

*Метод постановки РТГА с вирусом гриппа (макрометод).* РТГА применяют для установления типа и подтипа вируса, т.е. специфичности, а также для определения нарастания титров специфических антител. Постановка РТГА включает следующие этапы работы: приготовление взвеси эритроцитов, определение гемагглютинирующего титра антигена в реакции гемагглютинации (РГА) и рабочей дозы вируса, постановка самой реакции. Для постановки реакции необходимы следующие ингредиенты:

- антиген (вакцина, вируссодержащая жидкость – аллантоисная или культуральная);
- иммунные сыворотки к различным серотипам вируса гриппа;
- фосфатный буферный раствор  $\text{pH } 7,2 \pm 0,2$ ;
- взвесь куриных эритроцитов, 1 %.

1. *Приготовление взвеси куриных эритроцитов.* Для постановки РТГА используют эритроциты петухов. Кровь у петухов берут из сердца или подкрыльцовой вены.

Свежеполученную кровь от 3–5 петухов помещают во флакон со стеклянными бусами или же с одним из антикоагулянтов (раствор Альсеева, 5% раствор натрия цитрата). Дефибринирование крови проводят немедленно путем интенсивного встряхивания флакона в течение 5–7 мин при температуре  $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$  до выпадения волокон фибрина.

Дефибринированную кровь фильтруют через 4 слоя марли, затем трехкратно отмывают фосфатным буферным раствором (на 1 объем крови – 4 объема фосфатного буферного раствора) при центрифугировании  $(800 \pm 200)$  об/мин в течение  $(15 \pm 5)$  мин. Надосадочную жидкость удаляют. Из осадка, принимаемого за 100 %, готовят 1 % суспензию куриных эритроцитов по объему.

2. *Определение гемагглютинирующего титра антигена.* В круглодонных лунках плексигласового планшета готовят двукратные разведения антигена (титруемого вируса из испытуемой вакцины) в объеме 0,4 мл на фос-