

ки) и инкубируют в термостате в течение 30 – 40 мин при температуре ( $37 \pm 1$ ) °С, затем выдерживают в холодильнике при температуре ( $6 \pm 2$ ) °С в течение 24 – 48 ч. Полученную иммунную сыворотку отбирают в стерильные пробирки и исследуют в РМА для выявления специфических антител к штаммам лептоспир 4 серогрупп, входящих в состав вакцины.

#### Методика реакции микроагглютинации (РМА)

РМА ставят в лунках полистиролового планшета. В лунки с А1 по А4 вносят по 0,2 мл анализируемой сыворотки, разведенной 1:25 0,9 % раствором натрия хлорида. В лунки с В1 – В4 по F1 – F4 вносят по 0,1 мл 0,9 % раствора натрия хлорида. Разведение сыворотки осуществляют автоматической пипеткой в направлении лунок от А к F (в вертикальном ряду), перенося по 0,1 мл каждого разведения в следующую в ряду лунку, получая таким образом разведения сыворотки с 1:25 до 1:800.

В качестве антигенов используют 7 – 12-суточные культуры лептоспир 4 серогрупп (*L. interrogans Icterohaemorrhagiae copenhageni*, *L. interrogans Grippotyphosa grippotyphosa*, *L. interrogans Pomona mozdoc*, *L. interrogans Sejroe sejroe*), выращенные на среде Терских. При нанесении 0,02 мл культуры каждой серогруппы на предметное стекло количество лептоспир должно быть не менее 100 – 150 клеток в поле зрения микроскопа при увеличении 200×.

После разведения сыворотки в каждый ряд лунок от А1 до F1, от А2 до F2, от А3 до F3 и от А4 до F4 вносят по 0,1 мл культуры лептоспир соответствующей серогруппы. После добавления антигенов получают разведение сывороток от 1:50 до 1:1600 в каждом вертикальном ряду. Одновременно проводят контроль культур: в 4 лунки (Н1, Н2, Н3, Н4) вносят по 0,1 мл 0,9 % раствора натрия хлорида и по 0,1 мл живой культуры лептоспир каждой серогруппы в отдельности. Планшет выдерживают в течение 1 ч при температуре ( $37 \pm 1$ ) °С. Из лунок планшета с определенной серогруппой отбирают по 0,02 мл смеси сыворотки и культуры лептоспир, наносят на предметное