

3. Приготовление рабочей дозы антигена. Рабочая доза антигена при постановке РТГА микрометодом равна 8 АЕ. Для её приготовления гемагглютинирующий титр делят на 16. Полученное значение указывает во сколько раз необходимо развести антиген.

Пример разведения антигена: титр антигена равен 160. Разделив 160 на 16, получается цифра 10, указывающая на то, что антиген необходимо развести в 10 раз.

Перед постановкой основного опыта проверяют точность приготовления рабочей дозы (8 АЕ). Для этого в шесть лунок микропанели, начиная со второй, вносят по 25 мкл фосфатного буферного раствора. В 1 и 2 лунки добавляют по 25 мкл приготовленной рабочей дозы антигена. После перемешивания 25 мкл смеси переносят из 2 лунки в 3, из 3 – в 4 и т.д. Из последней лунки панели 25 мкл удаляют. Затем во все лунки добавляют по 25 мкл фосфатного буферного раствора и по 50 мкл 0,5 % суспензии эритроцитов. После встряхивания смесь оставляют при температуре  $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$  на 40 – 45 мин до оседания эритроцитов в контроле.

При правильном выборе рабочей дозы агглютинация эритроцитов должна наблюдаться только в четырех лунках панели. В остальных лунках агглютинация должна отсутствовать. В случае отклонения от указанного результата добавляют антиген или фосфатный буферный раствор для получения необходимой рабочей дозы.

4. Постановка реакции торможения гемагглютинации. Метод постановки реакции микрометодом соответствует таковому, описанному для макрометода, за исключением объемов используемых ингредиентов реакции.

Готовят двукратные разведения сыворотки в объеме 25 мкл, вносят рабочую дозу антигена (8 АЕ) в объеме 25 мкл и после контакта антигена и сыворотки (от 30 мин до 1 ч) при температуре  $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$  в каждую лунку панели вносят по 50 мкл 0,5 % взвеси эритроцитов. После оседания эритроцитов в контроле (как правило, через 40 – 45 мин) проводят учет результатов (макрометод).