

СОГЛАСОВАНО
Директор
ФГБУ «ВГЭИ»



И.В. Крамаренко

2015 г.

УТВЕРЖДАЮ



Директор
«ФКП «Курская биофабрика»

В.М. Безгин

2015 г.

Инструкция
по применению набора для диагностики бруцеллеза животных
в реакции иммунодиффузии

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

I ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ

- 1 Набор для диагностики бруцеллеза животных в реакции иммунодиффузии (РИД).
- 2 В состав набора входят следующие компоненты:

№№	Наименование компонента	Содержание компонента в единице упаковки	Количество упаковок в наборе	
			Вариант № 1	Вариант № 2
1	Антиген бруцеллезный олигополисахаридный (ОПС антиген)	4,0 см ³	1	1
2	Сыворотка бруцеллезная преципитирующая (СБП)	4,0 см ³	1	1
3	Агар	6,4 г	–	1
4	Хлористый натрий	17 г	–	4
5	Смесь солевая агаровая (ССА)	18,6 г	4	–
6	Разбавитель ССА	20,0 см ³	4	–

Комплектация набора осуществляется по согласованию с потребителем.

Набор рассчитан на исследование 1000 проб сыворотки крови животных, независимо от комплектации.

3 Внешний вид компонентов:

- ОПС антиген – прозрачная бесцветная слегка опалесцирующая жидкость. Допускается наличие желтоватого оттенка;

- СБП – опалесцирующая жидкость светло-желтого цвета, иногда с розоватым оттенком. Допускается наличие незначительного осадка, легко разбивающегося при встряхивании;

- Агар – порошок желтого или светло-кремового цвета, допускается наличие сероватого оттенка;

- Хлористый натрий – кристаллический порошок белого цвета;

- Смесь солевая агаровая (ССА) – сухая смесь, содержащая порошок агара и кристалл хлористого натрия;

- Разбавитель ССА – прозрачная бесцветная жидкость.

4 ОПС антиген и СБП расфасованы по 4 см³ во флаконы вместимостью 10 см³, ССА разбавитель ССА – соответственно по 18,6 г и по 20 см³, агар и хлористый натрий – соответственно по 6,4 г и 17 г во флаконы вместимостью 20 см³.

Флаконы с компонентами набора укупорены резиновыми пробками, укрепленными металлическими колпачками.

На флаконы нанесена маркировка или наклеены этикетки с указанием: наименования организации-производителя, ее товарного знака, наименования компонента, количества компонента во флаконе, номера серии, даты изготовления (месяц, год), срока годности (месяц, год), надписи «Для ветеринарного применения».

Флаконы упакованы в картонные коробки с разделительными перегородками, обеспечивающими их целостность.

В каждую коробку вложена инструкция по применению набора.

На коробку нанесена маркировка с указанием: наименования организации-производителя ее товарного знака и адреса, наименования набора, количества компонентов в наборе, количества компонента во флаконе, количества исследований, номера серии, даты изготовления (месяц, год), окончания срока годности (месяц, год), условий хранения, условий применения, штрихового кода, наименования ИД и надписи «Для ветеринарного применения».

5 Срок годности набора – 2 года с даты изготовления при условии хранения в сухом месте при температуре от 2 °С до 8 °С.

Допускается транспортирование набора при температуре до 25 °С в течение не более 15 суток.

6 Набор хранят в местах недоступных для детей.

7 Флаконы с компонентами набора без маркировки, с истекшим сроком годности, при нарушении целостности или укупорки, изменении внешнего вида и цвета подлежат выбраковке и кипячению в течение 30 минут. Утилизация компонентов набора, подвергшихся кипячению, не требует соблюдения специальных мер предосторожности.

II БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

8 Принцип реакции иммунодиффузии заключается в том, что растворимый антиген и гомологичные ему антитела, внесенные в лунки в геле агара, диффундируют и при взаимодействии образуют нерастворимый комплекс, который визуально проявляется в виде линии преципитации.

III ПОРЯДОК ПРИМЕНЕНИЯ

9 Набор предназначен для исследования сыворотки крови крупного и мелкого рогатого скота (овец и коз), северных оленей в реакции иммунодиффузии в геле агара с целью выявления специфических антител против ОПС антигена.

9.1 Применение набора при диагностике бруцеллеза крупного рогатого скота

9.1.1 Применение набора в благополучных по бруцеллезу крупного рогатого скота хозяйствах, где вакцины против бруцеллеза не применяют:

- при плановых исследованиях одновременно с РА (РА и РИД);
- для исследования сыворотки крови животных, сомнительно реагирующих в РА или РСК (РДСК), ИФА и других реакциях, утвержденных в установленном порядке;
- для дифференциации неспецифических реакций, обусловленных грамотрицательными бактериями, имеющими антигенное сходство с бруцеллами, в частности, иерсиниями.

9.1.2 Применение набора в благополучных по бруцеллезу крупного рогатого скота хозяйствах, где проводится иммунизация животных слабоагглютинирующими вакцинами против бруцеллеза:

- при плановых исследованиях одновременно с РА (РА и РИД);
- при контроле эпизоотического состояния животных по бруцеллезу через 1,5 месяца после иммунизации;
- для дифференциации реакций, полученных в РА (не выше 200 МЕ) или (и) РСК (РДСК) не выше, чем в разведении 1:10;
- для дифференциации неспецифических реакций, обусловленных грамотрицательными бактериями, имеющими антигенное сходство с бруцеллами, в частности, иерсиниями.

9.1.3 Применение набора в неблагополучных по бруцеллезу крупного рогатого скота хозяйствах:

- через 1,5 месяца и далее ежемесячно после иммунизации или очередной реиммунизации слабоагглютиногенными бруцеллезными вакцинами с целью раннего и более полного выявления больных бруцеллезом животных;

- через 6 месяцев после иммунизации (реиммунизации) животных в комплексе с другими реакциями, предусмотренными нормативными документами по диагностике, профилактике и борьбе с бруцеллезом;

- при снятии с хозяйств ограничений по бруцеллезу одновременно с РА или РСК (РДСК) и другими реакциями, утвержденными в установленном порядке.

9.2 Применение набора при диагностике бруцеллеза северных оленей

9.2.1 В благополучных по бруцеллезу хозяйствах, где бруцеллезные вакцины не применяют:

- при плановых исследованиях одновременно с РА (РА и РИД);

- для исследования сыворотки крови животных, сомнительно реагирующих в РА или РСК (РДСК), ИФА и других реакциях, утвержденных в установленном порядке;

- для дифференциации неспецифических реакций, обусловленных грамотрицательными бактериями, имеющими антигенное сходство с бруцеллами, в частности, иерсиниями.

9.2.2 В благополучных по бруцеллезу хозяйствах, где животных иммунизируют против бруцеллеза слабоагглютиногенными вакцинами:

- для оценки эпизоотического состояния по бруцеллезу не ранее чем через 2 месяца после иммунизации;

- при плановых исследованиях животных одновременно с РА (РА и РИД), но не ранее, чем через 6 месяцев после иммунизации;

- для дифференциации сомнительных реакций в РА или (и) РСК (РДСК);

- для дифференциации неспецифических реакций, обусловленных грамотрицательными бактериями, имеющими антигенное сходство с бруцеллами, в частности, иерсиниями.

9.2.3 В неблагополучных по бруцеллезу хозяйствах:

- с целью раннего выявления больных бруцеллезом животных, но не ранее, чем через 2 месяца после иммунизации против бруцеллеза слабоагглютиногенными вакцинами;

- при снятии ограничений с хозяйства одновременно с РА или РСК (РДСК) или ИФА и другими реакциями, утвержденными в установленном порядке.

9.3 Применение набора при диагностике бруцеллеза овец и коз

9.3.1 В благополучных по бруцеллезу мелкого рогатого скота хозяйствах, где противобруцеллезные вакцины не применяют:

- при плановых исследованиях одновременно с РА (РА и РИД);

- при исследовании сыворотки крови животных, сомнительно реагирующих в РА или РСК (РДСК), ИФА и другими реакциями, утвержденными в установленном порядке;

- для дифференциации неспецифических реакций, обусловленных грамотрицательными бактериями, имеющими антигенное сходство с бруцеллами, в частности, иерсиниями.

9.3.2 В благополучных по бруцеллезу мелкого рогатого скота хозяйствах, где проводится иммунизация животных агглютиногенными бруцеллезными вакцинами:

- не ранее, чем через 5 месяцев после однократной иммунизации овец и коз;

- для дифференциации неспецифических реакций, обусловленных грамотрицательными бактериями, имеющими антигенное сходство с бруцеллами, в частности, иерсиниями.

9.3.3 В неблагополучных по бруцеллезу мелкого рогатого скота хозяйствах:

- с целью выявления больных бруцеллезом животных не ранее, чем через 5 месяцев после однократной иммунизации агглютиногенными вакцинами;

- при снятии ограничений с неблагополучных по бруцеллезу хозяйств одновременно с РА и РСК (РДСК) или ИФА и другими реакциями, утвержденными в установленном порядке.

10 Подготовка к проведению исследования

10.1 При использовании набора в комплектации вариант № 1 в стеклянную колбу вместимостью 500 см³ вносят ССА, содержащуюся в одном флаконе, 20 см³ разбавителя ССА (содержимое одного флакона) и 180 см³ дистиллированной воды.

10.2 При использовании набора в комплектации вариант № 2 в стеклянную колбу вместимостью 500 см³ вносят 17 г хлористого натрия, 1,6 г сахара и 200 см³ воды дистиллированной.

10.3 Колбу закрывают пергаментной бумагой, фольгой и т.п. и помещают в водяную баню, которую также накрывают тем же материалом с целью равномерного прогревания.

Колбу выдерживают в водяной бане в течение 45 минут с момента закипания воды. Готовый плавильный агар вносят в чашки Петри по 15 см³ - 20 см³ и оставляют их с приоткрытыми крышками в течение 2 часов. После застывания агара чашки закрывают крышками и используют для работы или хранят в холодильнике при температуре 4 °С - 8 °С в течение не более 7 суток.

11 В геле агара в чашках Петри с помощью штампа прорезают лунки: центральную диаметром 3 мм и шесть периферических (по окружности) диаметром - 5 мм. Расстояние между центральной и периферическими лунками - 5 мм. Диски геля удаляют с помощью вакуума или водоструйного насоса, или другим способом. В одной чашке можно до 42 проб сывора крови.

12 Для исследования используют сыворотки крови животных неконсервированные и консервированные.

Неконсервированные сыворотки пригодны для исследования в течение 6 суток после отбора крови при условии их хранения при температуре 4 °С - 8 °С.

Сыворотки, консервированные фенолом или борной кислотой, пригодны для исследования в течение 30 суток; замороженные сыворотки - в течение 3 суток после однократного оттаивания. Мутные, проросшие, гемолизированные сыворотки исследованию не подлежат.

13 Постановка реакции

В центральную лунку вносят 0,02 см³ ОПС антигена, в периферические - по 0,04 см³ исследуемой сывора крови.

В каждой чашке ставят контроль с СБП.

Чашки Петри после внесения компонентов реакции закрывают крышками и помещают в влажную камеру (эксикатор) при температуре 18 °С - 26 °С.

14 Учет результатов

Учет результатов проводят визуально в косом проходящем свете через 24 и 48 часов по постановке реакции.

Линии преципитации, сформировавшиеся между лункой с антигеном и исследуемой сывора кровью через 24 часа свидетельствуют о положительной реакции.

Допускается смещение линии преципитации к лунке сывора кровью, что обусловлено высокой молекулярной массой ОПС антигена.

Сыворотки крови, при исследовании которых линии преципитации появляются через 48 часов, исследуют повторно.

Линии преципитации, сформировавшиеся при перестановке реакции через 24 - 48 часов свидетельствуют о положительной реакции.

Диагностическую оценку результатов исследования проводят в случае получения положительной реакции в контроле с СБП.

15 Диагностическая оценка

При положительном результате РИД животное считают больным бруцеллезом.

IV МЕРЫ ЛИЧНОЙ ПРОФИЛАКТИКИ

16 При работе с набором необходимо соблюдать общие правила личной гигиены.

17 Не допускается прием пищи и воды, курение в помещении, где проводятся работы с компонентами набора.

18 При попадании компонентов набора на кожу и/или слизистые оболочки их промывают чистой водой.

Организация-производитель ФКП «Курская биофабрика», РФ, 305004, г. Курск, ул. Разина, 5

Инструкция разработана ФКП «Курская биофабрика», РФ, 305004, г. Курск, ул. Разина, 5

ФГБУ «ВНИИЗЖ», РФ, 123022, г. Москва, Звенигородское шоссе, 5

Рекомендовано к применению в Российской Федерации ФГБУ «ВНИИЗЖ».