Республиканское государственное предприятие на праве хозяйственного ведения
«Республиканская ветеринарная лаборатория»
Комитета ветеринарного контроля и надзора
Министерства сельского хозяйства Республики Казахстан

Стандартная операционная процедура «Проведения роз-бенгал пробы при исследовании сыворотки крови на бруцеллёз животных»

Копия	Код	Номер версии	Разработано	Подпись
166	СОП-РВЛ-РБП-001-2026	№5	Отдел методологии и образовательного центра	Руководитель отдела _____ Байсеитов С.Т. Эксперт _____ Базаров Е.Р.
Ответственные за исполнение	Заведующие лабораториями, ветеринарные врачи и лаборанты областных/региональных и районных/зональных ветеринарных лабораторий, осуществляющие проведение исследований на бруцеллёз животных методом роз-бенгал пробы (далее – РБП).			
Дата введения	01.06.2026		**Дата пересмотра**	

Принял в работу:

Наименование обл/регионального филиала_____

Наименование отдела/районной вет. лаборатории_____

_____ _____/_____
ФИО *должность* *подпись*

_____ _____/_____
ФИО *должность* *подпись*

Астана, 2026 г

1. ЦЕЛЬ И ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

1.1 Настоящая Стандартная операционная процедура (далее – СОП) разработана на основании ГОСТ 34105-2023 «Лабораторная диагностика бруцеллеза. Серологические методы».

1.2 Процедура устанавливает порядок проведения РБП для диагностики бруцеллёза у крупного рогатого скота (далее - КРС), мелкого рогатого скота (далее - МРС), верблюдов, лошадей, свиней и маралов.

1.3 Метод основан на выявлении специфических антител в сыворотке крови путем их взаимодействия с окрашенным антигеном.

1.4 Термины, определения и сокращения:

- Метод РБП - серологический метод диагностики бруцеллеза, основанный на агглютинации антигена с антителами сыворотки крови;
- Агглютинация - образование видимых розовых хлопьев в результате взаимодействия бруцеллезного антигена с специфическими антителами, содержащимися в испытуемой и контрольной позитивной сыворотках;
- Антиген бруцеллезный для РБП - представляет собой взвесь инактивированных бруцелл в буферном физиологическом растворе, окрашенных бенгальским розовым, применяемый для выявления специфических антител к бруцеллам;
- Позитивная сыворотка (S#) - заведомо положительная сыворотка, содержащей антитела к бруцеллам, используемая для подтверждения чувствительности и активности антигена, а также правильность постановки реакции;
- Негативная сыворотка (S=) - заведомо отрицательная сыворотка, не содержащей антител к возбудителю бруцеллеза, применяемая для подтверждения специфичности антигена и исключения ложноположительных результатов, а также правильность постановки реакции;

2. ТРЕБОВАНИЯ К БЕЗОПАСНОСТИ

2.1 Исследования проводятся в лабораториях, имеющих разрешение на работу с ПБА II группы патогенности согласно Закону РК от 21 мая 2022 года № 122-VII ЗРК.

2.2 Все манипуляции с сыворотками проводятся в защитной одежде (халат, перчатки, маска, чепчик).

2.3 Биологические отходы и отработанные материалы подлежат обязательной дезинфекции и утилизации.

3. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

3.1 Компоненты, применяемые при постановке РБП:

- Испытуемая сыворотка;
- Антиген бруцеллезный для РБП (далее – Антиген);
- Позитивная (**S#**) и негативная (**S=**) контрольные сыворотки;

3.2 Оборудование и вспомогательные средства:

- Дозаторы переменного объема (0,015-0,030 мл)
- Наконечники;
- Пластинки с лунками;
- Смеситель;
- Качалка для РБП;

- 0,85 %-ый фенолизированный раствор хлорида натрия с содержанием 0,5% фенола;
- Спирт этиловый 70%;
- Вата;
- Дезинфицирующие средства;
- Фильтровальная бумага;
- Марля;
- Маркер и карандаш для маркировки;

4. ПОДГОТОВКА И ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

4.1 Подготовка:

1. Температура в помещении: +22 ± 4°.
2. Выдержать Антиген при комнатной температуре 30–40 минут.
3. Антиген аккуратно встряхнуть до однородности.
4. Включить качалку для РБП (установить параметры вращения по рисунку 3).
5. Пластинки обеззараживать 70% спиртом и высушивать.
6. Маркировку осуществлять в соответствии с рисунком 1.

4.2 Ход исследования

1. Внести в лунки пластинки по 0,03 мл позитивной (S#) и негативной сыворотки (S=).
2. Внести в лунки пластинки по 0,03 мл исследуемых сывороток.
3. Добавить антиген рядом с сыворотками и контролем:
   - Для КРС, лошадей, верблюдов – **0,03 мл**.
   - Для МРС, свиней, оленей – **0,015 мл**.

Важно: Вносить сыворотку и антиген строго на противоположные края лунки, исключить их соприкосновение в момент внесения.

4. Смешать компоненты, распределяя по всей поверхности лунки с помощью смесителя.
5. Покачивать пластинку в течение **4 минут** (Рисунок 4).
6. Перед каждым использованием смеситель ополаскивать 0,85 %-ным фенолизированным раствором хлорида натрия, просушивать марлевой салфеткой или фильтровальной бумагой.
7. После покачивания сразу перейти к читке.
8. После работы пластинки дезинфицировать (5% хлорамин – 5 мин или 3% перекись водорода – 30 мин или др.), промыть и высушить при t 37-38°С.

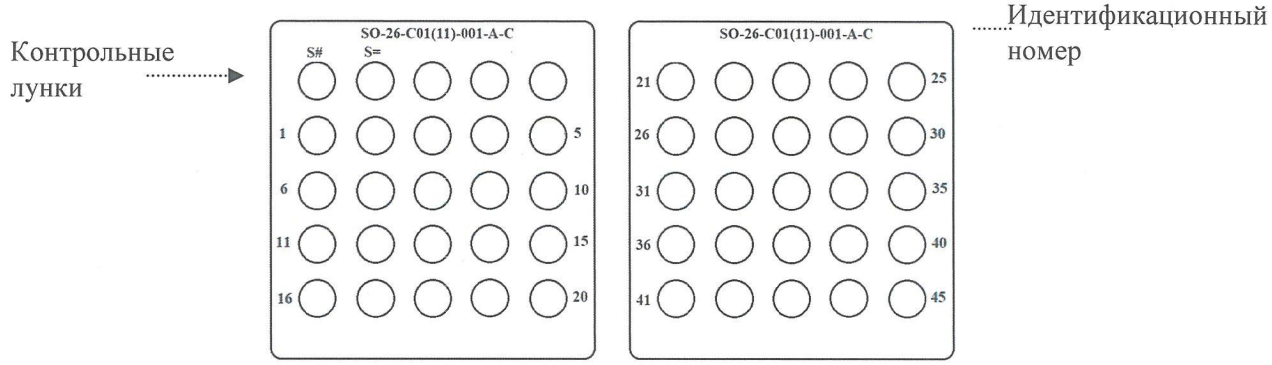


Рисунок 1. Образец (схема) правильной маркировки пластинки

5. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

5.1 Учет результатов реакции проводят визуально в течение 4 мин после смешивания сывороток с антигеном при слегка наклонном положении пластинки.

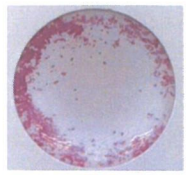
5.2 Результаты исследования признаются действительными только в том случае, если контрольные пробы показали:

- **Положительный контроль (S#):** наличие четко выраженной агглютинации (хлопьев), формирование розового кольца, полная или частичная просветление жидкости.
- **Отрицательный контроль (S=):** сохранение гомогенности смеси без признаков выпадения осадка или образования хлопьев.

2. Учет и оценка результатов

6.1 Положительная реакция – 3 признака:

- Наличие отчетливых розовых хлопьев (мелких и крупных).
- Формирование розового кольца (ободка) по периферии лунки.
- Полная или частичная просветление жидкости.



6.2 Отрицательная реакция – 2 признака:

- Смесь равномерно окрашена
- Без хлопьев и осадка.



8. ДОКУМЕНТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ДАННЫХ

8.1 Результаты исследования фиксируются в рабочем журнале, описи отбора проб, журнале серологических исследований № 10-вет и в ИС VetLab. Расходы компонентов фиксируются в журнале титрации и в АС SimBase.

8.2 После регистрации результатов составляется Протокол испытания, который подписывается Ветеринарным врачом и Заведующим лабораторией.

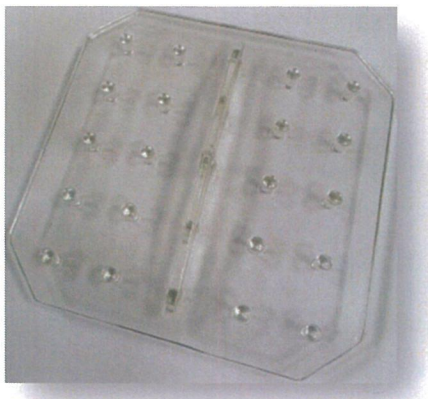


Рисунок 2. Смеситель

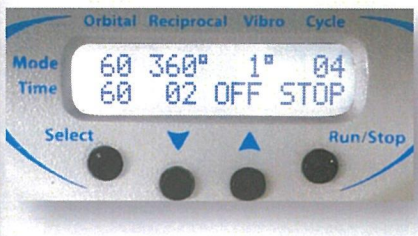


Рисунок 3. Параметры вращения



Рисунок 4. Качалка для РБП

9. ПЕРЕСМОТР, ВНЕСЕНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ, ХРАНЕНИЕ И РАССЫЛКА НАСТОЯЩЕГО СОП

9.1. Пересмотр, внесение изменений, хранение и рассылка настоящего СОП «Проведение роз бенгал пробы при исследовании сыворотки крови на бруцеллез животных» осуществляются в соответствии с требованиями системы менеджмента качества.

9.2. Оригинал настоящего СОП регистрируется и хранится в отделе методологии и образовательного центра.

3.3. Учтенные копии настоящего СОП рассылаются заведующим ЛДЗЖ областных/региональных, районных/зональных филиалов, ветеринарным врачам и лаборантам, непосредственно выполняющим постановку РБП.

Приложение 1. Этапы процесса РБП и анализ возможных ошибок

Этап	Подэтап / Действие	Критические контрольные точки (КТ)	Типичные ошибки и их последствия	Меры предотвращения / Работа над ошибками
1. Преаналитика	1.1 Отбор проб (вне лаборатории)	• Соответствие номера пробирки и животного. • Отсутствие гемолиза и сгустков. • Соблюдение холодовой цепи (t +4...+8°C).	• Перепутаны пробирки → неверная идентификация результата. • Гемолиз / бактериальный рост → невозможность исследования или ложный +. • Нарушение температуры → порча сыворотки.	• Строгое следование инструкции по отбору проб. • Использовать термоконтейнеры. • При приемке непринимать гемолизированные пробы.
	1.2 Регистрация и подготовка образцов	• Заполнение журнала № 10-вет (описи).	• Ошибка в записи номера животного. • Путаница сывороток при переливании в случае хранения.	• Двойная проверка записи (внес и проверил второй работник). • Маркировка каждой пробирки.
	1.3 Подготовка (реагенты/оборудование)	• Антиген: выдержать 30–40 мин при t 22±4°C. • Контроли: Наличие S# и S=. • Дозаторы: Проверка точности (калибровка). • Качалка: Проверка режимов	• Холодный антиген → замедление реакции → ложноотрицательный результат. • Не откалиброван дозатор → неправильный объем. • Качалка не включена/сбит режим → нет перемешивания.	• Ежедневная проверка температуры в помещении. • Калибровка дозаторов. • Включения и проверки оборудования перед началом работы.
2. Аналитика	2.1 Внесение компонентов (Постановка)	• Соответствие схеме маркировки (Рис.1 СОП).	• Главная ошибка: путаница объемов антигена (налили	• Памятка на рабочем месте:

Этап	Подэтап / Действие	Критические контрольные точки (КТ)	Типичные ошибки и их последствия	Меры предотвращения / Работа над ошибками
		• Объем сыворотки: Всегда 0,03 мл. • Объем антигена: Строго по виду животного!	0,03 мл вместо 0,015 мл для МРС или наоборот). • Использование одного наконечника для разных проб (кросс-контаминация).	*КРС, Лошади, Верблюды:* Аг = 0,03 мл *МРС, Свиньи, Олени:* Аг = 0,015 мл • Смена наконечников для каждой пробы.
	2.2 Инкубация	• Время на качалке: строго 4 минуты. • Интенсивность перемешивания.	• < 4 мин → реакция не завершена → ложноотрицательный. • > 4 мин → подсыхание, неспецифические реакции → ложноположительный.	• Использовать таймер (для контроля). • Не отвлекаться во время работы качалки.
	2.3 Учет реакции (Читка)	• Контроль валидности: *S=* : гомогенность, нет хлопьев. *S#* : хлопья, кольцо, просветление.	• Учет реакции при плохом освещении. • Игнорирование неработающих контролей (S# или S=) -> выдача результата при	• Если контроли "неправильные" – результат всего ряда не действителен. Повторить.
3. Постаналитика	3.1 Первичная запись результатов	• Внесение результата ("+"/"-") в рабочий журнал и журнал 10-вет.	• Описка (человеческий фактор): записал "+" вместо "-".	• Валидация записей вторым работником (подпись "проверил"). • Запрещено использовать корректор. Ошибки зачеркиваются и заверяются подписью.
	3.2 Оформление акта экспертизы (протокола испытания)	• Соответствие Приказу № 7-1/19. • Правильность указания вида животного, владельца, даты.	• Ошибка в "шапке" документа. • Несоответствие даты	• Использование шаблонов. • Тщательная проверка перед печатью и подписью.

Этап	Подэтап / Действие	Критические контрольные точки (КТ)	Типичные ошибки и их последствия	Меры предотвращения / Работа над ошибками
			исследования и даты выдачи.	
	3.3 Дезинфекция и утилизация	• Режимы дезинфекции пластинки (5% хлорамин - 5 мин / 3% H2O2 - 30 мин).	• Нарушение биобезопасности (вынос необезвреженного материала).	• Наличие растворов с действующей концентрацией. • Контроль времени выдержки в дезрастворе.
4. Архивирование	4.1 Хранение документов	• Наличие подписей в журналах. • Полнота архива (журналы + копии протоколов). • Сроки хранения.	• Утеря первичных документов (журнала № 10-вет, журнал титрации, рабочий журнал).	• Назначение ответственного за архив. • Электронное копирование особо важных документов.

Лист ознакомления

№	ФИО	Должность	Подпись
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			