



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

**АНТИГЕН САПНОЙ
ДЛЯ РЕАКЦИИ
СВЯЗЫВАНИЯ КОМПЛЕМЕНТА**

ГОСТ 17405-2016
Для ветеринарного применения
Раствор

Серия №
Дата производства: XX
Годеи до: XX.XXXX
XX.XXXX

В коробке 10 ампул по 1 см³ препарата.
В одной ампуле содержится 200 доз препарата.
Рабочее разведение 1:100.

Применять согласно инструкции.
Отпускается без рецепта.
Антиген хранят при температуре от 2 °С до 8 °С
в пределах срока годности.
Допускается транспортировать антиген при более высокой
температуре, но не более 25°С, при этом срок
транспортирования должен быть не более 10 суток.
Хранить в местах недоступных для детей.





УТВЕРЖДАЮ
Врио директора
ФКП «Курская биофабрика»

[Signature]
С.А. Шеметюк

02 февраля 2023 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по ветеринарному применению антигена сапного
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: Антиген сапной для реакции связывания комплемента.

Международное непатентованное наименование: Антиген сапной для реакции связывания комплемента.

2. Лекарственная форма – раствор.

Антиген сапной для реакции связывания комплемента (далее по тексту антиген) представляет собой экстракт инактивированной термически бактериальной массы из культуры *Burkholderia mallei*, предназначенной для реакции связывания комплемента (РСК) при диагностике сапа.

3. По внешнему виду антиген представляет собой прозрачную слегка опалесцирующую жидкость светло-желтого цвета, без осадка и механических примесей.

Срок годности антигена – 2 года от даты выпуска, при условии соблюдения требований к хранению и транспортированию. После вскрытия ампулы или флакона антиген необходимо использовать в течение 7 суток при соблюдении условий хранения при температуре от плюс 2 °С до плюс 8 °С.

По истечению срока годности препарат не должен применяться.

4. Антиген расфасовывают по 1 см³ (200 доз) в стерильные ампулы (флаконы) вместимостью 3 см³. Ампулы запаивают, флаконы укупоривают резиновыми пробками и обкатывают алюминиевыми колпачками.

Ампулы (флаконы) с антигеном по 10 штук упаковывают в картонные коробки или картонные пачки с разделительными перегородками или гнездами, обеспечивающими целостность ампул (флаконов). Допускаются другие виды упаковки, обеспечивающие сохранность антигена.

5. Антиген хранят в защищённом от света месте при температуре от плюс 2 °С до плюс 8 °С в пределах срока годности.

Антиген транспортируют всеми видами транспорта при температуре от плюс 2 °С до плюс 8 °С. Допускается транспортировать антиген при температуре не выше плюс 25 °С, при этом срок транспортирования должен быть не более 10 суток.

6. Антиген следует хранить в местах, не доступных для детей.

7. Антиген без маркировки, с нарушением целостности и/или герметичности упаковки, с измененным внешним видом, подвергшийся замораживанию, с истекшим сроком годности бракуют, инактивируют кипячением в течение 30 минут и утилизируют любым доступным разрешённым методом.

Утилизация инактивированного антигена не требует специальных мер предосторожности.

8. Отпускается без рецепта.

II. Биологические свойства

9. Антиген представляет собой диагностический препарат.

10. Без сыворотки сапной не должен вызывать задержку гемолиза эритроцитов. Без сыворотки сапной и комплемента не должен вызывать гемолиз эритроцитов. В смеси с сывороткой сапной должен вызывать задержку гемолиза эритроцитов и не вызывать ее в смеси с отрицательной сывороткой. Активность антигена должна быть не ниже 1:100.

Антиген не токсичен.

III. Порядок применения

11. Антиген предназначен для использования в реакции связывания комплемента при серологической диагностике сапа.

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

12. Противопоказания для применения:

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

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

13. Работы с антигеном должны проводиться с соблюдением правил предосторожности и личной гигиены с использованием средств индивидуальной защиты. При соблюдении указанных правил использование антигена не представляет опасности для здоровья человека. Меры личной профилактики при проведении диагностических исследований с использованием антигена 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 антигена 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 антигена содержимое одной ампулы (флакона) растворяют в 99 см³ физиологического раствора (рабочее разведение 1:100).

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 гемолитической сыворотки (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 гемолитической сыворотки, 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 сенсибилизации 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.

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.

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.

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, 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