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

Стандартная операционная процедура «Проведение реакции связывания комплемента при исследовании сыворотки крови на бруцеллёз животных»

Копия	Код	Номер версии	Разработано	Подпись
166	СОП-РВЛ-РСК-002-2026	№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 реакции связывания комплемента (далее – РСК).		
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 РСК для диагностики бруцеллёза у крупного рогатого скота (далее - КРС), мелкого рогатого скота (далее - МРС), верблюдов, лошадей, свиней, пушных зверей, собак и кошек.

1.3 Метод основан на выявлении специфических антител, которые при взаимодействии с антигеном образуют иммунный комплекс, связывающий комплемент через Fc-фрагмент антител, что исключает его участие в последующей реакции с индикаторной системой.

1.4 Термины, определения и сокращения:

- Антиген - антиген единый бруцеллезный, представляющий собой гомогенную взвесь инактивированных нагреванием и фенолом бруцелл в физиологическом растворе;
- Гемолизин - сыворотка крови кроликов иммунизированных эритроцитами баранов;
- Комплемент - лиофилизированный, сыворотка крови морских свинок;
- Инактивация - нейтрализация находящихся в сыворотке крови животного компонентов (комплемент) крови, способных вступить в реакцию с единым бруцеллезным антигеном, с помощью воздействия определенной высокой температуры;
- Титр комплемента – наименьшее количество комплемента, вызывающее полный гемолиз эритроцитов в течение 10 мин в водяной бане при температуре 37 °С - 38 °С;
- Рабочий титр комплемента - 2 интервала больше его титра;
- Антикомплементарность - испытание сыворотки со специфическим антигеном и без антигена, при котором должен произойти полный гемолиз;
- Гемотоксичность - отсутствие у компонентов реакции способности к спонтанному лизису эритроцитов;
- Титр гемолизина - наименьшее количество, необходимое для полного гемолиза в течение 10 минут 0,2 мл 2,5%-ной взвеси эритроцитов в присутствии 0,2 мл комплемента в разведении 1:20;
- Позитивная сыворотка (S#) - заведомо положительная сыворотка, содержащая антитела к бруцеллам, используемая для подтверждения чувствительности и активности антигена, а также правильность постановки реакции;
- Негативная сыворотка (S=) - заведомо отрицательная сыворотка, не содержащая антител к возбудителю бруцеллеза, применяемая для подтверждения специфичности антигена и исключения ложноположительных результатов, а также правильность постановки реакции;

2. ТРЕБОВАНИЯ К БЕЗОПАСНОСТИ

2.1 Работа проводится с соблюдением требований Закона РК «О биологической безопасности» и правил работы с ПБА II группы патогенности.

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 РСК:

- Испытуемая сыворотка;
- 0,85%-ный физиологический раствор;
- Антиген бруцеллезный единый;
- Комплемент сухой;
- Гемолитическая сыворотка (гемолизин);
- 2,5%-ная взвесь эритроцитов барана;
- Позитивная (**S#**) и негативная (**S=**) контрольные сыворотки;

3.2 Оборудование и вспомогательные средства:

- Баня водяная 37-38°С и 58-62°С;
- Дозаторы переменного объёма от 10мкл до 1000мкл;
- Наконечники;
- pH-метр;
- Пробирки флоринского;
- Аппарат флоринского со съемными пипетками на 0,2 и 0,4 мл;
- Штативы;
- Центрифуга лабораторная;
- Электроплита;
- Таймер;
- Спирт этиловый 70%;
- Вата медицинская;
- Фильтровальная бумага;
- Дезинфицирующие средства;
- Маркер и карандаш для маркировки;

4. ПОДГОТОВКА К ИСПЫТАНИЮ

4.1. Температура в помещении : +22 ± 4°С.

4.2. Подготовка эритроцитов барана:

1. Кровь берут утром до кормления во флакон с бусами.
2. Перемешивают круговыми движениями 7–10 мин.
3. Фильтруют через марлю.
4. Дефибринированную кровь консервируют стрептомицином, из расчета 1 гр растворенного препарата в физрастворе 10-20 мл на 100 мл крови.
5. Свежую дефибринированную или консервированную кровь барана центрифугируют при 2500-3000 об/мин, 10-15 минут.
6. Надосадочную жидкость полностью удаляют пипеткой при горизонтальном положении пробирки.
7. Промывку повторяют до прозрачности надосадочной жидкости, но не более четырех раз.
8. Из осадка готовят 2,5% взвесь на физиологическом растворе.

4.3. Приготовление 0,85%-го физиологического раствора:

1. 8,5 г хлорида натрия растворяют в 1000 мл дистилированной воде.
2. Доводят до кипения.

3. Устанавливают pH 6,8-7,2 ед.
4. Регулируют pH с помощью раствора NaOH и HCl.
5. Дважды фильтруют через бумажный фильтр.

4.4 Подготовка комплемента:

1. Сухой комплемент растворяют физиологическим раствором.
2. Объем согласно инструкции производителя сухого комплемента.
3. Помещают в холодильник на 20-30 мин, не встряхивая.

4.5 Титрация гемолизина (проводится при поступлении новой серии):

1. Подготовить 2 ряда по 8 пробирок.
2. Приготовить основное разведение гемолизина 1:100.
3. Приготовить разведение 1:500 - 1:4000 (по схеме в Таблице 1).
4. Перенести из первого ряда 0,2 мл во второй ряд.

Таблица 1. Приготовление разведений гемолитической сыворотки

Номер пробирки	Основное разведение гемолизина 1:100 (мл)	Физиологический раствор (мл)	Получаемые разведения
1	0,4	1,6	1:500
2	0,1	0,9	1:1000
3	0,1	1,4	1:1500
4	0,1	1,9	1:2000
5	0,1	2,4	1:2500
6	0,1	2,9	1:3000
7	0,1	3,4	1:3500
8	0,1	3,9	1:4000

5. В каждую пробирку внести (по Таблице 2):
- 0,2 мл гемолизина.
- 0,2 мл комплемента (1:20).
- 0,2 мл 2,5% эритроцитов.
- 0,4 мл физраствора (общий объем 1 мл).
6. Инкубировать 10 минут при +37...+38°С.

Таблица 2. Схема титрования гемолитической сыворотки

Компоненты	Пробирки							
	Разведения гемолизина (титр)							
	1:500	1:1000	1:1500	1:2000	1:2500	1:3000	1:3500	1:4000
Гемолизин	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Комплемент в разведении 1:20	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Эритроциты (2,5%-ная взвесь)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Физиологический раствор	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Водяная баня при температуре от +37 до 38°С на 10 минут								
Примерный результат	ПГ	ПГ	ПГ	ПГ	ЧГ	ЧГ	НГ	НГ

7. Оценка:
- Титр - наименьшее количество, необходимое для полного гемолиза.
- Рабочий титр - удвоенная доза от титра (для РСК).
- *На примере титр 1:2000, рабочий титр для РСК 1:1000.*

4.6 Проверка на антикомплементарность и гемотоксичность

- Компоненты на антикомплементарность и гемотоксичность (далее - А/г) проверяются по Таблице 3.
- Комплемент с разведением 1:20 на А/г готовят отдельно.
- Остальные компоненты вносят с основных разведений (согласно пункту 4.9.2).
- Компоненты считаются пригодными, если в контроле на антикомплементарность наблюдается полный гемолиз, а в контроле на гемотоксичность – полная задержка гемолиза.

Таблица 3. Проверка антикомплементарных и гемотоксических свойств компонентов.

Компоненты	**Антиком-племен-тарность**	**Гемотоксичность**			
		Компле-мента	**Гемоли-зина**	**Антигена**	**0,85% NaCl**
Комплемент в разведении 1:20	0,2	0,2	---	---	---
Гемолизин в рабочем титре	0,2	---	0,2	---	---
Антиген в рабочем титре	0,4	---	---	0,4	---
Эритроциты (2,5%)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Физиологический раствор	----	0,6	0,6	0,4	0,8
Водяная баня при температуре от +37 до +38°С на 10 минут					
Результат	Гемолиз	Полная задержка гемолиза			

4.7 Титрация комплемента в гемолитической системе (перед каждой постановкой).

1. Готовят рабочее разведение комплемента (1:20) отдельно от основного опыта.
2. В 10 пробирок вносят комплемент (1:20) в дозах от 0,02 мл до 0,2 мл.
3. Добавляют физраствор до объема 0,2 мл.
4. Добавляют гемолизин в удвоенном титре 0,2 мл.
5. Добавляют 2,5% эритроциты 0,2 мл.
6. Добавляют физраствор 0,4 мл.
7. Инкубация при t +37...+38°С 10 минут.

4.8 Оценка:

- Титр - минимальное количество, вызывающее полный гемолиз.
- Рабочий титр - два интервала больше его титра.
- *На примере титр комплемента 0,08, а рабочий титр 0,12.*

Таблица 4. Схема титрования комплемента в гемолитической системе.

Компоненты реакции	**Номера пробирок**									
	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
Доза комплемента в разведении 1:20	0,02	0,04	0,06	0,08	0,1	0,12	0,14	0,16	0,18	0,20

Физиологический раствор	0,18	0,16	0,14	0,12	0,1	0,08	0,06	0,04	0,02	-
Гемолизин в удвоенном титре	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
2,5% -ная взвесь эритроцитов барана	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Физиологический раствор	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Водяная баня при температуре от +37 до +38°С на 10 минут										
Результаты	НГ	НГ	ЧГ	ПГ	ПГ	ПГ	ПГ	ПГ	ПГ	ПГ
Обозначение	НГ – нет гемолиза		ЧГ – частичный гемолиз, ПГ – полный гемолиз							

4.9 Расчет и приготовление рабочих разведений

1. Основные сокращения

Пр- количество исследуемых проб

п/с- количество пробирок для перестановки

а/г- количество пробирок для антикомплементарности и гемотоксичности

к- количество пробирок для постановки контролей

т- титр;

т/я- количество пробирок для титрования комплемента

0,2 мл – доза внесения одного компонента в пробирку

2. Расчет компонентов:

• **Антиген (Аг) -** рассчитывается только на пробирки, содержащие антиген согласно методике.

Формула:

Антиген ед.бр. _____пр+___ п/с+ 4 к + 4 а/г = ____ пр *0,2 мл= V_____мл ÷____т = ___ мл

Пример на 100 проб:

100 + 0 + 4к + 4а/г = 108 пр х 0,2 = **21,6 мл (общий объем)** ÷ 75 (титр) = **0,288 мл Антигена**;

• **Комплемент (Ке) -** рассчитывается на испытуемые и контрольные пробирки. Рабочие растворы для титрации комплемента, а также для контроля на антикомплементарность и гемотоксичность, готовят отдельно от основного разведения (на примере рабочий титр комплемента принят за 0,10 мл).

Формула:

Комплемент _____пр+ __п/с + 6 к =_____пр *0,2 мл =V_____мл.

$$X = \frac{0, \quad * \text{ пр}}{20} = _____ \text{мл}$$

Пример на 100 проб:

100 + 0 + 6к = 106 пр х 0,2 мл= **21,2 мл (общий объем)**

$$X = \frac{0{,}10 * 106 \text{ пр}}{20} = \textbf{0,53 мл комплемента};$$

• **Гемолизин (Ге) -** рассчитывается только на пробирки, содержащие гемолизин согласно методике. В РСК используется удвоенная доза (на примере удвоенный титр 1/1250).

Формула:

Гемолизин РСК. _____ удвоенный: _____пр + ____п/с + 6 к + 2 а/г + 10 т/я =_____пр *0,2мл=V_____мл ÷____т=_____мл

Пример на 100 проб:

100 + 0 + 6к + 2а/г + 10т/я = 118 пр х 0,2 мл = **23,6 мл (общий объем)** ÷ 1250 т = **0,01888 мл гемолизина;**

• **Эритроцит 2,5% (Эр) -** рассчитывается на все пробирки опыта.

Формула:

Эритроцит РСК: _____пр + ____п/с + 6 к + 5 а/г + 10 пр. (т/я) =_____пр *0,2мл=V_____мл

$$\frac{V___\text{мл} * 2{,}5\%}{100} = _____\text{мл}$$

Пример на 100 проб:

100 + 0 + 6 + 5 + 10 = 121 пр х 0,2 мл = **24,2 мл (общий объем)**

$$\frac{24{,}2 \text{ мл} * 2{,}5\%}{100} = \textbf{0,605 мл эритроцита;}$$

5. ПОРЯДОК ПРОВЕДЕНИЯ КОНТРОЛЯ РЕАКЦИИ

5.1 Контроли ставят один раз для всей партии проб.

5.2 Готовят по три пробирки для позитивного и негативного ряда.

5.3 Позитивный ряд маркируют знаком «#», негативный ряд «=».

5.4 Ход постановки контролей:

1. *Подготовка разведений позитивного контроля:*

• **Пробирка 1 (1:5 без антигена):** 0,1 мл позитивная сыворотка + 0,4 мл физраствора;

• **Пробирка 2 (1:5 с антигеном):** 0,2 мл смеси переносят из первой пробирки;

• **Пробирка 3 (1:10 с антигеном) :** 0,1 мл смеси переносят из первой пробирки + вносят 0,1 мл физраствора;

2. *Подготовка разведений негативного контроля:*

• **Пробирка 1:** 0,1 мл негативная сыворотка + 0,4 мл физраствора;

• **Пробирка 2:** 0,2 мл смеси переносят из первой пробирки;

• **Пробирка 3:** 0,1 мл смеси переносят из первой пробирки + вносят 0,1 мл физраствора;

Важно: при переносе смеси пипетировать несколько раз.

3. *Инактивация:* Пробирки помещают в водяную баню на 30 минут:

- КРС, МРС, верблюды: 60-62°С.
- Свиньи: 58-60°С.

4. *Внесение антигена:*
- **Пробирка 1:** 0,2 мл физраствор (безантигенный ряд, для контроля сыворотки);
- **Пробирка 2 и 3:** по 0,2 мл антигена;

5. *Внесение комплемента:* Во все пробирки по 0,2 мл комплемента;
6. *Инкубация:* 20 минут при t +37...+38°С;
7. *Внесение гемолитической системы:* Во все пробирки по 0,4 мл;
8. *Инкубация:* 20 минут при t +37...+38°С;

Таблица 5. Схема постановки РСК

Компоненты реакции	**При массовых испытаниях**	**При исследовании в двух разведениях**		
	Пробирки с испытуемыми сыворотками (разведение 1:5)	**Пробирки для каждой испытуемой сыворотки(разведение)**		
		1 (1:5)	**2 (1:5)**	**3 (1:10)**
Испытуемая сыворотка	0,05	0,1	0,2	0,1
Физиологический раствор	0,2	0,4	-	0,1
Инактивация сывороток в водяной бане 30 минут при +58 до +65°				
Физиологический раствор	-	0,2	-	-
Антиген в рабочем титре	0,2	-	0,2	0,2
Комплемент в рабочем разведении	0,2	0,2	0,2	0,2
Водяная баня при температуре от +37 до +38°С на 20 минут				
Гемолитическая система	0,4	0,4	0,4	0,4
Водяная баня при температуре от +37 до +38°С на 20 минут				
Примечание: *Допускается смешивание перед разливом равных объемов антигена и комплемента.*				

6. ПОРЯДОК ПРОВЕДЕНИЯ МАССОВЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

6.1 Контроли ставят один раз для всей партии проб.

6.2 Ход постановки (Таблица 5):

1. *Разведение (1:5) испытуемых проб:* Вносят 0,05 мл испытуемый сыворотки и 0,2 мл физраствора.
2. *Инактивация:* Пробирки помещают в водяную баню на 30 минут:
- КРС, МРС, верблюды: 60-62°С.
- Свиньи: 58-60°С.

3. *Внесение антигена:* во все пробирки по 0,2 мл;
4. *Внесение комплемента:* во все пробирки по 0,2 мл;
5. *Инкубация:* 20 минут при t +37...+38°С;
6. *Внесение гемолитической системы:* Во все пробирки по 0,4 мл;
7. *Инкубация:* 20 минут при t +37...+38°С;

7. ПОРЯДОК ПЕРЕСТАНОВКИ РЕАКЦИИ КЛАССИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

7.1 Проводится при положительном или сомнительном результате.

7.2 Контроли ставят один раз для всей партии проб.

7.3 Ход перестановки (Таблица 5):

1. *Подготовка разведений испытуемых проб:*

- **Пробирка 1 (1:5 без антигена):** 0,1 мл испытуемая сыворотка + 0,4 мл физраствора;
- **Пробирка 2 (1:5 с антигеном):** 0,2 мл смеси переносят из первой пробирки;
- **Пробирка 3 (1:10 с антигеном):** 0,1 мл смеси переносят из первой пробирки + вносят 0,1 мл физраствора;

Важно: при переносе смеси пипетировать несколько раз.

2. *Инактивация:* Пробирки помещают в водяную баню на 30 минут:

- КРС, МРС, верблюды: 60-62°С.
- Свиньи: 58-60°С.

3. *Внесение антигена:*

- **Пробирка 1:** 0,2 мл физраствор (безантигенный ряд, для контроля сыворотки);
- **Пробирка 2 и 3:** по 0,2 мл антигена;

4. *Внесение комплемента:* Во все пробирки по 0,2 мл;
5. *Инкубация:* 20 минут при t +37...+38°С;
6. *Внесение гемолитической системы:* Во все пробирки по 0,4 мл;
7. *Инкубация:* 20 минут при t +37...+38°С;

8. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

8.1 Оценка проводится визуально:

- После извлечения из водяной бани штативы рекомендуется выдержать в течение 1-2 часа при комнатной температуре.

• 8.2 Готовят шкалу гемолиза (Таблица 6).

- Выбирают из числа испытуемых проб 5 пробирок с полным гемолизом.
- Сливают их в одну пробирку.
- Из данной жидкости готовят разведения по схеме представленной в таблице 6.

8.3 Результаты реакций оценивает в крестах (Рисунок 1):

- ++++ **(4 креста):** отсутствие гемолиза, надосадочная жидкость прозрачная, осадок 100% эритроцитов.
- +++ **(3 креста):** гемолиз 25%, осадок 75%.
- ++ **(2 креста):** гемолиз 50%, осадок 50%.
- + **(1 крест):** гемолиз 75%, осадок 25%.
- **- (минус):** полный гемолиз, жидкость интенсивно окрашена.

Таблица 6. Шкала гемолиза

Наименование компонентов	**Номера пробирок**				
	1	**2**	**3**	**4**	**5**
Гемолизированная жидкость (мл)	1,0	0,75	0,5	0,25	-
Физиологический раствор (мл)	-	0,25	0,5	0,75	1,0
Процент гемолиза (%)	100	75	50	25	-
Оценка в крестах	«-»	«+»	«++»	«+++»	«++++»

8.4 Реакцию считают:

- **Положительной:** при задержке гемолиза на 2-4 креста в одном или двух разведениях с антигеном при полном гемолизе в пробирке без антигена.
- **Сомнительной:** задержка гемолиза на 1 крест при полном гемолизе в пробирке без антигена.
- **Отрицательной:** полный гемолиз во всех пробирках.

9. ДОКУМЕНТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ДАННЫХ

9.1 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.

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

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

10.1. Пересмотр, внесение изменений, хранение и рассылка настоящего СОП «Проведение реакции связывания комплемента при исследовании сыворотки крови на бруцеллез животных» осуществляются в соответствии с требованиями системы менеджмента качества.

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

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

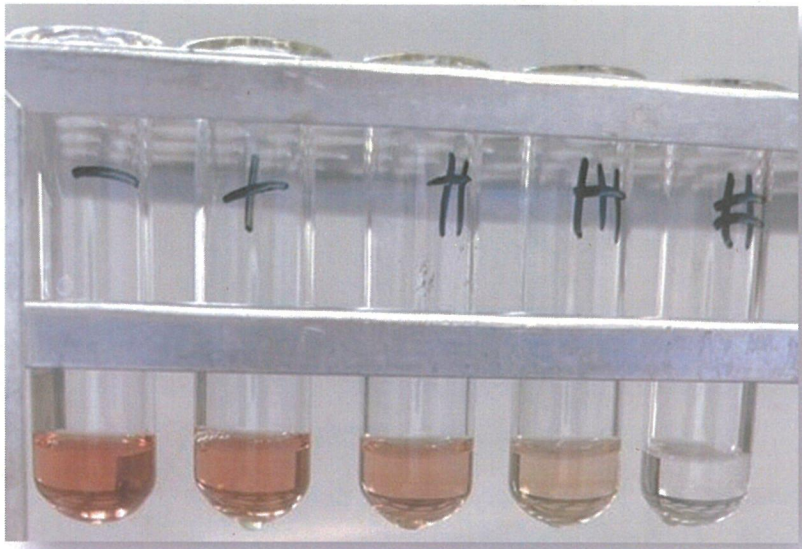


Рисунок 1. Шкала гемолиза



Рисунок 2. Титрация комплемента



Рисунок 3. Антикомплементарность и гемотоксичность компонентов

Приложение 1. Этапы процесса РСК 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 описи животного. • Отсутствие выраженного гемолиза и сгустков в сыворотке. • Соблюдение температурного режима транспортировки.	• Ошибки в маркировке пробы → неверная идентификация больного/здорового животного. • Гемолизированная сыворотка → проявление антикомплементарных свойств, неспецифическая задержка гемолиза (искажение результата).	• Строгий сквозной контроль маркировки при отборе. • Доставка в термоконтейнерах с хладагентами. • Браковка и недопуск к исследованию сильно гемолизированных или загнивших сывороток.
	1.2 Регистрация и подготовка образцов	• Регистрация в рабочем журнале, описи и ИС VetLab. • Инактивация сыворотки в строго заданных температурных режимах (КРС, МРС, верблюды: 60–62°С; свиньи: 58–60°С) в течение 30 минут.	• Описка при переносе номеров в журнал серологических исследований № 10-вет. • Несоблюдение режима инактивации (низкая температура/сокращение времени) → неполное разрушение собственного комплемента сыворотки → ложноотрицательный результат.	• Повторная сквозная проверка по принципу «внес один, проверил второй». • Применение поверенных водяных бань с цифровым контролем температуры и обязательное использование таймера.
	1.3 Подготовка (реагенты/оборудование)	• Температура в помещении: +22 ± 4°С. • Проверка pH физиологического раствора (строго 6,8–7,2 ед.). • Правильное приготовление 2,5%-ной взвеси эритроцитов барана. • Растворение комплемента без резкого встряхивания. • Калибровка микродозаторов.	• Выход pH физраствора за допустимые пределы → активация спонтанного лизиса или торможение реакции. • Резкое встряхивание комплемента → денатурация белка и падение его активности. • Использование неисправного дозатора → нарушение объемов компонентов.	• Обязательный ежедневный контроль pH-метром перед началом работы. • Бережное растворение реагентов согласно инструкции производителя. • Регулярная поверка и калибровка лабораторных микродозаторов.
2. Аналитика	2.1 Внесение	• Постановка обязательных	• Пропуск внесения одного из	• Использование

	компонентов (Постановка)	контролей (S# и S=) для каждой партии сывороток. ● Строгое соблюдение объемов по схеме (0,2 мл для основных компонентов, 0,05 мл для сыворотки при массовых исследованиях). ● Своевременная смена наконечников.	компонентов (комплемента или антигена) в отдельные пробирки ряда. ● Путаница в схеме разведения сывороток. ● Кросс-контаминация реагентов или проб при использовании одного наконечника для разных сывороток → недостоверный результат.	стандартизированных штативов и четкая предварительная маркировка рядов. ● Пошаговое внесение строго по утвержденной схеме постановки. ● Обязательная смена наконечника после каждой манипуляции с отдельной сывороткой.
	2.2 Инкубация (Основной опыт и индикаторная система)	● Соблюдение параметров первой инкубации: 20 мин при +37...+38°C (после внесения антигена и комплемента). ● Соблюдение параметров второй инкубации: 20 мин при +37...+38°C (после внесения гемолитической системы).	● Нарушение температурного режима (остывание бани) или сокращение времени инкубации → незавершенность связывания комплемента или неполный гемолиз в контролях (реакция невалидна). ● Превышение времени инкубации → неспецифический лизис эритроцитов.	● Постановка пробирок только в предварительно прогретую до целевых параметров водяную баню. ● Жесткий контроль времени строго по звуковому таймеру; не допускается отвлекаться или прерывать инкубацию.
	2.3 Учет реакции (Читка)	● Валидация панели по контрольным сывороткам (в S# - полная задержка гемолиза, в S= - полный гемолиз). ● Проверка компонентов на антикомплементарность и гемотоксичность. ● Использование шкалы гемолиза для визуальной оценки результатов в крестах.	● Читка результатов сразу после извлечения из бани без предварительного оседания эритроцитов. ● Учет реакции при неработающих или сомнительных контролях. ● Субъективная ошибка («человеческий фактор») при оценке степени лизиса без сверки со шкалой.	● Выдерживание штативов в течение 1–2 часов при комнатной температуре до полного оседания эритроцитов перед окончательным учетом. ● Если контроли не соответствуют норме, результаты всей партии аннулируются, опыт полностью переставляется. ● Обязательное использование приготовленной шкалы гемолиза для точной градации.
3. Постаналитика	3.1 Первичная запись результатов	● Немедленное занесение результатов (в крестах от «-» до «++++») в рабочий серологический журнал, описи и ИС VetLab. ● Фиксация расхода материалов в	● Описка или случайный перенос знака (запись положительного результата как отрицательного и наоборот). ● Использование корректирующих	● Применение принципа двойного контроля: валидация записей вторым специалистом (подпись «проверил»). ● Категорический запрет на

		журнале титрации и АС SimBase.	жидкостей (штриха).	использование штрих-корректоров. Любые исправления вносятся зачеркиванием, внесением верных данных и заверения личной подписью.
	3.2 Оформление акта экспертизы (протокола испытания)	• Перенос данных в официальный Протокол испытания (соответствие Приказу № 7-1/19). • Проверка соответствия реквизитов (вид животного, инвентарный номер, владелец, даты исследования и выдачи). • Подписание ветеринарным врачом и заведующим лабораторией.	• Ошибка в «шапке» документа, неверное указание инвентарных номеров животных. • Несоответствие между датой проведения реакции и датой генерации документа → юридическая недействительность протокола.	• Использование верифицированных шаблонов документов и автоматизированная выгрузка из ИС VetLab. • Тщательная сверка текста протокола с первичным рабочим журналом перед отправкой на подпись.
	3.3 Дезинфекция и утилизация	• Обеззараживание отработанных пробирок Флоринского, дозаторов и остатков биологического материала в соответствии с правилами работы с ПБА II группы патогенности.	• Преждевременное извлечение посуды из дезраствора или использование растворов с заниженной концентрацией действующего вещества. • Нарушение биобезопасности (вынос необезвреженного материала).	• Использование дезинфицирующих средств строго по инструкциям с обязательным физико-химическим контролем рабочих растворов. • Строгий контроль времени экспозиции материала в дезрастворе.
4. Архивирование	4.1 Хранение документов	• Наличие оригиналов всех подписанных протоколов и заполненных журналов (рабочего, титрации, № 10-вет). • Соблюдение установленных сроков хранения лабораторных документов.	• Утеря или порча бумажных носителей первичных данных (журнала титрации комплемента, рабочих листов) → невозможность подтвердить достоверность исследований при внешнем аудите.	• Назначение приказом руководителя ответственного лица за ведение лабораторного архива. • Обязательное дублирование архивных данных в электронном виде (скан-копии журналов, резервное копирование баз данных ИС VetLab и АС SimBase) на защищенный сервер.

Лист ознакомления

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