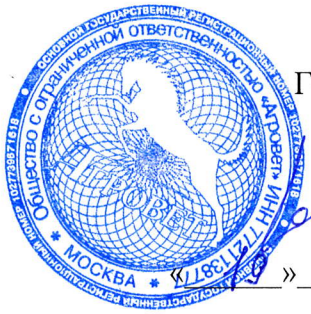

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ООО «Агровет»

Д.А. Девришов

«___» 01 2021 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора для серологической диагностики парагриппа -3 крупного рогатого скота в реакции в реакции торможения гемагглютинации (РТГА)

(Организация-разработчик - ООО «Агровет», 109472 г. Москва, ул. Ташкентская д.34, корп. 5).

Описание

Действующим началом диагностического набора является антиген вируса парагриппа-3 концентрированный твин-эфиром.

Форма выпуска Диагностический набор выпускается в жидком виде

Состав

В состав набора входят следующие компоненты:

- гемагглютинирующий антиген к вирусу ПГ-3 - 1 флакона в объеме 2,0 $см^3$;
- специфическая сыворотка к вирусу ПГ-3 – 1 флакона в объеме 1,0 $см^3$;
- контрольная сыворотка - 1 флакона в объеме 1,0 $см^3$.

Показания для применения

Набор предназначен для выявления антител к вирусу парагриппа -3 крупного рогатого скота в реакции торможения гемагглютинации.

Способ применения

В качестве анализируемых образцов используют образцы сыворотки крови от больных и переболевших животных в начале заболевания и через 3-4 недели.

Для проведения исследований направляют не менее 15-20 проб сывороток.

Сыворотки хранят в условиях, предотвращающих бактериальный пророст при температуре от 2 до 8° С не более 15 дней.

Для более длительного хранения (до 2 месяцев) возможно добавление борной кислоты в качестве консерванта (2-3 кристаллика на 1 $см^3$ сыворотки). Диагностическая гипериммунная сыворотка после растворения может храниться при температуре 2 – 8 ^oC в пробирке под резиновой пробкой до 10 дней.

Допускается хранение сывороток при минус 20^oC в течение года, перед исследованием их размораживают при комнатной температуре.

Парные сыворотки должны исследоваться одномоментно (независимо от результатов первого исследования), для этого первая сыворотка до исследования должна храниться в замороженном виде.

Образцы сывороток с выраженным гемолизом, бактериальным проростом, а также длительно хранившихся без замораживания или повторно замораживаемых не допускается. Все исследуемые образцы должны быть идентифицированы (промаркированы).

Маркировка компонентов

На флаконы с компонентами наклеивают этикетки с указанием: наименование организация-производителя; ее адрес и товарный знак; наименование компонента; объем во флаконе, номер серии, дата выпуска; рабочее разведения компонента; срок годности; обозначения СТО.

Флаконы согласно комплектации, упаковывают в картонные коробки по ГОСТ 33781 или пластиковые (полистироловые) контейнеры с разделительными перегородками, обеспечивающими их неподвижность и целостность.

В каждую коробку вкладывают инструкцию по применению диагностического набора. На каждую упаковку с набором флаконов наклеивают этикетку, на которой должны быть указаны: наименование организации-производителя; ее адрес и товарный знак, телефон, наименование компонентов, количество флаконов в коробке; номер серии; дата выпуска (месяц, год), срок годности (месяц, год), количество определений; условия хранения, обозначение СТО.

Один комплект рассчитан на 100 определений исследуемых проб микро методом в РТГА, включая контроли.

Срок годности набора 12 месяцев с даты выпуска при условии хранения при температуре от -20 °С. От 2 до 8 °С 10 дней. Допускается замораживание набора.

Подготовка компонентов и растворов для РТГА

Проверка титра антигена. Во все лунки микро панели вносят по 0,05 $см^3$ физиологического раствора рН 7,2-7,4. В первые лунки каждого ряда вносят по 0,05 $см^3$ антигена и титруют для двукратного разведения от 1:2 до 4096. Затем во все лунки вносят по 0,05 $см^3$ 1% суспензии эритроцитов морской свинки. Кровь берут у морской свинки из сердца, в колбу с 1% взвесью лимоннокислого натрия на физиологическом растворе рН 7,2-7,4. Отмывают эритроциты на физиологическом растворе рН7,2-7,4 и готовят 1% взвесь.

Проверка 4АЕ антигена

Титр антигена делят на 4 (например: если титр 512:4=128, значит антиген необходимо развести в 128 раз). Для этого берут 1,0 $см^3$ антигена и 127,0 $см^3$ физиологического раствора рН 7,2-7,4. Хорошо взбалтывают.

Для проверки 4АЕ во все лунки вносят физиологический раствор pH 7,2-7,4 по 0,05 $см^3$. Далее в первые лунки каждого ряда вносят заранее разведенный антиген, титруют и во все лунки вносят 1% взвесь эритроцитов морской свинки, встряхивают и оставляют при комнатной температурена 2 часа.

Для проведения диагностических исследований исследуемую сыворотку крови разводят 1:4 дистиллированной водой переносят в стерильную пробирку и прогревают 30 минут при температуре 56 □С.

Выполнения анализа

Реакцию торможения гемагглютинации проводят микро методом в полистироловых планшетах с U-образными лунками для иммунологических реакций однократного применения.

В лунки микро панели вносят по 0,05 $см^3$ физиологического раствора pH 7,2-7,4. В первые лунки каждого ряда вносят исследуемые сыворотки в количестве 0,05 $см^3$. На каждую исследуемую сыворотку необходимо два ряда лунок. Последующими переносами получают двукратные разведения сывороток от 1:2 до 4096. Затем в каждую лунку вносят антиген (4АЕ), панель встряхивают и оставляют на 60 минут при температуре 37 °С.

Через 60 минут - во все лунки вносят по 0,05 $см^3$ 1% взвеси эритроцитов морской свинки, встряхнуть и оставляют при комнатной температуре на 2-3 часа.

Реакцию сопровождают следующим контролями

а) контроль на отсутствия спонтанной агглютинации физиологический раствор + эритроциты морской свинки.

б) контроль физиологический раствор + отрицательная сыворотка + эритроциты морской свинки.

в) контроль физиологический раствор+специфическая сыворотка + эритроциты морской свинки.

Разведенный антиген храниться при температуре 2-8 °С - 24 часа, а неразведенный в морозильной камере (20 °С) до 1 года.

Учет реакции и интерпретация результатов

Учет реакции проводят через 3 часа. За титр антител в РТГА принимают наивысшее разведение сыворотки, дающее четкое торможение агглютинации (пуговица). Положительной является сыворотка, дающая в РТГА титры 1:16 и выше.

а) контрольных лунках физиологический раствор + эритроциты морской свинки – реакция должна быть отрицательной.

б) в контрольных лунках физиологический раствор + отрицательная сыворотка + эритроциты морской свинки титр должен быт не более 1:8».

в) в контрольных лунках физиологический раствор + специфическая сыворотка + эритроциты морской свинкититр должен быть не ниже 1-128»

Увеличение титров в парных сыворотках в четыре раза и выше, а также увеличение числа серо позитивных сывороток, свидетельствует о наличии инфекции.

Порядок предъявления рекламации

В случае несоответствия диагностического набора требованиям, указанным в настоящей инструкции, а также его неэффективности, применение данной серии препарата прекращают. Контроль набора диагностического, поступающей по рекламациям проводит организация-производитель.

Меры предосторожности при применении

При проведении исследований необходимо:

- работать в боксированных помещениях для проведения микробиологических исследований с применением индивидуальных средств защиты (защитной одежды и одноразовых резиновых перчаток);

- следует избегать контакта компонентов с кожей и слизистыми, а при попадании на них незамедлительно промыть большим количеством воды.

- не пипетировать ртом

- в случае пролива образцов и рабочих растворов на рабочие поверхности, необходимо проводить дезинфекционную обработку с использованиемдезинфицирующих средств, эффективность которых подтверждена в отношении используемого в работе возбудителя;

- инструменты и оборудование (до и после работы) подвергать обработке с использованием 70 % этилового спирта или дезинфицирующих средств,эффективность которых подтверждена в отношении используемого в работе возбудителя;

- остатки испытуемых сывороток, полистироловые планшеты после учета результатов обеззараживают путем погружения в 3% раствор хлорамина на 5 часов или автоклавирования при 0,5 атм. в течение 30 минут.

- остатки гемантигена не требуют особых условий утилизации и могут быть вылиты в канализацию.

Инструкция по применению набора для серологической диагностики парагриппа - 3 крупного рогатого скота в реакции торможении гемагглютинации (РТГА)
разработана ООО «Агровет»
(109472 Москва, ул. Ташкентская, д.34, кор.5.)