

УТВЕРЖДАЮ
Главный государственный
санитарный врач
Российской Федерации
Г.Г. Онищенко
2006 г.
№ 01-11/116-06

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
иммуноглобулинов диагностических для выявления риккетсий
группы клещевой пятнистой лихорадки люминесцирующих,
лиофилизата для диагностических целей

Иммуноглобулины диагностические для выявления риккетсий группы клещевой пятнистой лихорадки люминесцирующие представляют собой конъюгат иммуноглобулина, полученного из иммунной сыворотки лошади после гипериммунизации культурой живых риккетсий Сибирика штамма К-1 с флюоресцеином изотиоцианатом (ФИТЦ), и инактивированным антигеном риккетсий Сибирика. Консерванта не содержит.

Иммуноглобулины имеют вид порошка или пористой массы в виде таблетки желто-оранжевого цвета. В растворенном виде – желто-оранжевая опалесцирующая жидкость без осадка.

Биологические свойства. Основным действующим началом препарата являются меченые ФИТЦ иммуноглобулины к риккетсиям Сибирика, при взаимодействии которых с риккетсиями группы клещевой пятнистой лихорадки наблюдается специфическая флуоресценция.

Назначение. Экспресс-метод обнаружения и идентификации риккетсий группы клещевой пятнистой лихорадки в различных материалах.

Способ применения.

Приготовление мазков для люминесцентной микроскопии. В день исследования готовят мазки на тщательно обезжиренных предметных стеклах.

Для выявления риккетсий в единичных клещах исследуют гемолимфу насекомого: у клеща отсекают конечности и готовят мазки из вытекающей гемолимфы.

Исследование партии клещей проводят следующим образом: 10 насекомых растирают в фарфоровой ступке с кварцевым песком, эмульгируют в 1 мл фосфатно-солевого буферного раствора pH (7,3±0,1)* центрифугируют при 1000 об/мин в течение 5 мин, готовят мазки из надосадочной жидкости.

Желточные оболочки куриных эмбрионов, подлежащие исследованию, помещают в пробирки со стеклянными бусами, измельчают путем встряхивания, добавляют фосфатно-солевой буферный раствор pH (7,3±0,1) из расчета 5 мл на одну оболочку. Взвесь центрифугируют при 1000 об/мин в течение 5 мин, готовят мазки из надосадочной жидкости.

Для обнаружения риккетсий в культуре ткани исследованию подвергают стеклянные пластинки с инфицированным монослоем тканевой культуры.

Взамен инструкции, утвержденной 15.08.00 г.

* Приготовление фосфатно-солевого буферного раствора (pH 7,3 ± 0,1): 8,7 г натрия хлорида NaCl, 1,513 г натрия фосфорнокислого двузамещённого (Na₂HPO₄·2H₂O), высушенных до постоянной массы при температуре 48-50 °С, и 0,204 г калия фосфорнокислого однозамещённого (KH₂PO₄) помещают в мерную колбу вместимостью 1 л, растворяют в 800 мл воды очищенной, доводят объем раствора водой до 1 л и перемешивают.

При исследовании органов и тканей зараженных животных готовят мазки-отпечатки, прикладывая предметное стекло к поверхности свежего среза исследуемого органа.

Мазки из исследуемых материалов должны быть как можно более тонкими.

Препараты высушивают на воздухе и фиксируют в течение 15-20 мин 96 % этиловым спиртом при температуре $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$. Неокрашенные фиксированные мазки можно хранить при температуре от 2 до 8°C в течение 2 месяцев.

Окраска мазков люминесцирующими иммуноглобулинами. Все операции проводят в темном помещении. Содержимое ампулы с препаратом растворяют в 0,5 мл очищенной воды. Растворенный препарат можно хранить в герметичной емкости при температуре от 2 до 8°C в течение 4 недель в защищенном от света месте.

Непосредственно перед нанесением на исследуемые мазки растворенный препарат разводят фосфатно-солевым буферным раствором рН $(7,3 \pm 0,1)$ в соответствии с указанием на ампуле (рабочее разведение).

Рабочее разведение люминесцирующих иммуноглобулинов необходимо использовать в течение рабочего дня.

Перед окраской фиксированный на предметном стекле материал помещают в открытую влажную камеру (чашка Петри с влажной фильтровальной бумагой на дне). На него наносят каплю препарата, взятого в рабочем разведении. Камеру закрывают. Взаимодействие антигена с антителом происходит в течение (17 ± 3) мин при температуре $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$. Каплю конъюгата смывают фосфатно-солевым буферным раствором рН $(7,3 \pm 0,1)$ и помещают в кювету, где отмывают указанным выше раствором дважды по 7 мин, ополаскивают водой очищенной и высушивают на воздухе.

Опыт сопровождают контролем специфичности препарата: на предметных стеклах готовят мазки из неинфицированных объектов (клещей, желточных оболочек и т.д.).

Все условия постановки контроля должны быть равнозначны условиям постановки основного опыта.

Микроскопия мазков. Мазки просматривают в люминесцентном микроскопе любой системы или в обычном биологическом микроскопе, снабженном опак-иллюминатором и люминесцентным осветителем. Используют иммерсионные объективы $90 \times 1,25$, $100 \times 1,30$ и окуляры 5х, 7х, 10х (в зависимости от освещенности препарата).

Светофильтры (применительно к микроскопу МЛ-2) следует располагать следующим образом: СЗС-24-2, БС-8-2, УФС-6-5. Запирающий светофильтр ЖС-3.

При просмотре препаратов используют нефлуоресцирующее иммерсионное масло или чистый диметилфталат.

Учет результатов проводят на основе оценки интенсивности свечения и морфологии риккетсий группы клещевой пятнистой лихорадки по системе 4 крестов:

++++	очень яркая (сверкающая) флуоресценция изумрудно-зеленого цвета по периферии микробной клетки, морфология риккетсий типична
+++	яркая флуоресценция зеленого цвета по периферии микробной клетки, морфология риккетсий типична
++	слабая диффузная флуоресценция микробной клетки зеленого цвета, морфология риккетсий выявляется нечетко
+	очень слабая флуоресценция неопределенного цвета, морфология риккетсий неразличима
-	флуоресценция отсутствует

Положительными являются результаты, оцениваемые не менее чем на три креста.

Форма выпуска. По 0,5 мл в ампуле. 10 ампул, нож ампульный или скарификатор ампульный, инструкция по применению в пачке.

Срок годности. Условия хранения и транспортирования. Срок годности - 4 го-

в соответствии с СП 3.3.2.1248-03 при температуре от 2 до 8 °С в недоступном для детей месте. Транспортируют в соответствии с СП 3.3.2.1248-03 при температуре от 2 до 8 °С.

Условия отпуска. Для лечебно-профилактических и санитарно-профилактических учреждений.

Рекламации на качество препарата, с обязательным указанием номера серии и даты изготовления, направлять в ФГУН ГИСК им. Л.А. Тарасевича Роспотребнадзора, 119002, г. Москва, пер. Сивцев Вражек, д.41, тел. (495) 241-39-22, факс (495) 241-92-38 и в адрес предприятия-производителя ФГУП «НПО «Микроген», 115088, г. Москва, ул.1-я Дубровская, 15, тел.(495) 981-62-00 (Адрес производства: 614089, г. Пермь, ул. Братская, д. 177, тел. (342) 248-57-22).

Начальник Управления
регистрации и обеспечения
качества лекарственных средств
ФГУП «НПО «Микроген»



С.А. Коровкин