



ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической,
радиационной и биологической безопасности»
420075, Россия, Республика Татарстан,
г. Казань, Научный городок-2, тел. (843)239-53-20

**НАБОР ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИТЕЛ В СЫВОРОТКЕ
КРОВИ ЖИВОТНЫХ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ
СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ, В РЕАКЦИИ НЕПРЯМОЙ
ГЕМАГГЛЮТИНАЦИИ (РНГА)**



ТУ 21.10.60-006-00492374-2020

«Для ветеринарного применения»

- эритроцитарный сибиреязвенный антиген, 3 фл.
- контрольная позитивная сыворотка, 1 фл.
- контрольная негативная сыворотка, 1 фл.

Активность в РНГА 1:64

Дата выпуска:

Годеи до:

Серия №

Хранить при температуре от +2°C до +8°C

Применять согласно инструкции

УТВЕРЖДАЮ:
Директор ФГБНУ «Федеральный
центр токсикологической,
радиационной и биологической
безопасности» А.И. Никитин
" 14 " апреля 2017 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению «Набора определения антител в сыворотке крови животных,
вакцинированных против сибирской язвы, в реакции непрямой
гемагглютинации (РНГА)»

(Организация-разработчик: ФГБНУ «Федеральный центр
токсикологической, радиационной и биологической безопасности»,
Россия, 420075, г. Казань, Научный городок-2)

I. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ

1. «Набор определения антител в сыворотке крови животных,
вакцинированных против сибирской язвы, в реакции непрямой
гемагглютинации (РНГА)».

2. В состав набора входят:

- эритроцитарный сибирезывенный антиген, 3 флакона (по 10,0 см³);
- контрольная позитивная сыворотка крови, 1 флакон (1,0 см³);
- контрольная негативная сыворотка крови, 1 флакон (1,0 см³).

3. Эритроцитарный антигенный диагностикум представляет собой 3%-ную взвесь эритроцитов барана, сенсibiliзировавшихся липополисахаридным комплексом, выделенным из культуры вакцинного штамма 55-ВНИИВВиМ *Bac. anthracis*.

Внешний вид компонентов:

- эритроцитарный антигенный диагностикум – прозрачная жидкость с темно-коричневым осадком на дне;

- контрольная позитивная сыворотка крови кроликов и контрольная негативная сыворотка крови кроликов – сухая пористая масса от светло-желтого до кремового цвета.

4. На флаконы с компонентами набора наклеивают этикетки с указанием: сибирезвенного антигена - наименования организации-производителя, названия компонента; объема препарата во флаконе, см³; активность в титрах, даты выпуска, годен до (месяц, год), номера серии; позитивной и негативной сывороток - наименования организации-производителя, названия компонента; объема препарата во флаконе, см³; даты выпуска, годен до (месяц, год), номера серии.

На каждую коробку наклеивают этикетку, на которой указывают: наименование и товарный знак организации-производителя, полное наименование набора, номер серии, номер контроля, активность, срок годности (месяц, год), условия хранения, обозначения настоящих технических условий, надпись: «Для ветеринарного применения». В каждую коробку вкладывают инструкцию по применению.

5. «Набор определения антител в сыворотке крови животных, вакцинированных против сибирской язвы, в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА)» хранят в темном, сухом месте при температуре от +2°С до +8°С. Набор пригоден для применения в течение 12 месяцев со дня изготовления.

Открытый эритроцитарный диагностикум можно использовать в течение 2-3 недель в условиях хранения при температуре +4° до +8°С.

Контрольные позитивную и негативную сыворотки крови кролика можно использовать в течение 3-4-х дней в условиях хранения при температуре от +4° до +8°С.

Флаконы с препаратами с изменением цвета, содержащие плесень, посторонние примеси, с нарушением целостности, а также с истекшим сроком годности бракуют.

Утилизацию компонентов диагностического набора после истечения срока годности, не выдержавших контрольных испытаний, проводят по ГОСТ 17.0.0.01.

II. ПРИНЦИП МЕТОДА

6. Механизм реакции непрямой гемагглютинации состоит в том, что эритроциты, на поверхности которых предварительно адсорбирован липополисахаридный комплекс, выделенный из культуры возбудителя сибирской язвы, приобретают способность агглютинироваться в присутствии гомологичных к нему антител. Эритроциты при этом выполняют роль носителей, агглютинация которых происходит в результате взаимодействия антиген-антитело.

III. ПОРЯДОК ПРИМЕНЕНИЯ

7. «Набор определения антител в сыворотке крови животных, вакцинированных против сибирской язвы, в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА)» применяют с целью оценки поствакцинального иммунитета у животных, привитых против сибирской язвы. Набор рассчитан на исследование 60 проб сывороток крови животных.

Для проведения исследований в лабораторию направляют не менее 10% проб крови, вакцинированных животных, в количестве не менее 5,0 см³. Для исследования используют сыворотки крови (не позднее 3-х суток с момента взятия). Мутные, проросшие и гемолизированные сыворотки для исследования не пригодны.

8. Подготовка к исследованию.

Для постановки реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) готовят физиологический раствор: к 1000,0 см³ дистиллированной воды добавляют 8,5 г натрия хлористого. Хранят не более 48 часов при температуре от +4°С до +8°С.

Флаконы с эритроцитарным антигенным диагностикумом и контрольными сыворотками крови животных тщательно просматривают на целостность. Содержимое флакона с эритроцитарным антигенным диагностикумом перед применением интенсивно встряхивают до получения однородной суспензии темно-коричневого цвета и вскрывают.

Содержимое флаконов, с лиофилизированными контрольными позитивной и негативной сыворотками крови кроликов при добавлении физиологического раствора, растворяется в течение 2-4 минут с образованием опалесцирующей жидкости от светло-желтого до кремового цвета.

Контрольные и испытуемые сыворотки крови инактивируют в водяной бане при +56°С - +58°С в течение 30 минут.

9. Порядок постановки РНГА.

РНГА ставят в объеме 0,2 см³ в U-образных макропанелях. Во все лунки макропанели многоканальной пипеткой вносят по 0,2 см³ физиологического раствора. В первые лунки рядов вносят пробы испытуемых и контрольных (позитивной и негативной) сывороток крови в объеме 0,2 см³ и последовательными переносами получают двукратные разведения. В последние лунки рядов контрольные сыворотки не вносятся – контроль на самоагглютинацию эритроцитарного антигена.

После приготовления соответствующих разведений сывороток во все лунки вносят 0,05 см³ (50 мкл) суспензии эритроцитарного антигенного диагностикума. Панели осторожно шуттелируют для смешивания компонентов реакции и оставляют при температуре от +10°С до +20°С на 1,5-2 часа.

Учет результатов исследования.

Учет реакции проводят визуально через 1,5-2 часа при полном оседании эритроцитов в контроле с негативной сывороткой крови и разбавителем в виде точки на дне лунки.

Результаты реакции оценивают по следующей схеме:

++++ - эритроциты ровным слоем покрывают все дно лунки, образуя картину "зонтика";

+++ - "зонтик" с загибающимися краями;

++ - "зонтик" со слабо выраженным кольцом по краю;

+ - выраженное кольцо эритроцитов на фоне слабовыраженного «зонтика»;

- - реакция отрицательная: на дне лунки компактная точка эритроцитов или кольцо с ровными краями.

Количественную оценку реакции выражают в титрах. Максимальное разведение сыворотки, способное вызвать агглютинацию эритроцитарного антигенного диагностикума, принимают за титр.

Оценку реакции проводят только при условии четких результатов, полученных в контролях.

В контрольных лунках с негативной сывороткой крови, а также в контроле на отсутствие самоагглютинации, эритроциты должны оседать в виде компактной точки.

Титр агглютинации эритроцитов контрольной позитивной сывороткой должен быть не ниже 1:64 (++++).

Результаты РНГА с испытуемыми сыворотками крови животных признают положительными при обнаружении агглютинации эритроцитарного антигенного диагностикума с оценкой не менее чем на «+++» креста, начиная с разведения сыворотки 1:8 и выше.

При положительной реакции в указанных разведениях считают, что животные имеют специфические антитела к возбудителю сибирской язвы.

IV. МЕРЫ ЛИЧНОЙ ПРОФИЛАКТИКИ

10. При работе следует соблюдать общие правила личной гигиены и техники безопасности, принятые при работе с потенциально инфицированным материалом.

11. Все лица, участвующие в проведении работ, должны быть вакцинированы против сибирской язвы, одеты в спецодежду (спецобувь, халат, брюки, головной убор, резиновые перчатки, марлевую повязку).

В местах работы должна быть аптечка доврачебной помощи.

12. Работу с компонентами набора следует проводить с соблюдением правил биологической безопасности.

В случае попадания компонентов набора на кожу и/или слизистые оболочки, их рекомендуется немедленно промыть большим количеством водопроводной воды с мылом.

13. Утилизацию компонентов диагностического набора после

истечения срока годности, не выдержавших контрольных испытаний, проводят по ГОСТ 17.0.0.01.

14. Запрещается прием пищи и воды, курение в помещении, где проводятся работы с компонентами набора.

Диагностический «Набор определения антител в сыворотке крови животных, вакцинированных против сибирской язвы, в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА)» хранят в местах, недоступных для детей.

Инструкция разработана: в ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», юридический и почтовый адрес: Россия, 420075, г. Казань, Научный городок-2, тел./факс (843)239-53-20, 239-71-33.

Организация-производитель: ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности»