УТВЕРЖДАЮ
Директор РНПЦ эпидемиологии и микробиологии
_____ В.А. Горбунов
«__»_____ 2019 г.

ИНСТРУКЦИЯ
по применению иммуноглобулина флуоресцирующего сухого для лабораторной диагностики гриппа А (H5N1)

ТУ BY 100558032.300-2014

Минск, 2019

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
РНПЦ эпидемиологии и микробиологии
ул. Филимонова, 23, 220114 Минск, Беларусь
тел/факс 264-30-93, e-mail: belriem@gmail.com

ИНСТРУКЦИЯ

по применению иммуноглобулина флуоресцирующего сухого для лабораторной диагностики гриппа А (H5N1) методом прямой иммунофлуоресценции

Иммуноглобулин флуоресцирующий сухой для лабораторной диагностики гриппа А (H5N1) методом прямой иммунофлуоресценции (далее — иммуноглобулин) выпускается в лиофилизированном виде во флаконах по 1,0 мл, по внешнему виду представляет собой пористую массу желтовато-оранжевого цвета. Основным свойством иммуноглобулина является способность образовывать специфические комплексы антиген-антитело, наличие которых выявляют прямым методом флуоресцирующих антител (МФА).

НАЗНАЧЕНИЕ

Иммуноглобулин применяют для выявления специфических антигенов возбудителя в материале от пациентов с поражением дыхательного тракта.

СОСТАВ УПАКОВКИ

- Иммуноглобулин — 3 фл.
- Эванс голубой 0,5% раствор — 1 фл.
- Стекла предметные (или деколированные) — 1 шт.
- Инструкция по применению — 1 шт.

Каждый флакон иммуноглобулина рассчитан на 20–30 исследований на предметном стекле и на 60–80 исследований на деколированном стекле с лунками.

СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

Приготовление препаратов для флуоресцентной микроскопии

Для обследования пациентов с предполагаемой вирусной инфекцией в качестве материала для исследования готовят препараты, содержащие цилиндрический эпителий слизистой оболочки носовой полости. Для этой цели стерильным ватным тампоном, введенным через носовое отверстие в нижний носовой ход, ротационными движениями собирают как можно больше эпителиальных клеток. Затем тампон помещают в пробирку с физиологическим раствором. Для получения суспензии клеток ватные тампоны отжимают, полученную жидкость центрифугируют 5–6 мин при 3 000 об/мин. Надосадочную жидкость сливают, осадок ресуспендируют в нескольких каплях оставшегося раствора и наносят на предметные стекла раздельными каплями. Полученные препараты высушивают и фиксируют 1 мин в холодном ацетоне (х.ч. или ч.д.а.).

Приготовление рабочих растворов иммуноглобулина

Сухой флуоресцирующий иммуноглобулин растворяют в 1,0 мл дистиллированной воды. Затем, непосредственно перед употреблением, разводят дистиллированной водой до получения рабочего разведения, указанного на этикетке. Для гашения неспецифической флуоресценции добавляют раствор Эванса голубого из расчета 10 мкл на 100 мкл иммуноглобулина.

Разведенный иммуноглобулин при необходимости можно хранить в течение 30 дней при 2–8^0 С, рабочее разведение рекомендуется готовить по мере надобности, допускается хранение в течение 7 дней при температуре 2–8^0 С.

Обработка препаратов иммуноглобулином

Фиксированные препараты помещают во влажную камеру (специальную или чашку Петри с влажной фильтровальной бумагой на дне); на каждый препарат наносят каплю (20 мкл) рабочего разведения иммуноглобулина и выдерживают в течение 30 мин при

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

37^0 С. Затем препарат промывают дистиллированной водой трижды по 1–2 мин и высушивают.

Оценка результатов

Исследование подготовленных препаратов проводят на люминесцентном микроскопе с использованием иммерсионного объектива ×90 и сине-фиолетовых светофильтров возбуждения. При этом следует пользоваться только нефлуоресцирующим иммерсионным маслом или его заменителями (диметилфталат, водная иммерсия). Допускается просмотр препаратов без иммерсии.

При люминесцентной микроскопии препаратов из материала от пациентов выявляются различные эпителиальные клетки, лейкоциты, клеточный детрит, слизь. Плоские эпителиальные клетки, характеризующиеся крупными размерами, неправильной или полигональной формой с относительно малыми ядрами не имеют диагностического значения.

Клетки цилиндрического эпителия удлиненные, меньше плоских по размерам, с относительно крупными, базально расположенными ядрами. Помимо этого в препаратах имеются округлые клетки, сходные с типичными клетками цилиндрического эпителия, которые являются переходными формами, и в которых возможно накопление вирусов.

Диагностика осуществляется на основании выявления диффузно-гранулярной флуоресценции в цитоплазме или ядрах клеток цилиндрического эпителия или близких к ним по структуре переходных форм. Диагностически доказательным является специфическое свечение не менее 5–7 клеток цилиндрического эпителия с яркостью, четко отличающейся по интенсивности свечения от фоновой окраски окружающих интактных клеток. Свечение клеточного детрита, слизи и лейкоцитов не следует учитывать как специфическое.

Оценку интенсивности иммунофлуоресцентной окраски проводят по 4-бальной условной шкале яркостей.

ТРЕБОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ

Применение иммуноглобулина включает этап фиксации мазков от пациентов с использованием летучих веществ (ацетона и др.). Работа на этом этапе должна проводиться в боксе с вентиляцией в соответствии с требованиями СанПиН «Требования безопасности при осуществлении работ с условно-патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортировки». Набор содержит раствор Эванса голубого. Раствор токсичен, при работе избегать контакта, использовать соответствующие средства индивидуальной защиты.

Утилизация отходов после использования иммуноглобулина проводится в соответствии с требованиями Санитарных норм и правил «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

СРОК ГОДНОСТИ, УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ

Срок годности иммуноглобулина — 1 год с даты приемки ОБК изготовителя.

Хранение и транспортирование иммуноглобулина осуществляют при температуре от плюс 2 до плюс 8 С. Допускают транспортирование при более высокой температуре (до +20 С) не более 1 сут.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru