

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: приготовление взвеси эритроцитов, определение гемагглютинирующего титра антигена в реакции гемагглютинации (РГА) и рабочей дозы вируса, постановка самой реакции. Для постановки реакции необходимы следующие ингредиенты:

- исследуемый антиген (вакцина, вируссодержащая жидкость – аллантоисная или культуральная);
- иммунные сыворотки к различным типам (А и В) и субтипам типа А вируса гриппа;
- фосфатный буферный раствор $\text{pH } 7,2 \pm 0,2$ (ФБР);
- суспензия куриных эритроцитов, 1 %.

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

Свежеполученную кровь от 3 – 5 петухов помещают во флакон со стеклянными бусами или с одним из антикоагулянтов (раствор Альсевра, 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 ФБР путем центрифугирования при 1500 об/мин в течение 5 мин или 800 ± 200 об/мин в течение (15 ± 5) мин». Надосадочную жидкость удаляют. Из осадка, принимаемого за 100 %, готовят 1 % суспензию куриных эритроцитов по объему.

2. Определение гемагглютинирующего титра антигена. В лунках агглютинационного планшета готовят двукратные разведения антигена в объеме 0,4 мл на фосфатном буферном растворе, начиная с 1:10 до 1:1280. В