

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель
Федеральной службы по
надзору в сфере защиты
прав потребителей и
благополучия человека,
Главный государственный
санитарный врач
Российской Федерации
Г.Г.ОНИЩЕНКО
17 августа 2006 г.

Дата введения:
с момента утверждения

4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. БИОЛОГИЧЕСКИЕ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

КОНТРОЛЬ СЫВОРОТКИ КРОВИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА НА ПРИСУТСТВИЕ ПОСТОРОННИХ ВИРУСОВ И МИКОПЛАЗМ

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ МУК 4.2.2123-06

1. Разработаны: ФГУН "Государственный научно-исследовательский институт стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им. Л.А.Тарасевича" Роспотребнадзора (Н.В.Шалунова, З.Е.Бердникова, Е.М.Петручук).
2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол N 2 от 11.07.2006 г.).
3. Утверждены и введены в действие Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г.Г.Онищенко 17 августа 2006 г.
4. Введены взамен: "Контроль сыворотки крови крупного рогатого скота на отсутствие вирусов-контаминантов и микоплазм" РД 42-28-14-88.

1. Область применения

1.1. Методические указания устанавливают методы контроля коммерческой сыворотки крови крупного рогатого скота (далее - сыворотка) на присутствие посторонних вирусов и микоплазм. Сыворотка широко применяется при культивировании органов и тканей животных, используемых для приготовления профилактических и диагностических иммунобиологических препаратов и в научных

1.2. Методические указания предназначены для специалистов органов и учреждений Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, выпускающих и контролирующих медицинские иммунобиологические профилактические препараты.

2. Общие положения

Контроль сыворотки на присутствие микоплазм предусматривает проведение двух методов:

2. Метод индикаторной клеточной культуры (цитохимический метод).

Продолжительность контроля 3-5 сут.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, оборудование, реактивы и материалы

весы аптечные от 1 до 20 г, погрешность
+/- 20 мг

колбы стеклянные, конические,
емкостью 50 мл, 100 мл ГОСТ 25336-82Е
стакан химический, емкостью 1000 мл ГОСТ 25336-82Е
пипетки градуированные от 1,0 до 10,0 мл ГОСТ 29227-91
пробирки бактериологические
емкостью от 10,0 до 20,0 мл ГОСТ 25336-82Е
стакан химический, емкостью 1000 мл ГОСТ 25336-82Е
флаконы для культивирования из

нейтрального стекла (матрасы)	ГОСТ 5636-70
флаконы, вместимостью 100, 500 мл	МРТУ 5031-32
мешалка магнитная	МРТУ 64-1-1503-67
микроскоп биологический (любой модели)	
микроскоп люминесцентный серии ЛЮМАМ	
ножницы медицинские	ГОСТ 21239-93
пинцеты анатомические	ТУ 64-1-37-78
пробки резиновые	ТУ 38.006269-95
стекла предметные	ТУ 9464-001-33016370-95
чашки Петри (однократного применения)	ТУ 64-2-19-79
воронка стеклянная	ГОСТ 25336-82Е
камера Горяева	ТУ 9443-001-11856833-94
термостат на температуру 37 град. С	
с погрешностью измерения не более	
+/- 1 град. С	
холодильник с температурой от 4 до	
10 град. С, вместимостью 1000 мл	
холодильник с температурой минус	
(20 +/- 4) град. С	
центрифуга ЦЛС-3	МРТУ 42.1778-65 (495)

3.2. При выполнении контроля должны быть применены следующие реактивы и материалы:

бензилпенициллина натриевая соль	ФСП 42-0048-1083-01
стрептомицина сульфат	ФС 42-3726-99
версена раствор	ФСП 42-0196-3274-02
вода дистиллированная	ГОСТ 6709-72
гидролизат сердца крупного рогатого	
скота	
дрожжи хлебопекарные прессованные	ГОСТ 171-81
глицерин, чда	ГОСТ 6259-75
масло иммерсионное кедровое (чистое)	ТУ 81-05-79-75
мясная вода	ТУ 42.14.271-82
натрия гидроокись	ГОСТ 4228-77
натрия хлорид	ГОСТ 4233-77
раствор Хенкса	ФСП 42-0343-3541-02
спирт этиловый ректификованный	
96 град.	ГОСТ 18300-87
питательная среда ДМЕМ	ФСП 42-0343-3544-02
сыворотка крови крупного рогатого	
скота, жидкая для культур клеток	
(предварительно отконтролированная	
на присутствие посторонних вирусов	
и микоплазм)	ФСП 42-0196-4672-03
тестикулы эмбрионов быка (получают	
на мясокомбинате, срок хранения не	
более 1 сут. при температуре от 4	
до 10 град. С)	
трипсин (0,25%-й раствор)	ФСП 42-0343-3805-03
хлороформ	ГОСТ 20015-88

бумага фильтровальная ГОСТ 12026-761
вата медицинская гигроскопическая ТУ 8195-01116673801-99
марля медицинская ГОСТ 9412-93,
 ТУ 9390-0119-34576906-95

4. Требования безопасности

Работу с микроорганизмами 3 и 4 групп проводят в соответствии с СП 1.2.731-99 "Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности и гельминтами".

5. Условия проведения контроля

Подготовительные операции и испытания на присутствие посторонних вирусов и микоплазм проводят в чистых помещениях класса А/В (GMP) с ламинарным потоком воздуха при соблюдении правил асептики, при температуре (20 +/- 2) град. С и относительной влажности 60-70%.

6. Контроль сыворотки на присутствие посторонних вирусов

При выполнении контроля используют два вида клеточных культур: первично-трипсинизированные - тестикулы эмбрионов быка (ТБ) 4-6-месячного возраста и перевиваемые - почки быка (МДБК) или любые другие перевиваемые клеточные культуры почки крупного рогатого скота, в которые вносят исследуемые сыворотки. Принцип метода основан на появлении цитопатического действия (ЦПД) или гемадсорбции под действием вирусов-контаминантов.

6.1. Подготовка к выполнению контроля

При подготовке к выполнению контроля сыворотки на присутствие посторонних вирусов должны быть выполнены следующие операции:

6.1.1. Приготовление первично-трипсинизированной клеточной культуры тестикулов эмбрионов быка (ТБ).

6.1.2. Доставляют тестикулы эмбрионов быков 4-6-месячного возраста с перевязанной мошонкой с мясокомбината в любом стерильном сосуде с 250-270 мл раствора Хенкса с 500 ед/мл бензилпенициллина калиевой или натриевой соли.

6.1.3. Обжигают кожу мошонки над пламенем горелки и обрабатывают тампоном со спиртом.

6.1.4. Срезают ножницами кожу с кончика мошонки и, подтягивая тестикулы за семенные канатики, извлекают их.

6.1.5. Помещают тестикулы в стерильную чашку Петри и удаляют ножницами белочную оболочку.

6.1.6. Переносят тестикулы в чашку Петри с 30-35 мл раствора Хенкса с 100 ед/мл антибиотика.

6.1.7. Разрезают тестикулы вдоль и вылуцивают ножницами содержимое в раствор Хенкса.

6.1.8. Промывают ткань тестикулов до просветления жидкости 2-3

раза в растворе Хенкса с 500 ед/мл антибиотика.

6.1.9. Помещают ткань тестикулов в колбу вместимостью 500 мл с перемешивающим стержнем, прилагаемым к магнитной мешалке.

6.1.10. Нагревают 0,2%-й раствор трипсина до температуры (20 +/- 2) град. С и наливают 100-150 мл в колбу. Колбу ставят на магнитную мешалку и включают ее. Скорость вращения перемешивающего стержня должна быть такой, чтобы жидкость не пенилась и стержень не ударялся о стенки колбы.

Перемешивание проводят 5-6 мин.

6.1.11. Сливают надосадочную жидкость после первого цикла трипсинизации в колбу для отходов.

6.1.12. Проводят 4-5 циклов трипсинизации.

6.1.13. Сливают надосадочную жидкость после каждого цикла во флаконы вместимостью 100 мл.

6.1.14. Помещают флаконы в центрифугу и осаждают клетки при скорости 1000-1500 об/мин. в течение 10-15 мин.

6.1.15. Вынимают флаконы из центрифуги, сливают надосадочную жидкость в сосуд для отходов.

6.1.16. Добавляют в каждый флакон к осадку клеток по 10-15 мл среды 0,5%-го гидролизата лактальбумина на растворе Хенкса.

6.1.17. Объединяют полученные суспензии клеток в один флакон и отбирают пипеткой (0,5 +/- 0,01) мл.

6.1.18. Добавляют к 0,5 мл этой суспензии 0,5 мл 0,1%-го раствора метиленового синего и подсчитывают окрашенные клетки в

х

камере Горяева при увеличении 70. Для точности результатов подсчет проводят в нескольких пробах. Количество клеток в 1 мл подсчитывают по формуле:

$$X = \frac{a \times 1000 \times 2}{0,9}, \text{ где}$$

X - концентрация клеток в 1 мл исходной суспензии;

a - среднее число клеток в нескольких пробах;

0,9 - объем камеры Горяева в куб. мм;

1000 - число куб. мм в 1 куб. см;

2 - коэффициент разведения суспензии добавленным объемом краски.

6.1.19. Разводят суспензию клеток средой ДМЕМ во флаконе по

5

п. 6.1.17. с таким расчетом, чтобы в 1 мл содержалось 4-5 x 10⁵ клеток/мл.

6.1.20. Вносят в каждый из 2 флаконов вместимостью 1000 мл по 100-120 мл разведенной суспензии клеток и добавляют 10% сыворотки, предварительно отконтролированной на присутствие посторонних вирусов и микоплазм.

6.2. Культивирование и подготовка перевиваемой клеточной культуры почки быка (МДВК)

6.2.1. Готовят во флаконе вместимостью 100 мл 50 мл смеси, состоящей из равных объемов 0,02%-го раствора версена и 0,25%-го раствора трипсина и нагревают ее до температуры (20 +/- 2) град. С.

6.2.2. Просматривают флаконы с МДВК вместимостью 1000 мл под
х
микроскопом при увеличении 70 и отбирают с полным монослоем клеток.

6.2.3. Сливают питательную среду из флаконов в сосуд для отходов и добавляют смесь версена и трипсина.

6.2.4. Оставляют клетки в смеси версена и трипсина при температуре (20 +/- 2) град. С и наблюдают за ними визуально.

6.2.5. Когда начнется "набухание" и слабое "отслоение" клеток от стекла (обычно через 15-20 мин.), сливают смесь версена и трипсина в сосуд для отходов.

6.2.6. Флаконы с клеточной культурой помещают при температуре (37 +/- 1) град. С на 30-35 мин.

6.2.7. Добавляют во флаконы по 50 мл среды ДМЕМ и встряхивают их так, чтобы все клетки отделились от стекла.

6.2.8. Подсчитывают клетки в камере Горяева, как указано в п. 5.1.18.

6.2.9. Разводят клетки средой ДМЕМ с таким расчетом, чтобы в 1
5
мл содержалось 2×10^5 клеток/мл.

6.2.10. Вносят в каждый из 2 флаконов по 100-120 мл разведенной суспензии клеток и добавляют 10% сыворотки, предварительно отконтролированной на присутствие посторонних вирусов и микоплазм.

6.2.11. Через 5-6 сут. просматривают флаконы под световым микроскопом и отбирают с полным монослоем клеток.

6.3. Выполнение контроля сыворотки на присутствие посторонних вирусов

При выполнении контроля сыворотки на присутствие посторонних вирусов должны быть выполнены следующие операции:

6.3.1. Отбирают по 1 флакону с клеточными культурами ТБ и МДВК для проверки испытуемой сыворотки и по 1 флакону с теми же культурами в качестве контрольных.

6.3.2. Сливают питательную среду из флаконов в сосуд для отходов.

6.3.3. Монослой клеток ТБ и МДВК промывают 3 раза средой ДМЕМ без сыворотки.

6.3.4. Вносят пипеткой в каждый из двух флаконов вместимостью 1000 мл с клеточными культурами ТБ и МДВК по 25 мл испытуемой сыворотки так, чтобы разведение в среде не превышало 1:4 из расчета не менее 3 кв. см площади на 1 мл сыворотки.

Одновременно вносят пипеткой в каждый из двух контрольных флаконов вместимостью 1000 мл с клеточными культурами ТБ и МДВК по

25 мл сыворотки, ранее отконтролированной на присутствие посторонних вирусов и микоплазм.

6.3.5. Инкубируют клеточные культуры ТБ и МДВК при температуре (20 +/- 2) град. С (60 +/- 5) мин.

6.3.6. Сливают сыворотку и добавляют в опытные и контрольные флаконы с культурами ТБ и МДВК по 75 мл среды ДМЕМ.

Инкубируют при температуре (37 +/- 1) град. С 14 сут.

6.3.7. С целью обнаружения цитопатогенного действия (ЦПД) просматривают опытные и контрольные клеточные культуры под микроскопом на 2, 5, 7, 10 и 14 сут.

6.3.8. Если в опытных и контрольных клеточных культурах не будет наблюдаться ЦПД, через 14 сут. их трижды замораживают при температуре минус (20 +/- 2) град. С и размораживают при температуре (37 +/- 2) град. С.

6.3.9. После размораживания культуры флаконы встряхивают, отбирают из каждого флакона с клеточными культурами ТБ и МДВК по 25 мл суспензии и вносят во флаконы с клетками того же вида. Два флакона с клеточными культурами ТБ и МДВК оставляют для контроля.

6.3.10. Вносят в опытные и контрольные клеточные культуры ТБ и МДВК по 75 мл среды ДМЕМ.

6.3.11. Клеточные культуры инкубируют при температуре (37 +/- 2) град. С в течение 14 сут.

Если в течение 14 сут. в опытных и контрольных клеточных культурах не наблюдается ЦПД, их проверяют на наличие гемадсорбирующих вирусов.

6.3.12. Сливают из флаконов питательную среду и промывают культуры 3 раза раствором Хенкса.

6.3.13. Добавляют в опытные и контрольные клеточные культуры по 50 мл 0,25%-й взвеси куриных эритроцитов и эритроцитов морской свинки и инкубируют их при температуре (37 +/- 2) град. С.

6.3.14. Через 30-35 мин. эритроциты из флаконов удаляют, а монослой промывают раствором Хенкса и просматривают под

х

микроскопом при увеличении 70 .

6.4. Учет результатов

6.4.1. Если в клеточных культурах при первичной инокуляции сыворотки и в пассаже не выявлено ЦПД и не отмечено гемадсорбции, сыворотка признается пригодной.

6.4.2. Если при исследовании наблюдается ЦПД или отмечается гемадсорбция в испытуемых клеточных культурах при отсутствии в контроле, сыворотку бракуют.

6.4.3. Если ЦПД или гемадсорбция появились в контрольных и в опытных клеточных культурах, допускается однократный переконтроль сыворотки.

7. Контроль сыворотки на присутствие микоплазм

7.1. Микробиологический метод контроля сыворотки

на присутствие микоплазм

Обнаружение микоплазм микробиологическим методом предусматривает внесение исследуемой сыворотки в бульонную питательную среду, инкубирование в течение 7 сут. и последующий высев на питательную среду, содержащую 0,3% агара.

7.2. Чувствительность микробиологического метода

Микробиологический метод контроля сыворотки позволяет обнаруживать одну и более колоний микоплазм в объеме не более 100 мл сыворотки.

7.3. Приготовление бульонной среды

7.3.1. Для приготовления 1 л среды к 200 мл триптического гидролизата бычьего сердца (содержание сухих веществ 8-10%) добавляют 400 мл мясного экстракта 1:2 (содержание сухих веществ 3,0-3,5%), экстракт хлебопекарных дрожжей из расчета 1,5 г сухих веществ на 1 л среды, и 5,0 г хлорида натрия.

7.3.2. С помощью 10%-го раствора NaOH устанавливают значение pH бульонной среды от 8,0 до 8,2.

7.3.3. Среду нагревают до кипения, кипятят 2-3 мин., фильтруют через складчатый бумажный фильтр.

7.3.4. Разливают по 300-305 мл во флаконы, закрытые ватно-марлевыми или резиновыми пробками и завальцованные алюминиевыми колпачками, и стерилизуют автоклавированием при температуре 110 град. С 30 мин. С помощью 5%-го раствора соляной кислоты устанавливают pH от 7,8 до 8,0.

7.3.5. Для приготовления среды, содержащей 0,3% агара, дополнительно вносят 3,0 г агара.

Готовые среды хранят при температуре от 2 до 8 град. С не более 4 мес.

7.4. Стерильность питательной среды

7.4.1. Для испытания на стерильность отбирают не менее 2% от количества емкостей в серии. Определение проводят путем визуального просмотра каждого флакона с питательной средой после выдерживания в течение 44-48 ч при температуре (37 +/- 1) град. С и 14 сут. при температуре 20-25 град. С.

7.4.2. В случае пророста хотя бы в одном флаконе бракуют всю серию. Далее питательная среда не используется.

7.5. Определение ростовых свойств среды, содержащей 0,3% агара

Каждую серию приготовленной среды проверяют на ростовые свойства, используя тест-штамм *Mycoplasma arginini* G 230 (ОСО 42-28-378-05).

Среду считают чувствительной и признают годной, если результаты ее испытания соответствуют Инструкции по применению ОСО 42-28-378-05.

7.6. Подготовка сред для контроля

7.6.1. Перед употреблением полужидкую среду, содержащую 0,3% агара, разогревают в водяной бане до полного расплавления агара и охлаждают до температуры 40-45 град. С.

7.6.2. Добавляют 15-20% нормальной сыворотки крови лошади без консерванта, предварительно проверенной на стерильность и присутствие микоплазм, и 100 ед/мл бензилпенициллина натриевой соли.

7.6.3. Разливают по 10 мл в бактериологические пробирки и закрывают ватно-марлевыми пробками. Хранят среду при температуре от 2 до 8 град. С не более 7 сут.

7.7. Выполнение контроля сыворотки на присутствие микоплазм микробиологическим методом

При выполнении контроля сыворотки микробиологическим методом должны быть выполнены следующие операции:

7.7.1. Вносят (300 +/- 2) мл бульонной среды во флакон вместимостью 500 мл. Флакон закрывают ватно-марлевой пробкой.

7.7.2. Вносят (100 +/- 2) мл исследуемой сыворотки в (300 +/- 2) мл бульонной среды. Смесь инкубируют 7 сут. при температуре (37 +/- 1) град. С и относительной влажности 80-90%.

7.7.3. Отбирают 10 пробирок со средой, содержащей 0,3% агара, и вносят в каждую пробирку по (1,0 +/- 0,1) мл смеси исследуемой сыворотки и бульонной среды. Посев проводят прокалыванием всего столбика питательной среды, содержащейся в пробирке, концом пипетки вместимостью 1,0 мл, выпуская равномерно ее содержимое, начиная от дна до поверхности.

7.7.4. Инкубируют посевы 14 сут. при температуре (37 +/- 1) град. С и относительной влажности 80-90%.

7.8. Учет результатов

7.8.1. Учет результатов проводят путем визуального просмотра засеянных пробирок в проходящем свете на 4, 7, 10, 14 сут.

7.8.2. Сыворотка считается свободной от микоплазм, если через 14 сут. не обнаруживают роста микоплазм ни в одной из засеянных пробирок.

7.8.3. В случае получения сомнительных результатов проводят повторный контроль.

7.8.4. При повторном контроле, при наличии роста микоплазм хотя бы в одной пробирке, сыворотка считается контаминированной микоплазмами.

8. Контроль сыворотки на присутствие микоплазм методом

индикаторной клеточной культуры (цитохимический метод)

Метод обнаружения микоплазм с использованием индикаторной клеточной культуры Vero основан на внесении испытуемой сыворотки в клеточную культуру и обработку препарата специфическим флюоресцирующим красителем Hoechst-33258, окрашивающим ДНК клеток и микоплазм. Возможно применение другого флюорохрома, аттестованного в ГИСК им. Л.А.Тарасевича. Клеточную культуру Vero (или другую чувствительную к микоплазмам) получают из банка клеток, аттестованного в соответствии с требованиями ВОЗ в ГИСК им. Л.А.Тарасевича.

8.1. Подготовка к выполнению контроля на присутствие микоплазм методом индикаторной клеточной культуры

При подготовке к выполнению контроля сыворотки на присутствие микоплазм методом индикаторной клеточной культуры должны быть выполнены следующие операции: приготовление основного и рабочего раствора красителя Hoechst-33258, подготовка люминесцентного микроскопа, подготовка предметных стекол.

8.1.1. Приготовление основного и рабочего раствора Hoeschst-33258

Соблюдая стерильность, 5 мг концентрата Hoeschst-33258 растворяют в 100 мл стерильной дистиллированной воды (основной раствор).

Для получения рабочего раствора добавляют концентрат красителя в раствор Хенкса без индикатора в соотношении 1:9 и используют для окраски препаратов немедленно.

8.1.2. Подготовка люминесцентного микроскопа

Используют для анализа препаратов фильтры: ФС1-4, СС15-2,
х х
БС8-2. Просматривают препараты при увеличении ок. 10 , об. 90
х х
масляная иммерсия, или об. 70 или об. 85 водная иммерсия.

8.1.3. Подготовка предметных стекол

Промывают стекла в проточной водопроводной воде в течение 10-15 мин. Помещают стекла в сосуд с дистиллированной водой и кипятят 5-7 мин. После охлаждения до температуры 20-22 град. С извлекают стекла с помощью пинцета и помещают в чашку Петри. Протирают каждое стекло стерильной салфеткой и помещают на 1 сут. в смесь Никифорова, состоящую из равных объемов 96 град. этилового спирта и эфира для наркоза. Извлекают стекла с помощью пинцета из смеси Никифорова и протирают каждое стекло стерильной салфеткой. Стерилизуют стекла (30 +/- 2) мин. при температуре (120

+/- 2) град. С.

8.2. Выполнение контроля сыворотки на присутствие микоплазм методом индикаторной клеточной культуры

При проведении испытания на присутствие микоплазм методом индикаторной клеточной культуры выполняют следующие операции:

8.2.1. Вносят 1 мл испытуемого материала в чашку Петри диаметром 90 мм, содержащую стерильное предметное стекло и 20-23

5

мл суспензии клеточной культуры Vero в концентрации 10 кл/мл.

8.2.2. Инкубируют чашку Петри с клеточной культурой Vero в течение 3-5 сут. при температуре (37 +/- 1) град. С в анаэробных условиях до формирования 50-70% монослоя. Образование монослоя

х х

наблюдает в световом микроскопе при увеличении ок. 10 , об. 20 .

8.2.3. Сливают культуральную жидкость, промывают препарат питательной средой или буфером (рН 7,2-7,4).

8.2.4. Помещают предметное стекло на 30-35 мин. в 96 град. этиловый спирт.

Сливают спирт и высушивают препарат на воздухе.

8.2.5. Добавляют рабочий раствор красителя Ноеchst-33258 и окрашивают в темноте при температуре (37 +/- 1) град. С в течение 30-35 мин.

8.2.6. Сливают краситель, промывают препарат стерильной дистиллированной водой, подсушивают на воздухе и микроскопируют.

8.3. Учет результатов

Учет результатов испытания на присутствие микоплазм методом окрашивания ДНК флюорохромом Ноеchst-33258 на индикаторной культуре клеток Vero проводят путем просмотра препаратов в люминесцентном микроскопе.

Микоплазмы выглядят, как однородно окрашенные тела сферической формы, имеющие вид отдельных, парных, цепочечных или нитевидных образований яркого зеленоватого свечения. Диаметр обычно находится в пределах 0,1-0,3 микрона.

Микоплазмы в виде ярко светящейся зернистости на фоне темной цитоплазмы выявляют по периферии клеток и в межклеточном пространстве.

Условно интенсивность контаминации микоплазмами обозначают знаками креста:

- 1 крест - единичные микоплазмы в препарате;
- 2 креста - небольшие скопления микоплазм в поле зрения;
- 3 креста - отдельные микоплазмы и скопления в 20-50% клеток;
- 4 креста - максимальное количество микоплазм в виде скоплений в межклеточном пространстве в каждом поле зрения.

В качестве положительных контрольных образцов используют заведомо контаминированные микоплазмами клеточные культуры.

Отрицательными контрольными образцами служат клеточные

культуры, в которых описанные выше светящиеся образования не выявлены.

Обнаружение микоплазм в препаратах на индикаторной клеточной культуре Vero свидетельствует о контаминации испытуемого материала микоплазмами.

В случае получения сомнительных результатов следует проводить повторный контроль.

Окончательный ответ о присутствии микоплазм в сыворотке будет учитывать результаты двух методов: микробиологического и метода индикаторной клеточной культуры.

В случае обнаружения микоплазм хотя бы одним методом сыворотка считается контаминированной и бракуется.

Приложение

Таблица 1

Контроль сыворотки крови крупного рогатого скота
на присутствие посторонних вирусов

Т		
Клеточные культуры	Результаты контроля	
	Т	
	ЦПД	Гемадсорбция
Первично-трипсинизированная клеточная культура ТБ	Не обнаружено	Не обнаружено
Перевиваемая клеточная культура МДВК	Не обнаружено	Не обнаружено

Таблица 2

Контроль сыворотки крови крупного рогатого скота
на присутствие микоплазм

Т	
Методы	Результаты контроля
Микробиологический (посев на питательные среды)	Отсутствие роста
Цитохимический	Отсутствие люминесцентного свечения в индикаторной клеточной культуре Vero

