



УТВЕРЖДАЮ
Врио директора
ФКП «Курская биофабрика»

С.А. Шеметюк

«12» декабря 2022 г.

ИНСТРУКЦИЯ
ПО ВЕТЕРИНАРНОМУ ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ
БРУЦЕЛЛЕЗА ЖИВОТНЫХ МЕТОДОМ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ПОЛЯРИЗАЦИИ
(Организация-производитель: ФКП «Курская биофабрика»)

I ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

1. Торговое наименование: Набор для диагностики бруцеллеза животных методом флуоресцентной поляризации (далее – набор).

Международное непатентованное наименование: Набор для диагностики бруцеллеза животных методом флуоресцентной поляризации.

2. В состав набора входят следующие компоненты:

- **компонент № 1** – положительный контроль: сыворотка крови, содержащая бруцеллезные антитела, 1 см³ – 1 флакон;

- **компонент № 2** – отрицательный контроль: сыворотка крови, не содержащая бруцеллезных антител, 2 см³ – 1 флакон;

- **компонент № 3** – конъюгат (олигополисахаридный антиген S-бруцелл, меченный флюоресцеинизотиоцианатом – ОПС, меченный ФИТЦ), 1,5 см³ – 2 флакона;

- **компонент № 4** – концентрат (× 20) разбавителя образцов, 7,5 см³ – 2 флакона.

3. Компонент № 1 – прозрачная жидкость соломенно-жёлтого или красноватого цвета;

компонент № 2 – прозрачная жидкость соломенно-жёлтого или красноватого цвета;

компонент № 3 – прозрачная жидкость, допускается зеленоватая опалесценция

компонент № 4 – бесцветная жидкость, допускается опалесценция.

Компоненты набора расфасованы в маркированные стеклянные флаконы соответствующей вместимости, флаконы герметично укупорены резиновыми пробками и обкатаны алюминиевыми колпачками. Флаконы с компонентом № 3 обернуты фольгированной бумагой.

В каждую коробку вложена инструкция по применению набора.

Срок годности компонентов набора – 12 месяцев от даты выпуска.

По истечении срока годности набор не должен применяться.

4. Набор рассчитан на 250 проб. Компоновка набора допускает возможность дробного использования компонентов для проведения исследований в разное время по мере поступления биологического материала.

5. Хранить набор в защищённом от света месте при температуре от плюс 2 °С до плюс 8 °С.

Допускается транспортирование набора всеми видами крытого транспорта в упаковке производителя в условиях, исключающих замораживание и перегрев выше плюс 25 °С, в течение более 10 суток.

Не допускается замораживание компонентов!

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

7. При нарушении целостности и укупорки флаконов, изменении цвета компонентов, наличии посторонней примеси, при отсутствии этикеток, а также по истечении срока годности набор выбраковывают, компоненты инактивируют кипячением в течение 15 минут и утилизируют любым доступным разрешенным методом.

Утилизация инактивированных компонентов набора не требует специальных мер предосторожности.

8. Отпускается без рецепта.

II ПРИНЦИП МЕТОДА

9. Метод флуоресцентной поляризации (МФП) основан на изменении скорости вращения молекул в растворе в зависимости от размера молекулы. Молекулы с меньшей молекулярной массой вращаются быстрее, чем высокомолекулярные комплексы. Если молекула помечена флуорохромом флуоресцеинизотиоцианатом (ФИТЦ), можно измерить величину поляризации флуоресценции (mP - миллиполяризации). При связывании специфических антител, имеющих высокую молекулярную массу, с конъюгатом – низкомолекулярным олигополисахаридным антигеном S-бруцелл (ОПС), меченным ФИТЦ, образуются иммунные комплексы, молекулярная масса которых значительно выше молекулярной массы ОПС антигена. Это обеспечивает возможность регистрировать наличие бруцеллезных антител в исследуемом образце сыворотки по изменению поляризации флуоресценции: изменяется ориентация плоскополяризованного света после поглощения его флуорохромом и последующего излучения, то есть увеличивается поляризация излучаемого света из-за замедления вращения флуоресцирующего молекулярного комплекса антиген – антитело, и изменение сигнала можно использовать для обнаружения антител

Сущность метода заключается в выявлении в образце сыворотки крови животных специфических бруцеллезных антител. При отсутствии антител показатель поляризации низкий, при их наличии и связывании с конъюгатом он увеличивается.

10. Набор является диагностическим препаратом для ветеринарного применения.

III ПОРЯДОК ПРИМЕНЕНИЯ

11. Набор предназначен для диагностики бруцеллеза животных методом флуоресцентной поляризации.

12. Запрещено смешивать компоненты наборов разных серий. Исследования разрешается проводить только ветеринарным врачам и фельдшерам со специальным средним образованием под контролем ветеринарного врача.

13. Меры личной профилактики при проведении диагностических исследований с использованием набора сводятся к соблюдению санитарно-эпидемиологических правил и техники безопасности при работе с биологическим материалом. Все лица, участвующие в исследовании, должны быть одеты в спецодежду и спецобувь. В местах работы должна быть аптечка первой доврачебной помощи. В случае попадания компонентов набора и исследуемого материала на открытые участки тела или слизистые оболочки, их смывают большим количеством водопроводной воды с мылом.

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

15. Проведение исследования.

15.1. Для исследования используют сыворотки крови животных, без признаков гемолиза и бактериальной контаминации, объемом не менее 0,5 см³. Допускается хранение образцов при температуре от плюс 2 °С до плюс 8 °С в течение 72 ч или при температуре не выше минус 20 °С в течение 60 суток после их получения. Размораживать образцы сыворотки крови необходимо в водяной бане при температуре плюс 37,0 °С ± 0,5 °С. Не рекомендуется многократное замораживание и оттаивание образцов.

15.2. Для проведения МФП требуются автоматические пипетки переменного объема до 0,01; 0,2 и 1,0 см³ со сменными наконечниками, мерная лабораторная посуда, 10 × 75 мм пробирки из боросиликатного стекла, дистиллированная вода, бытовой холодильник, контейнер, мультитортекс, анализатор поляризации флуоресценции Sentry-100 («Ellie», США) или другой аналогичный для учета результатов МФП с учетом результатов при длинах волн $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ 495/530 нм.

Перед началом работы набор выдерживают 25–30 минут при температуре от плюс 18 °С до плюс 25 °С. После этого компонент № 4 может потерять прозрачность и опалесцировать, в дальнейшем при разбавлении примет первоначальный внешний вид.

Сразу после проведения анализа неиспользованные компоненты убирают в холодильник с температурой от плюс 2 °С до плюс 8 °С.

Перед началом работы составляют план проведения исследования.

15.3. Подготовка рабочих растворов.

Подготовка рабочего раствора разбавителя образцов. Компонент № 4 разбавляют дистиллированной водой в 20 раз и тщательно перемешивают (например, для получения 100 см³ промывочного буферного рабочего раствора к 5 см³ концентрата добавляют 95 см³ дистиллированной воды).

Компоненты набора №№ 1, 2 (положительный и отрицательный контроли) и № 3 (конъюгат) не требуют предварительной подготовки.

15.4. Постановка реакции.

В 10 × 75 мм пробирки из боросиликатного стекла вносят по 1 см³ рабочего раствора разбавителя образцов.

В пробирки вносят по 0,01 см³ каждой исследуемой пробы сыворотки крови, положительного контроля и в трех повторностях отрицательного контроля. Для внесения каждой пробы сыворотки крови используют новый наконечник.

Содержимое пробирок тщательно перемешивают на мультитортексе, инкубируют 3-30 минут при температуре от плюс 18 °С до плюс 25 °С.

После этого учитывают фоновые значения поляризации флуоресценции в 3-х пробирках с отрицательным контролем (компонентом № 2) и выбирают «Blank».

Далее во все пробирки вносят по 0,01 см³ конъюгата (компонента № 3), тщательно перемешивают на мультитортексе, инкубируют в течение 2-5 минут при температуре от плюс 18 °С до плюс 25 °С.

15.5. Учёт реакции и оценка результатов.

Результаты анализа учитывают инструментальным способом, измеряя для каждого образца величину поляризации на анализаторе поляризации флуоресценции.

15.5.1. Оценивают величины поляризации флуоресценции (mP – миллиполяризации), полученные в реакциях с компонентами №№ 1 и 2 (контрольными сыворотками крови):

результаты считают достоверными, если величина поляризации флуоресценции, полученная в реакции с компонентом № 1, выше 200 мП; для компонента № 2 получена средняя величина 70 – 95 мП.

15.5.2. Если значения величин поляризации флуоресценции, полученные в реакциях с компонентами №№ 1 и 2, не соответствуют указанным критериям, результаты считаются недостоверными и исследование проводят повторно.

15.5.3. Если значения величин поляризации флуоресценции, полученные в реакциях с компонентами №№ 1 и 2, соответствуют вышеуказанным критериям, то проводят оценку результатов реакций в пробирках с испытуемыми пробами сыворотки.

15.5.4. Полученные результаты сравниваются со средним значением отрицательного контроля.

Результаты считаются:

- положительными – при значении, превышающем среднее значение для отрицательного контроля (компонента № 2) на 20 мП (> 20 мП);

- отрицательными – при значении, не превышающем среднее значение показателя для отрицательного контроля (компонента № 2) на 10 мП (≤ 10 мП);

- сомнительными – при значении в интервале от 10 до 20 мП по сравнению со средним значением для отрицательного контроля (10 < мП ≤ 20).

15.5.5. При получении положительных и сомнительных результатов снова проводят исследование в двух повторностях. Если в обоих повторных тестах получают значения на 10 мП ниже среднего значения для отрицательного контроля, образец регистрируется как отрицательный. Если в каком-либо из повторных тестов значение остается в диапазоне от 10 до 20 мП по сравнению со средним значением для отрицательного контроля, образец регистрируется как

сомнительный. Если в обоих повторных тестах получены значения, превышающие среднее значение отрицательного контроля на 20 мП, образец считается положительным.

16. Следует избегать нарушений схемы проведения МФП и учета реакции, поскольку это может привести к получению ошибочных результатов.

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

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

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

20. Препарат не оказывает влияния на организм животного, так как не контактирует с ним.

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