РГП на ПХВ «РВЛ» • КВКиН МСХ РК

# Реакция агглютинации при исследовании сыворотки крови на бруцеллёз животных

Обучающая презентация: порядок постановки, контроль качества, интерпретация, кейсы и практические задания

СОП-РВЛ-РА-003-2026 • Версия №5 • дата введения 01.06.2026



# Что должен уметь работник после обучения

- объяснить принцип РА и область применения метода
- подготовить сыворотки, антиген, растворы и рабочее место
- поставить классический и массовый вариант реакции
- оценить агглютинацию по шкале «крестов»
- принять решение: положительно / сомнительно / повторить / недействительно



# Где РА находится в лабораторной диагностике

- РА — серологический метод выявления антител к Brucella
- Используется для массового скрининга и подтверждающей оценки по установленным порогам
- Результат зависит от качества сыворотки, антигена, разведения, инкубации и учета реакции
- Работа выполняется в рамках биобезопасности при обращении с ПБА II группы



# Биологический принцип РА



- Антитела сыворотки связывают корпускулярный бруцеллёзный антиген
- При наличии специфических антител формируются видимые агрегаты — агглютинат
- Степень просветления жидкости и характер осадка отражают интенсивность реакции
- Титр — последнее разведение с агглютинацией не ниже ++

# Область применения и виды животных

- КРС, МРС, лошади, верблюды, буйволы, олени/маралы
- собаки, пушные звери, морские свинки
- метод применяют для диагностики бруцеллёза по сыворотке крови
- для собак учитывают S- и R-антиген в зависимости от задачи



# Биобезопасность: обязательные действия



- работать в халате, перчатках, маске и чепчике
- не открывать поврежденные или сомнительные емкости без решения ответственного
- все отработанные материалы обеззараживать и утилизировать
- при проливе, травме, нарушении упаковки — остановить работу и сообщить

# Оборудование и материалы

- испытуемая сыворотка, единый бруцеллёзный антиген для РА
- позитивная и негативная контрольные сыворотки
- фенолизированный физиологический раствор, pH 7,0–7,2
- термостат, дозаторы, пробирки Флоринского, штативы, маркеры



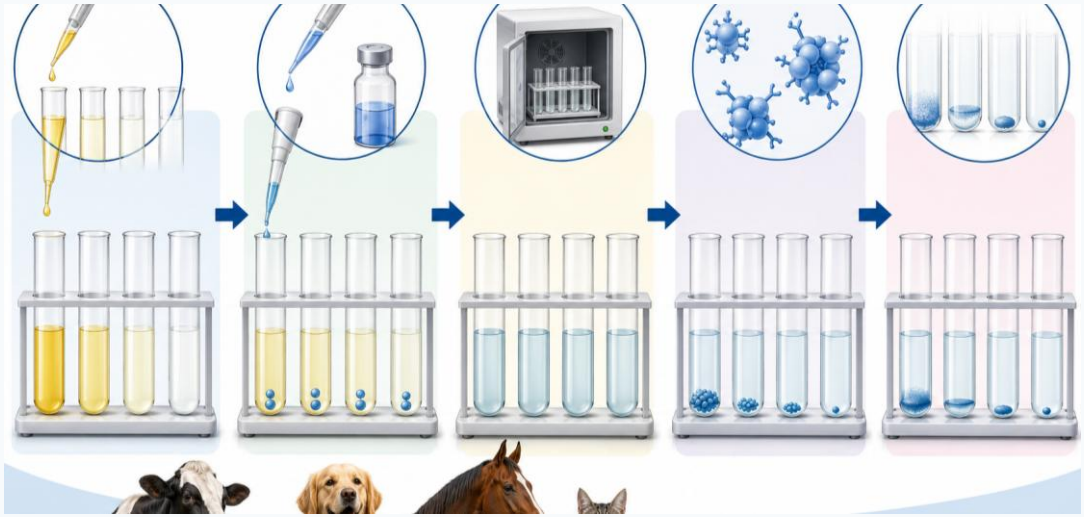
# Подготовка перед постановкой



- температура помещения: +22 ± 4 °C
- антиген выдержать при комнатной температуре 30–40 минут
- антиген встряхнуть до однородной взвеси
- подобрать концентрацию NaCl по виду животного
- при необходимости довести pH до 7,0–7,2

# Классический метод: логика постановки

1. маркировка рядов и пробирок
2. основное разведение сыворотки
3. последовательные разведения
4. внесение разведенного антигена
5. инкубация 16–20 часов



В классическом методе сравнивают контроль сыворотки, последовательные разведения и ряды с антигеном.

# Массовый метод: два разведения

1. антиген развести 1:20
2. внести сыворотку в 2 пробирки
3. добавить 1 мл антигена
4. инкубировать 16–20 часов
5. при ++ и выше — классический метод



Цель — быстро отобрать большое число сывороток; все реактивные пробы уходят в классический метод.

# Контроль качества и стандарты мутности

- контроли ставятся для каждой партии проб
- позитивный контроль подтверждает активность антигена
- негативный контроль исключает неспецифическую агглютинацию
- стандарты мутности помогают объективно сравнивать результат
- хлопья в контроле сыворотки — результат не учитывают



# Визуальный учет результата



• ++++: полная агглютинация, жидкость прозрачная, «зонтик» четкий
• +++: 75% агглютинации, выраженные хлопья
• ++: 50% агглютинации, минимальный уровень для учета титра
• +: 25% агглютинации — ниже диагностического уровня
• –: равномерная муть, агглютинации нет

++ и выше — ключевой уровень для учета титра.

# Пороговые значения для интерпретации РА

| Вид | Статус | Группа | Положительно | Сомнительно |
|---|---|---|---|---|
| КРС, лошади, верблюды | благополучное | все | 200 МЕ и выше | до 100 МЕ |
| КРС, лошади, верблюды | неблагополучное | все | 100 МЕ и выше | 50 МЕ |
| МРС | благополучное | невакцинированные | 100 МЕ и выше | до 50 МЕ |
| МРС | благополучное | вакцинированные | 200 МЕ и выше | до 100 МЕ |
| МРС | неблагополучное | все | 50 МЕ и выше | 25 МЕ |
| Олени | благополучное | невакцинированные | 50 МЕ и выше | 25 МЕ |
| Собаки | любое | S-антиген | 50 МЕ и выше | 25 МЕ |
| Пушные звери, мор. свинки | любое | все | 10 МЕ и выше | — |

# Алгоритм принятия решения

- проверить пригодность контролей
- найти последнее разведение с ++ и выше
- сравнить титр с порогом для вида и статуса хозяйства
- ниже порога, но ++ и выше — сомнительно, повтор через 15–20 дней
- при массовом методе ++ и выше — перестановка классическим методом



# Типичные ошибки и профилактика



- неоднородный антиген или неправильная температура перед постановкой
- ошибка в концентрации NaCl для конкретного вида животного
- неточная маркировка пробирок и переносов
- учет результата без выдержки 60 минут при комнатной температуре
- игнорирование контроля сыворотки или контрольных сывороток

# Документирование и хранение данных

- рабочий журнал и опись отбора проб
- журнал серологических исследований № 10-вет
- ИС VetLab и протокол испытания
- расход компонентов — журнал титрации и АС SimBase
- подписи ветеринарного врача и заведующего лабораторией



# Кейс 1. КРС в благополучном хозяйстве

## Исходные данные

Сыворотка КРС исследована классическим методом. Последнее разведение с оценкой ++ — 1:200. Контроль сыворотки без антигена чистый. Позитивный и негативный контроль сработали корректно.

## Задания группе

- определить титр в МЕ/мл
- сравнить с порогом для КРС
- сформулировать статус результата
- указать, нужен ли повтор

# Кейс 2. Вакцинированные овцы

## Исходные данные

МРС, благополучное хозяйство, группа вакцинированных животных. Получена агглютинация ++ на уровне 100 МЕ. Контроли пригодны, нарушений учета нет.

## Что решить

- положительно или сомнительно?
- какой срок повторного исследования?
- как оформить комментарий в журнале?
- какую ошибку нельзя допустить при сравнении порога?

# Практические задачи



- Рассчитайте разведение для 12 сывороток КРС по классическому методу.
- Отметьте, какие пробирки являются контролем сыворотки без антигена.
- Составьте план действий, если в контроле сыворотки обнаружены хлопья.
- Для массового метода объясните, почему результат ++ нельзя сразу считать окончательным.

# Итоговые вопросы для тестирования

1. Что означает титр антител в РА?

2. Какая минимальная оценка нужна для учета титра?

3. Сколько часов длится инкубация РА?

4. Что делать при ++ в массовом методе?

5. Почему важны позитивная и негативная сыворотки?

6. Когда назначают повтор через 15–20 дней?

7. Какая температура помещения установлена для подготовки?

8. Какой документ фиксирует результаты серологии?

# Ответы и подсказки для преподавателя

1) Последнее разведение с агглютинацией не ниже ++.
2) ++, то есть около 50% агглютинации.
3) 16–20 часов при +37…+38 °C.
4) Переставить классическим методом в 4 разведениях.
5) Они подтверждают правильность постановки и пригодность антигена.
6) При сомнительном результате ниже диагностического порога.
7) +22 ± 4 °C.
8) Рабочий журнал, журнал №10-вет, VetLab и протокол испытания.

# Краткий чек-лист перед работой

- проверить пригодность сыворотки, антигена и растворов
- подготовить контрольные сыворотки и стандарты мутности
- перепроверить схему постановки и маркировку
- контролировать время и температуру инкубации
- полностью внести результат в документы

