

pH раствора доводят с помощью 5 % раствора лимонной кислоты до pH 5,6 (примерно 10 мл 5 % раствора лимонной кислоты на 1 л раствора Альсевера). Раствор стерилизуют фильтрацией или автоклавированием в течение 3 последовательных дней при температуре 100 °С и давлении 0,7 атм. Для консервирования добавляют на 1 мл крови 1,2 мл раствора Альсевера. В данном растворе эритроциты могут храниться при температуре (4 ± 2) °С в течение 1–2 нед. Перед использованием эритроциты необходимо трехкратно отмыть фосфатным буферным раствором с помощью центрифугирования при (800 ± 200) об/мин в течение 10 мин.

3. Приготовление консервирующего 5 % раствора натрия цитрата.

5 % раствор натрия цитрата перед использованием разводят в 2 раза 0,1 М фосфатным буферным раствором (pH $7,2 \pm 0,2$). К одной части полученного раствора натрия цитрата добавляют 2 части крови петухов. В данном растворе эритроциты могут храниться при температуре (4 ± 2) °С в течение 3 – 5 сут.

Метод постановки РТГА с вирусом гриппа (микрометод). Принцип метода, его учет и ингредиенты, те же, что и для проведения РТГА макрометодом. Отличие методов заключается в изменении концентрации и объемов ингредиентов.

Реакцию ставят в микропланшетах с «U»-образными лунками.

1. Приготовление 0,5 % взвеси куриных эритроцитов. Взвесь готовят из 1 % суспензии эритроцитов (см. макрометод) разведением ее в 2 раза фосфатным буферным раствором.

2. Определение гемагглютинирующего титра антигена. В каждую лунку микропланшета одного ряда вносят фосфатный буферный раствор в объеме 50 мкл. Затем в первую лунку вносят 50 мкл антигена в разведении 1:10 и далее проводят титрование по принципу двукратного разведения. Из последней лунки удаляют 50 мкл. Затем в каждую лунку вносят по 50 мкл 0,5 % суспензии эритроцитов. Содержимое лунок перемешивают встряхиванием и оставляют при комнатной температуре на 40–45 мин до оседания эритроцитов в контроле.

Реакцию оценивают по «четырёхкрестовой» системе. За титр антигена, или одну агглютинирующую единицу (АЕ), принимают наибольшее