



**ФЕДЕРАЛЬНОЕ КАЗЕННОЕ ПРЕДПРИЯТИЕ
«КУРСКАЯ БИОФАБРИКА - ФИРМА «БИОК»**
305004, РФ, г. Курск, ул. Разина, 5.
Тел. (4712) 70-06-70, факс (4712) 70-54-26

**СЫВОРОТКА САПНАЯ
ДЛЯ РЕАКЦИИ СВЯЗЫВАНИЯ
КОМПЛЕМЕНТА**

(из крови лошади)

ГОСТ 17407-2017

Для ветеринарного применения

Серия хх

Дата выпуска

Годен до

Титр 1:20

хххх

хххх

В коробке 20 флаконов по 2 см³. Во флаконе 2 см³ - 40 доз.

Отпускается без рецепта.
Применять согласно инструкции по применению.

Хранить в местах недоступных для детей.
Хранить в защищенном от света месте

при температуре от 2 °С до 15 °С.

Транспортировать всеми видами транспорта при
температуре не выше 25 °С в течение не более 20 суток.





УТВЕРЖДАЮ
Врио директора
ФКП «Курская биофабрика»

С.А. Шеметюк

«22» февраля 2023 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по ветеринарному применению сыворотки сапной
для реакции связывания комплемента

(Организация-разработчик: Федеральное казенное предприятие «Курская биофабрика – фирма «БИОК» (ФКП «Курская биофабрика»), РФ, 305004, г. Курск, ул. Разина, 5)

I. Общие сведения

1. Торговое наименование: Сыворотка сапная для реакции связывания комплемента.

Международное непатентованное наименование: Сыворотка сапная для реакции связывания комплемента.

2. Сыворотка сапная для реакции связывания комплемента (далее по тексту сыворотка сапная) лиофилизированна, изготовлена из сыворотки крови лошадей, иммунизированных инактивированной культурой *Burkholderia mallei* или сапным эмульсин – антигеном.

3. По внешнему виду сыворотка сапная представляет собой пористую аморфную массу серовато-желтого цвета, растворимую в физиологическом растворе. После растворения сыворотка представляет собой однородную опалесцирующую жидкость соломенно-желтого цвета, без механических примесей.

Срок годности сыворотки сапной – 3 года от даты выпуска, при условии соблюдения требований к хранению и транспортированию. После вскрытия флакона (ампулы) сыворотку сапную необходимо использовать в течение 7 суток при соблюдении условий хранения при температуре от плюс 2 °С до плюс 8 °С. По истечению срока годности сыворотка сапная не должна применяться.

4. Сыворотку сапную расфасовывают в объеме 2 см³ (40 доз), 4 см³ (80 доз) во флаконы (ампулы) вместимостью 10 см³. Флаконы с сывороткой сапной герметично укупоривают резиновыми пробками, обкатывают алюминиевыми колпачками, ампулы запаивают. Флаконы (ампулы) с сывороткой сапной упаковывают по 20 штук в картонные коробки или полистироловые коробки, или пачки с разделительными перегородками, обеспечивающими целостность флаконов (ампул). В каждую коробку с сывороткой сапной вкладывают инструкцию по ее применению. Допускаются иные виды упаковочных средств (в т.ч. импортные), разрешенные к применению в установленном порядке. Коробки (пачки) с сывороткой помещают в ящики из гофрированного картона (транспортную тару).

5. Сыворотку сапную хранят в защищенном от света месте при температуре от плюс 2 °С до плюс 15 °С.

Допускается транспортирование сыворотки сапной в упаковке организации-производителя при температуре не выше плюс 25 °С в течение не более 20 суток.

6. Сыворотку сапную следует хранить в местах, не доступных для детей.

7. Флаконы (ампулы) с сывороткой сапной без маркировки, с нарушением целостности и/или герметичности упаковки, с измененным внешним видом, с истекшим сроком годности, с наличием посторонних примесей бракуют, инактивируют кипячением в течение 30 минут и утилизируют любым доступным разрешенным методом.

Утилизация инактивированной сыворотки сапной не требует специальных мер предосторожности.

8. Отпускается без рецепта.

II. Биологические свойства

9. Сыворотка сапная представляет собой диагностический препарат.

10. Сыворотка сапная является компонентом в реакции связывания комплемента (РСК) при диагностике сапа у лошадей. Без антигена сапного сыворотка сапная не должна вызывать задержку гемолиза эритроцитов. Без антигена сапного и комплемента сыворотка сапная не должна вызывать гемолиз эритроцитов. В смеси с антигеном сапным сыворотка сапная должна вызывать задержку гемолиза эритроцитов. Активность (титр) сыворотки сапной должна быть не ниже 1:20.

Препарат не токсичен и не реактогенен.

III. Порядок применения

11. Сыворотка сапная для РСК предназначена для контроля специфической активности антигена сапного в реакции связывания комплемента при исследовании сыворотки крови животных на содержание антител к возбудителю сапа.

Исследования разрешается проводить только ветеринарным врачам и ветеринарным фельдшерам со специальным средним образованием под контролем ветеринарного врача.

12. Противопоказания для применения:

- запрещается применять сыворотку сапную во флаконах (ампулах) без маркировки, с нарушением целостности и/или герметичности, с измененным внешним видом, с истекшим сроком годности, при наличии посторонних примесей;

- запрещается применять инструменты, используемые для постановки реакции, для проведения других исследований.

13. Работы с сывороткой сапной должны проводиться с соблюдением правил предосторожности и личной гигиены с использованием средств индивидуальной защиты. При соблюдении указанных правил использование сыворотки сапной не представляет опасности для здоровья человека. Меры личной профилактики при проведении диагностических исследований с использованием сыворотки сапной сводятся к соблюдению санитарно-эпидемиологических правил и техники безопасности при работе с лекарственными средствами ветеринарного назначения. Все лица, участвующие в исследовании, должны быть одеты в спецодежду и обуты в спецобувь. В местах работы должна быть аптечка первой доврачебной помощи. В случае попадания сыворотки сапной на открытые участки тела или слизистые оболочки, их смывают проточной водопроводной водой.

14. Особенности проведения диагностики беременных животных и в период лактации не выявлено, на потомство влияния не оказывает.

15. Перед применением сыворотки сапной содержимое одного флакона (ампулы) растворяют физиологическим раствором в объеме указанном на флаконе.

Перед постановкой реакции связывания комплемента подготавливают следующие компоненты реакции:

- испытуемая сыворотка крови;
- антиген сапной для реакции связывания комплемента;
- сыворотка сапная для РСК (положительная сыворотка);
- сыворотка крови лошадей неспецифическая неконсервированная (отрицательная сыворотка);
- сыворотка гемолитическая для РСК;
- комплемент сухой для РСК;
- физиологический раствор;
- 2,5 %-ная взвесь эритроцитов барана в физиологическом растворе.

15.1 Титрование сыворотки гемолитической (гемолизина).

Титрование гемолизина проводят при использовании каждой новой серии и в дальнейшем ежегодно.

Из основного разведения гемолизина 1:100 (0,1 см³ гемолизина и 9,9 см³ физиологического раствора) готовят последующие разведения.

Таблица 1. Схема разведения гемолизина

Основное разведение гемолизина 1:100, см ³	Физиологический раствор, см ³	Полученное разведение гемолизина
0,2	0,8	1:500
0,1	0,9	1:1000
0,1	1,4	1:1500
0,1	1,9	1:2000
0,1	2,4	1:2500
0,1	2,9	1:3000

Затем по 0,2 см³ каждого разведения переносят в пробирки, в каждую пробирку добавляют по 0,2 см³ комплемента в разведении 1:20, 0,2 см³ 2,5 %-ной взвеси эритроцитов и 0,4 см³ физиологического раствора. Штатив с пробирками встряхивают и помещают в водяную баню на 10 мин при температуре от плюс 37 °С до плюс 38 °С.

Титром гемолизина считают наибольшее его разведение, при котором наблюдается полный гемолиз эритроцитов.

15.2 Приготовление гемолитической системы.

Гемолитическую систему готовят смешиванием в равных объемах 2,5 %-ной взвеси эритроцитов барана в физиологическом растворе и раствора сыворотки гемолитической, взятой в удвоенном титре (например, при титре гемолизина 1:1000 берут 2:1000, т.е. для приготовления 100 см³ гемолизина берут 0,2 см³ гемолизина из ампулы и разводят в 99,8 см³ физиологического раствора). Полученные 100 см³ раствора гемолизина приливают при постоянном помешивании к 100 см³ взвеси эритроцитов. Гемолитическую систему помещают в водяную баню при температуре от плюс 37 °С до плюс 38 °С на 20 минут для сенсibilизации эритроцитов.

15.3 Титрование комплемента.

Титрование комплемента проводят перед каждой постановкой реакции. Отбирают необходимое для данного объема исследований количество ампул (флаконов) с комплементом (из расчета 1 ампула или флакон на 100 пробирок реакции), растворяют препарат в физиологическом растворе, количество которого указано на ампуле (флаконе), сливают в одну емкость и перемешивают. Таким образом получают основной раствор комплемента, который хранят в холодильнике на протяжении постановки реакции. Из этого раствора готовят разведение 1:20 для титрования.

Комплемент титруют в бактериолитической системе, для чего положительную, отрицательную и 1-2 сыворотки из опыта разводят физиологическим раствором 1:10, инактивируют при температуре от плюс 60 °С до плюс 62 °С в течение 30 минут и разливают по 0,2 см³ каждую в два ряда пробирок.

Внесение остальных ингредиентов и условия титрования показаны в таблице 2 на примере отрицательной сыворотки, при этом во вторые ряды сывороток вместо антигена сапного вносят 0,2 см³ физиологического раствора.

При работе с аппаратом Флоринского для разведения комплемента берут дополнительный ряд пробирок, в которых делают те же разведения комплемента, но объем увеличивают в 10 раз. Затем разливателем Флоринского переносят по 0,2 см³ разведенного комплемента во все пробирки каждого ряда и вносят остальные ингредиенты, как указано в таблице 2.

Таблица 2. Схема титрования комплемента в бактериолитической системе (по первому ряду пробирок)

Компоненты реакции	Номера пробирок									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Отрицательная сыворотка в разведении 1:10	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Антиген сапной в рабочем разведении 1:100	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Комплемент 1:20	0,02	0,04	0,06	0,08	0,1	0,12	0,14	0,16	0,18	0,2
Физиологический раствор	0,18	0,16	0,14	0,12	0,1	0,08	0,06	0,04	0,02	0
Водяная баня 20 минут при температуре от плюс 37 °С до плюс 38 °С										
Гемолитическая система	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Водяная баня 20 минут при температуре от плюс 37 °С до плюс 38 °С										
Примерный результат	ЧГ	ЧГ	ЧГ	ЧГ	ПГ	ПГ	ПГ	ПГ	ПГ	ПГ
Дополнительный ряд пробирок для предварительного разведения комплемента										
Комплемент 1:20	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0	1,2	1,4	1,6	1,8	2,0
Физиологический раствор	1,8	1,6	1,4	1,2	1,0	0,8	0,6	0,4	0,2	0

Примечание: ЧГ – частичный гемолиз, ПГ – полный гемолиз.

Титром комплемента в бактериолитической системе считают минимальное количество его, необходимое для полного гемолиза эритроцитов барана в пробирках с отрицательной сывороткой и сыворотками из опыта с антигеном сапным и без антигена, а также в пробирках с сывороткой сапной без антигена при полной задержке гемолиза в пробирках с сывороткой сапной и антигеном сапным.

15.4 Приготовление комплемента.

Количество комплемента для главного опыта определяют по формуле:

$$X = T \times П / 20,$$

где X – количество комплемента, необходимое для главного опыта;

T – титр комплемента в бактериолитической системе;

П – количество пробирок в реакции;

20 – кратность разведения комплемента при титровании.

Например, в опыте 200 пробирок, титр комплемента (по табл. 2) – 0,1. Следовательно, количество его для проведения опыта:

$$0,1 \times 200 / 20 = 1,0 \text{ см}^3.$$

Необходимое количество разведенного комплемента для главного опыта равно 40 см³ (т.е. 0,2 см³ x 200). Следовательно, к 1,0 см³ основного раствора комплемента добавляют 39,0 см³ физиологического раствора.

15.5 Постановка главного опыта.

Каждую сыворотку крови, предварительно инактивированную, как указано в п. 15.3, исследуют в трех пробирках: без антигена сапного в разведении 1:5 (контроль сыворотки) и с антигеном в разведениях 1:5 и 1:10.

Для этого в первую и третью пробирку разливают физиологический раствор в количестве 0,4 см³ и 0,1 см³ соответственно. Затем в первую вносят 0,1 см³ испытуемой сыворотки, смешивают и переносят 0,2 см³ во вторую и 0,1 см³ – в третью пробирки.

В опытные пробирки вносят по 0,2 см³ антигена сапного в рабочем разведении 1:100, в контрольные – по 0,2 см³ физиологического раствора, во все пробирки – по 0,2 см³ комплемента в установленном титре. Штативы встряхивают и помещают в водяную баню на 20 мин при температуре от плюс 37 °С до плюс 38 °С.

Затем во все пробирки вносят по 0,4 см³ гемолитической системы, встряхивают и вновь помещают в водяную баню на 20 мин при температуре от плюс 37 °С до плюс 38 °С.

Одновременно ставят следующие контроли:

- положительная и отрицательная сыворотки в тех же разведениях, что и испытуемые с антигеном сапным и без антигена;
- антиген сапной без сыворотки (на антикомплемментарность);
- антиген сапной без сыворотки и комплемента (на гемотоксичность);
- гемолитическая система с физиологическим раствором.

При массовых исследованиях допускается постановка реакции в одной пробирке с разведением сыворотки 1:10 (0,02 см³ сыворотки и 0,18 см³ физиологического раствора). Сыворотки с задержкой гемолиза исследуют повторно, как указано выше.

15.6 Учет результатов реакции проводят дважды: непосредственно после последнего прогревания пробирок в водяной бане и на следующие сутки после хранения пробирок при температуре от плюс 4 °С до плюс 12 °С.

Сначала учитывают результаты контролей. Постановку реакции считают правильной, и проводят учет результатов, если полная задержка гемолиза будет в следующих контрольных пробирках: 1) с антигеном сапным без сыворотки (с комплементом), 2) с антигеном сапным без сыворотки и комплемента, 3) с гемолитической системой и физиологическим раствором без комплемента, 4) с положительной сывороткой, антигеном сапным и комплементом,

а полный гемолиз – 5) в пробирках с отрицательной сывороткой и антигеном сапным (с комплементом), 6) с сапной и отрицательной сыворотками без антигена сапного (с комплементом), 7) с антигеном сапным без сыворотки (с комплементом).

Реакцию учитывают по степени задержки гемолиза эритроцитов, которую определяют по шкале, приготовленной перед учетом реакции. Для этого содержимое трех-пяти пробирок с полным гемолизом сливают в одну, затем гемолизированную жидкость и физиологический раствор разливают в пробирки по следующей схеме:

Таблица 3.

Компоненты	Номера пробирок				
	1	2	3	4	5
Гемолизированная жидкость, см ³	1,0	0,75	0,5	0,25	0
Физиологический раствор, см ³	0	0,25	0,5	0,75	1,0
Процент гемолиза	100	75	50	25	0

В соответствии с этой шкалой устанавливают степень задержки гемолиза эритроцитов в каждой пробирке.

15.7 Реакцию оценивают в крестах в зависимости от процента гемолизированных эритроцитов:

- ++++ (4 креста) – полное отсутствие гемолиза;
- +++ (3 креста) – гемолиз 25 % эритроцитов;
- ++ (2 креста) – гемолиз 50 % эритроцитов;
- + (1 крест) – гемолиз 75 % эритроцитов;
- (минус) – полный гемолиз.

15.8 Диагностическим титром исследуемой сыворотки считают разведение ее 1:10. При задержке гемолиза эритроцитов в этом разведении сыворотки на ++++ и +++ реакцию считают положительной независимо от результатов реакции с сывороткой в разведении 1:5.

Реакцию считают сомнительной при задержке на ++ и + в разведении сыворотки 1:10 и ++++ или +++ в разведении сыворотки 1:5.

Во всех других случаях реакцию считают отрицательной.

16. Постановку реакции связывания комплемента проводят «in vitro» и реакция на организм животных влияния не оказывает.

17. Следует избегать нарушений схемы проведения реакции связывания комплемента и учета реакции, поскольку это может привести к получению ошибочных результатов.

18. Применение препарата согласно инструкции по применению исключает возможность взаимодействия с другими лекарственными препаратами и кормами.

19. Особенности проявления реакций при соблюдении техники ее постановки не установлено.

20. Несоответствие объемов смешиваемых компонентов может привести к ошибочным результатам реакции.

21. Препарат не оказывает действия на продукцию убоя сельскохозяйственных животных и ее используют в соответствии с действующими правилами ветеринарно-санитарной экспертизы.

Наименование и адрес производственной площадки производителя лекарственного препарата для ветеринарного применения:
ФКП «Курская биофабрика»
305004, Россия, г. Курск, ул. Разина, 5

Наименование и адрес организации, уполномоченный на принятие претензий от потребителя:
ФКП «Курская биофабрика»
305004, Россия, г. Курск, ул. Разина, 5