

## ИНСТРУКЦИЯ

по применению Набора реагентов для определения видовой принадлежности *in vitro*  
белков сыворотки крови человека, крупного рогатого скота, лошади, свиньи, птицы

### (Антисыворотки антивидовые СМ)

#### 1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор антисывороток против белков сыворотки крови человека, крупного рогатого скота, лошади, свиньи, птицы ( Антисыворотки антивидовые СМ) предназначен для определения видовой принадлежности сыворотки крови человека, крупного рогатого скота, лошади, свиньи, птицы, как в жидкой крови, так и в ее следах.

Набор предназначен для проведения 20 реакций кольцепреципитации при расходе 0,05 мл на один тест.  
Антисыворотки могут использоваться как вместе, так и по отдельности.

#### 2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

##### 2.1. Принцип действия.

В основе действия Набора лежит реакция преципитации белков сыворотки крови человека или животных соответствующими антисыворотками, выявляемая с помощью реакции кольцепреципитации в пробирках или двойной диффузии в агаровом геле. Результаты реакции учитываются невооруженным глазом.

##### 2.2. Состав набора

- антисыворотка против белков сыворотки крови **человека** -1 фл. (1,0 мл);
- антисыворотка против белков сыворотки крови **крупного рогатого скота** -1 фл. (1,0 мл);
- антисыворотка, против белков сыворотки крови **свиньи** -1 фл. (1,0 мл);
- антисыворотка против белков сыворотки крови **лошади** -1 фл. (1,0 мл);
- антисыворотка против белков сыворотки крови **птицы** -1 фл. (1,0 мл);

#### 3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Антисыворотки получены путем иммунизации кроликов сыворотками крови человека, крупного рогатого скота, лошади, свиньи, птицы и очищены от гетерологических антител путем абсорбции с помощью иммуносорбентов на колонках. **Специфическая активность** (титр) антисывороток характеризуется образованием преципитата в реакции кольцепреципитации в жидкой среде с соответствующими гомологичными сыворотками не позднее 3 мин при разведении их 1:1000 и не позднее 10 мин при разведении 1:5000 и 1:10 000. **Специфичность:** антисыворотки не должны образовывать кольца преципитации с 0,9 % раствором хлорида натрия и с гетерологичными сыворотками в разведении их 1:1000 в течение 1 часа.

#### 4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора - класс 2а. Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые перчатки, так как образцы сыворотки человека и животных следует рассматривать, как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать возбудителей различных вирусных инфекций.

#### 5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

- пробирки центрифужные вместимостью 5,0 и 10,0 мл;
- пробирки пластиковые прозрачные с конически сужающимся дном (типа Эппендорф) вместимостью 0,5 мл (преципитационные);
- пипетки полуавтоматические с возможностью дозирования 10 - 100 мкл, 20 - 200 мкл и 100-1000 мкл.
- 0,9% раствор натрия хлорида;
- 1,2% раствор агара;
- перчатки резиновые;
- стекла предметные ( 26 x 76 мм);
- стандартный шаблон или трубка диаметром 4мм для пробивания лунок в агаре.

## 6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Кровь, сыворотка крови или экстракты из следов крови человека, крупного рогатого скота, лошади, свиньи, птицы.

6.1. Подготовка исследуемых образцов:

а) кровь помещают в сухую чистую центрифужную пробирку и после образования сгустка центрифугируют в течение 5 мин при 3000 об/мин. Аккуратно с помощью пипетки отбирают сыворотку (надосадочную часть) и помещают ее в чистый флакон – сыворотка готова для исследования.

б) исследуемые объекты измельчают, помещают в центрифужные пробирки, заливают небольшим количеством 0,9% раствора хлорида натрия и оставляют для экстрагирования при температуре  $4\pm 2^{\circ}\text{C}$  на  $21\pm 3$  ч. После центрифугирования экстракты переносят в другие пробирки, после чего устанавливают наличие в них белка пробой с концентрированной азотной кислотой. Определение проводят в капиллярах. Появление небольшого белесоватого осадка на границе соприкосновения белков экстракта и азотной кислоты свидетельствует о приблизительной концентрации белка 1:1000. Эта концентрация оптимальна для постановки реакции кольцепреципитации в жидкой среде и двойной диффузии в агаре. Экстракты, имеющие большую концентрацию белка, следует разводить 0,9% раствором хлорида натрия до указанного предела под контролем пробы с азотной кислотой. Одновременно таким же образом готовят экстракты из контрольных участков предметов-носителей, которые используют в реакции в неразведенном виде. Мутные вытяжки непригодны для исследования.

## 7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ.

Реагенты готовы для исследования.

### 8. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА С ПОМОЩЬЮ РЕАКЦИИ КОЛЬЦЕПРЕЦИПИТАЦИИ

На одно определение расходуется 0,05мл каждой антисыворотки.

8.1. Внести по 0,45 мл сыворотки, разведенной 1 : 1000, или экстракта пятна в несколько преципитационных пробирок (по количеству антисывороток, но не менее 3-х) и дополнительно в 1 контрольную пробирку.

8.2. В пробирки с сывороткой или экстрактом пятна внести пипеткой путем подслаивания **антисыворотки** по 0,05мл в каждую пробирку. В контрольную пробирку внести 0,05мл 0,9 % раствора хлорида натрия.

**Учет результатов реакции.** Наблюдение за ходом реакции и учет результатов проводят невооруженным глазом при дневном освещении пробирок на черном фоне при температуре  $20\pm 4^{\circ}\text{C}$ . Регистрируют время начала реакции и время появления колец преципитации.

Реакцию считают положительной, если кольцо преципитации появляется на границе исследуемой сыворотки (экстракта) и **антисыворотки** не позднее, чем через 10 мин. При этом реакция должна быть отрицательной с 0,9% раствором хлорида натрия - отрицательный контроль.

### 9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА ДВОЙНОЙ ДИФФУЗИИ В АГАРОВОМ ГЕЛЕ

9.1. На предметное стекло размерами 26х76мм наливают 2,5 мл горячего раствора агара (1,2 % раствор в 0,9% растворе хлорида натрия с 0,02% азида натрия).

9.2. После застывания геля в нем специальным шаблоном или трубочкой с острыми краями делают лунки - одну в центре и 6 по периферии, вокруг центральной с одинаковыми расстояниями между ними. Диаметр лунки 4 мм, расстояние между центрами лунок 10 мм.

9.3. В центральную лунку вносят 0,02 мл исследуемой сыворотки, разведенной 1 : 1000, или экстракта пятна, в периферические лунки – по 0,02 мл имеющихся **антисывороток**. В одну из лунок вносят 0,02 мл 0,9% раствора хлорида натрия.

9.4. Двойную диффузию в геле проводят во влажной камере при комнатной температуре (или при  $4^{\circ}\text{C}$ ) в течение 24 – 36 час.

**Учет результатов реакции.** Реакцию считают положительной, если полоса преципитации между исследуемой сывороткой (экстрактом) и **антисывороткой** появляется в пределах 24 – 36 час. Результаты учитываются при условии отрицательной реакции с 0,9% раствором хлорида натрия (отрицательный контроль).

### 10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА.

Хранение набора должно производиться в упаковке предприятия-изготовителя в сухом месте при температуре  $+(2-8)^{\circ}\text{C}$  в течение всего срока годности набора. Допускается хранение набора при температуре до  $+25^{\circ}\text{C}$  не более 3 сут.

Срок годности набора – 1 год.

Вскрытые флаконы можно хранить в темном месте при температуре  $+(2-8)^{\circ}\text{C}$  не более 1 мес.

Для получения надежных результатов необходимо строго соблюдение инструкции по применению набора.

По вопросам, касающимся качества набора следует обращаться в ООО «ГЕМАТОЛОГ» по адресу: 125167, Москва, Новый Зыковский пр-д, д.4, стр.1.

Тел.: 8-800-777-07-72, (495) 504-90-98

e.mail: [hematologld@yandex.ru](mailto:hematologld@yandex.ru). Internet: [www.gematolog.com](http://www.gematolog.com)

TU 9398-020-27575295-2009 Регистрационное удостоверение № ФСР 2010/08528