




УТВЕРЖДАЮ
Директор
ФКП «Курская биофабрика»


В.М. Безгин
«17» _____ 2017 г.

Инструкция по применению набора для серологической диагностики лейкоза крупного рогатого скота

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

I ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ

- 1 Набор для серологической диагностики лейкоза крупного рогатого скота (КРС).
- 2 Состав набора.

Наименование компонентов	Содержание ингредиента в единице упаковки	Количество единиц препарата в одном наборе			
		1 вариант	2 вариант	3 вариант	4 вариант
1	2	3	4	5	6
1 Антиген ВЛ	5,0 см ³	4	1	4	16
2 Разбавитель антигена ВЛ	5,0 см ³	4	1	4	1
3 Специфическая преципитирующая сыворотка - СПС	10,0 см ³	4	1	4	1
4 Отрицательная сыворотка - ОКС	0,5 см ³	1	-	-	-
5 Положительная контрольная сыворотка - ПКС	0,5 см ³	1	-	-	-
6 Слабоположительная контрольная сыворотка - СПКС	0,5 см ³	1	-	-	-
7 Положительная контрольная сыворотка с антителами к р24 антигену ВЛ – ПКСр24	0,5 см ³	1	-	-	-
8 Смесь солевая агаровая - ССА	18,6 г	4	1	4	1
9 Разбавитель ССА	20,0 см ³	4	1	4	1

Набор выпускают в четырех вариантах комплектации. Варианты I и III рассчитаны на проведение 1000 исследований, вариант II на 250 исследований, вариант IV рассчитан на 4000 исследований. Комплектация наборов по вариантам осуществляется по согласованию с потребителем.

3 Антиген вируса лейкоза – лиофилизированная гомогенная аморфная масса светлорычного цвета с красноватым оттенком. При добавлении разбавителя в объеме, соответствующем объему антигена до высушивания, содержимое флакона полностью

растворяется в течение 10 минут без хлопьев и осадка и представляет собой опалесцирующую жидкость темно-красного цвета.

Специфическая преципитирующая сыворотка (СПС) – прозрачная слегка опалесцирующая жидкость светло-желтого цвета или с розоватым оттенком. Допускается наличие небольшого осадка белка, легко разбивающегося при встряхивании.

Разбавитель антигена вируса лейкоза КРС – прозрачная бесцветная жидкость, без механических примесей.

Контрольные сыворотки: ОКС, ПКС, СПКС и ПКС р24 представляют собой прозрачные жидкости светло-желтого цвета или бесцветные, образующие пену при встряхивании.

Смесь солевая агаровая (ССА) представляет собой сухую смесь, содержащую два типа частичек: порошок агара и кристаллы хлористого натрия.

Разбавитель ССА – прозрачная бесцветная жидкость.

4 Антиген вируса лейкоза КРС и разбавитель антигена вируса лейкоза расфасовывают по 5 см³, а СПС – по 10 см³ во флаконы вместимостью 10 см³. Смесь солевую агаровую и разбавитель смеси солевой агаровой расфасовывают соответственно по 18,6 г и по 20 см³ во флаконы вместимостью 20 см³. Флаконы плотно закрывают резиновыми пробками и обкатывают алюминиевыми колпачками.

Контрольные сыворотки (ОКС, ПКС, СПКС и ПКС р24) расфасовывают по 0,5 см³ во флаконы вместимостью 10 см³ или в ампулы вместимостью 2 см³. Ампулы запаивают, флаконы укупоривают резиновыми пробками и обкатывают колпачками.

5 Маркированные флаконы устанавливают в маркированные картонные коробки с разделительными перегородками, или любые другие обеспечивающими их целостность.

6 Срок годности набора 2 года с даты изготовления при соблюдении условий хранения.

Хранить набор в сухих, закрытых и темных местах при температуре от 2 °С до 8 °С.

Транспортируют набор всеми видами крытого транспорта в условиях, исключающих замораживание и перегрев выше 25 °С, в течение не более 15 суток.

В каждую коробку вкладывают инструкцию по применению набора.

По истечении срока годности препарат не должен применяться.

7 Набор следует хранить в местах, недоступных для детей.

II ПРИНЦИП МЕТОДА

8 Принцип реакции иммунодиффузии заключается в том, что антигены и антитела, помещенные в лунки, диффундируют в геле агара и при взаимодействии образуют комплекс, который проявляется в виде линии преципитации.

III ПОРЯДОК ПРИМЕНЕНИЯ

9 Набор для серологической диагностики лейкоза крупного рогатого скота применяется для исследования сывороток крови в реакции иммунодиффузии (РИД) в геле агара с целью выявления антител против гликопротеидного антигена вируса лейкоза (ВЛ) крупного рогатого скота.

10 Для постановки РИД необходимо: смесь солевую агаровую, содержащуюся в одном флаконе, перенести в стеклянную колбу вместимостью 500 см³, прилить 20 см³ разбавителя смеси солевой агаровой (содержимое одного флакона) и 180 см³ дистиллированной воды (или воды очищенной). Колбу поставить на кипящую водяную баню и выдержать до полного расплавления агара. В каждую чашку ЧБН внести по 12,5 см³ расплавленного агара. При комплектации наборов по IV варианту реакцию иммунодиффузии проводить в 1 % агаровом геле, приготовленном на фосфатно-буферном растворе с рН 7,2-7,6. Чашки оставить в течение часа с приоткрытыми крышками. При помощи штампа сделать отверстия (лунки) в геле агара, не допуская отслоения геля от дна чашки.

11 В каждой чашке прорезать по 4 фигуры, каждая из которых состоит из 7 лунок (одна в центре, остальные 6 – по периферии). Диаметр каждой лунки 7 мм, расстояние между

центральной и периферическими лунками – 3 мм. Образовавшиеся диски геля удалить из лунок канюлей, соединенной с вакуумным насосом (или любым другим способом).

12 Лиофилизированный антиген ВЛ КРС во флаконе растворить в 5,0 см³ соответствующего разбавителя (или 0,85 % раствор натрия хлорида). Антиген растворяется в течение 10 минут без хлопьев и осадка. Растворенный антиген вносят в центральные лунки каждой фигуры.

13 Заполнение периферических лунок СПС можно проводить по одной из схем, приведенных на рис. 3 и рис. 4. СПС вносят в две диаметрально расположенные периферические лунки (1 вариант постановки РИД – рис. 4) или в 3 периферические лунки, расположенные через одну (2 вариант постановки РИД – рис.3). При выборе заполнения периферических лунок следует учитывать, что 2 вариант расположения лунок облегчает выявление слабоположительных испытуемых сывороток, однако количество исследований одним и тем же объемом антигена сокращается на 25 процентов по сравнению с 1 вариантом.

14 Чашки закрыть крышками и инкубировать при температуре (20-26) °С. Через 48 часов осуществить учет реакции в направленном луче света осветителя ОИ-19 или любого другого средства.

15 При оценке результатов реакции с испытуемыми сыворотками, прежде всего устанавливают специфичность образовавшихся линий преципитации. Специфической считают линию преципитации, которая образуется между лункой с испытуемой сывороткой и антигеном и плавно сливается с контрольной линией, т.е. идентична ей (рис.1). Неспецифической считают линию преципитации, которая формируется между лунками с испытуемой сывороткой и антигеном, но не сливается с контрольной линией преципитации, а пересекает ее или упирается в нее, образуя иногда шпору рис. 2 (реакция неидентичности).

В зависимости от наличия в испытуемых сыворотках специфических антител против вируса лейкоза крупного рогатого скота и формой образовавшихся линий преципитации реакцию оценивают как «отрицательная» или как «положительная».

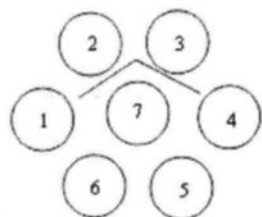


Рис. 1

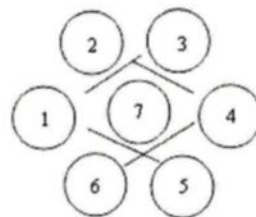


Рис. 2

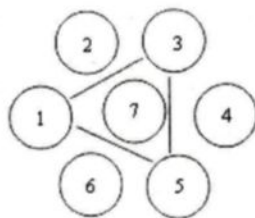


Рис. 3

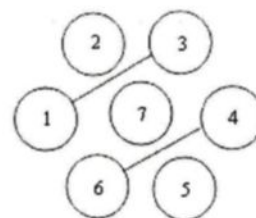


Рис. 4

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

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

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

19 Постановка реакции иммунодиффузии происходит «in vitro» и на организм животных влияния не оказывает.

IV МЕРЫ ЛИЧНОЙ ПРОФИЛАКТИКИ

20 При работе с набором следует соблюдать общие правила личной гигиены и техники безопасности, предусмотренные при работе с лекарственными препаратами для ветеринарного применения.

21 Все лица, участвующие в серологическом исследовании, должны быть одеты в спецодежду (халат, головной убор). В местах работы должна быть аптечка первой доврачебной помощи.

22 При попадании компонентов набора на кожу и/или слизистые оболочки их рекомендуется промыть водопроводной водой.

23 Организация – производитель – ФКП «Курская биофабрика» (305004, РФ, г. Курск, ул. Разина, 5).

Адрес места производства ФКП «Курская биофабрика» (305004, РФ, г. Курск, ул. Разина, 5).

Наименование и адрес организации
уполномоченной на применение претензий
от потребителя

Федеральное казенное предприятие
«Курская биофабрика – фирма БИОК»
305004, РФ, г. Курск, ул. Разина, 5.