i> 5 мл	33304 <i>S. paratyphi</i> BO (1,4,5,12-O) 5 мл
33314 <i>B. melitensis</i> 5 мл	33305 <i>S. paratyphi</i> CH (c-H), 5 мл
33315 <i>B. abortus</i> Rose Bengal, 5 мл	33304 <i>S. paratyphi</i> CO (6,7-O), 5мл
33307 <i>S. typhi</i> H (d-H) 5 мл	33311 <i>Proteus</i> OX19, 5 мл
33308 <i>S. typhi</i> O (9,12-O), 5 мл	33312 <i>Proteus</i> OX2, 5 мл
33301 <i>S. paratyphi</i> AH (a-H), 5 мл	33310 <i>Proteus</i> OXK, 5 мл
33302 <i>S. paratyphi</i> AO (1,2,12-O), 5 мл	33504 Polivalent Positive Control, 1 мл
33303 <i>S. paratyphi</i> BH (b-H), 5 мл	33503 Pol;ivalent Negative Control, 1 мл
<b>33001 Febrile antigen multiscreening kit. 100 x 6 опр.</b>	
Хранить при 2 – 8°C Использовать только для диагностики «in vitro»	

## ПРИНЦИП МЕТОДА

Фиксированные бактериальные антигены являются стандартизированной суспензией приготовленных бактерий, для быстрого полуквантитативного определения уровня антител в сыворотке при некоторых фебрильных инфекциях, таких, как бруцеллез, сальмонеллез и риккетсиоз. Агглютинация происходит при наличии в сыворотке антигена и соответствующих гомологичных антител.

СОСТАВ НАБОРА ДЛЯ  
МУЛЬТИСКРИНИНГА

33001 *B. abortus* Rose Bengal, фиксированные, 5 мл (только слайд-тесты). *S. typhi* H (d-H) 5 мл, *S. typhi* O (9,12-O), 5 мл. *S. paratyphi* AH (a-H) 5 мл. *S. paratyphi* BH (b-H) 5 мл. *Proteus* OX19 5 мл. Polivalent Positive Control 1 мл. Polivalent Negative Control 1 мл.

## ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

- Стеклопластиковые слайды для агглютинации в слайд-тестах
- Механический ротатор со скоростью вращения 100 об/мин
- Термобаня на 37° С.

## ОБРАЗЦЫ

Сыворотка. Стабильность составляет 7 дней при 2-8° С.

Гемолизированная и липемическая сыворотка не подходит для тестирования.

## МЕТОДИКА

## А. АГГЛЮТИНАЦИЯ НА СЛАЙДАХ

1. Подогреть реагенты и образцы до комнатной температуры (примечание 1)
2. Поместить 1 каплю (50 мкл) образца (примечание 2 и 3) и 1 каплю каждого Контроля (примечание 4) в лунку на стеклянном слайде.
3. Осторожно перемешать флакон с антигеном перед использованием. Добавить 1 каплю суспензии антигена в каждую лунку следом за образцом.
4. Перемешать одноразовой мешалкой и размазать по всей поверхности лунки. Использовать для каждого образца новые мешалки.
5. Поместить слайд в ручной или механический ротатор при 100 об/мин (примечание 5):
  - Жгутиковые и соматические антигены – 2 минуты
  - *B. Rose Bengal* – 4 минуты

## В. АГГЛЮТИНАЦИЯ В ПРОБИРКАХ

1. Развести сыворотку 1/20 физиологическим раствором (0,1 мл сыворотки + 1,9 мл физ.раствора) и сделать серии с двукратным шагом с разведением с физиологическим раствором.
2. Развести Положительные и Отрицательный Контроли 1/10 физиологическим раствором (0,1 мл Контроля + 0,9 мл физиологического раствора).
3. Приготовить каждый антиген для тестирования ряд пробирок содержащих 1

мл каждого, как описано ниже: физиологический раствор, разведенная сыворотка и разведенные контроли.

4. Осторожно перемешать флакон с антигеном и добавить 1 каплю (50 мкл) соответствующей суспензии (примечание 6) в каждую пробирку. Тщательно перемешать.
5. Инкубировать пробирки при 37° С в течение 24 часов (примечание 7).

## **СЧИТЫВАНИЕ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ**

### **А. АГГЛЮТИНАЦИЯ НА СЛАЙДАХ**

Осмотреть макроскопически наличие или отсутствие агглютинатов в течение 1 минуты после перенесения слайда из ротатора, сравнивая полученные результаты с контрольными сыворотками.

*Brucella* Rose Bengal может быть протестирована немедленно. Агглютинация появляется при наличии содержания антител  $\geq 25$  МЕ/мл.

Положительную сыворотку следует раститровать аналогично агглютинации в пробирках.

### **В. АГГЛЮТИНАЦИЯ В ПРОБИРКАХ**

Осмотреть макроскопически образцы агглютинации (примечание 8) и сравнить результаты с подобными результатами, полученными при исследовании контрольных образцов.

Отрицательный Контроль и физиологический раствор не дают видимой агглютинации. В пробирке с Положительным Контролем можно увидеть частичную или полную агглютинацию.

Частичная или полная агглютинация с разной степенью прозрачности супернатанта оценивается как положительный результат.

Титр сыворотки, определяющийся как высокое разведение, указывает на положительный результат.

Титр больше, чем 1/80 – 1/160 обычно определяется как положительный результат.

Единичные результаты не являются диагностически значимыми, при условии необычайно высокого титра.

Большинство заключительных лабораторных данных требуют повышенного внимания при наличии повышенного титра (>2-кратного) между последовательными образцами сыворотки.

### **ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДИКИ**

Ложно отрицательные результаты могут быть на раннем этапе заболевания, в случае

иммунодепрессии, прозоны (Бруцеллез) и лечения антибиотиками.

Ложно отрицательные соматические (O) тесты могут быть обнаружены у тифоидных больных пролеченных хлорамфениколом.

Серологическая кросс-реакция с Бруцеллой возникает в случае инфекций или вакцинаций некоторыми штаммами *Vibrio cholerae*, *Pasteurella*, *Proteus* OX19 и *Y. Enterocolitica* (серотип 9).

Высокий процент здоровых индивидуумов содержит пониженные титры антигена Протея, особенно при агглютинации на слайдах. Титры менее, чем 1/160 (пробирки) не рассматриваются как значительные.

## **ПРИМЕЧАНИЯ**

1. Чувствительность теста может быть снижена при уменьшении температуры. Большие результаты наблюдаются при снижении температуры более, чем на 10° С.
2. Когда определяются антитела на *Brucella*, рекомендуется уменьшать объем образца до 0,02 мл для предотвращения прозоны.
3. В некоторых географических ареалах с высоким превалярованием фебрильных антител, рекомендуется разводить сыворотку ¼ физиологическим раствором. перед постановкой проб.
4. Контроли предназначаются для оценки результатов в положительных и отрицательных образцах.
5. Задержка в считывании результатов может привести к ложно положительным результатам.
6. Использование Rose Bengal антигена является строго ограниченным для определения антител анти-бруцелла (*abortus*, *melitensis*, *suís*) методом определения агглютинации на слайдах. Пробирочное тестирование охватывает тестирование *B. abortus* (код 33309) или *B. melitensis* (код 33314), в серийных достаточно больших разведениях (10 пробирок) для покрытия эффекта прозоны.
7. Процедура инкубации должна происходить следующим образом:
  - Соматические (O) и *Proteus* антигены: 48 – 50 С в течение 4 часов
  - Флагеллярные (H) антигены: 48 – 50 С в течение 2 часов.
8. Соматическая (O) реакция характеризуется грубой, компактной агглютинацией, склонную к трудной дисперсии, хотя флагеллярные (H) имеют широкие характеристики, флоккулянтную агглютинацию.