

«УТВЕРЖДАЮ»

Первый заместитель
генерального директора
ФГБНУ «ФНЦИРИП
им. М.П. Чумакова РАН»

А.Ю. Афонин

«16» апреля 2018 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ИН ВИТРО

**Тест-система иммуноферментная
для определения антигенов хантавирусов
ХАНТАГНОСТ**

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Тест-система иммуноферментная для определения антигенов хантавирусов ХАНТАГНОСТ (далее ХАНТАГНОСТ или тест-система) предназначена для обнаружения антигенов хантавирусов с целью диагностики возбудителей особо опасной природноочаговой вирусной инфекции геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС) в тканях человека (материалах некропсии), а также в тканях органов мелких млекопитающих, являющихся природным резервуаром хантавирусов и источником заражения людей.

1.2. Функциональное назначение

Тест-система иммуноферментная ХАНТАГНОСТ используется для диагностики ГЛПС по результатам исследования некропсийных материалов, а также для мониторинга очага хантавирусной инфекции с целью определения напряженности очага хантавирусной инфекции и показаний к проведению мероприятий по профилактике ГЛПС.

2. ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Область применения тест-системы – клиническая лабораторная диагностика; эпидемиология:

- 1) обнаружение хантавирусного антигена в материалах некропсии для подтверждения диагноза ГЛПС;
- 2) эпизоотологические исследования в очагах хантавирусной инфекции.

3. ТРЕБОВАНИЕ К ПЕРСОНАЛУ, УЧАСТВУЮЩЕМУ В ВЫПОЛНЕНИИ ИССЛЕДОВАНИЙ

Предназначенный пользователь тест-системы - сотрудники лабораторий особо опасных инфекций и вирусологических лабораторий ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» по регионам, сотрудники клинико-диагностических лабораторий и научно-исследовательских учреждений, прошедшие соответствующую профессиональную подготовку.

4. ПРИНЦИП МЕТОДА

ХАНТАГНОСТ основан на специфическом взаимодействии антигенов с соответствующими хантавирусными антителами. Антигены, связавшиеся с антителами, сорбированными на твердой фазе (лунки планшета), выявляются анти-хантавирусными антителами, мечеными пероксидазой хрена.

5. ХАРАКТЕРИСТИКА ТЕСТ-СИСТЕМЫ

5.1. Состав тест-системы

Планшет для иммунологических реакций – 1 планшет в упаковке;

ИГ⁺ – иммуноглобулин человека класса G, содержащий антитела к хантавирусам – 1 фл. (0,1 мл);

ИГ⁻ – иммуноглобулин человека класса G, не содержащий антител к хантавирусам – 1 фл. (0,1 мл);

АГ⁺ – антиген хантавирусный инактивированный – 1 фл. (0,1 мл);

Конъюгат – иммуноглобулин человека класса G (IgG) – 1 фл. (0,01 мл);

ФСБх100 – 100-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора – 1 фл. (10 мл);

БСА – бычий сывороточный альбумин – 1 фл. (0,1 г);

Твин-20 – 1 фл. (0,5 мл);

ЦФБх2 – 2-кратный концентрат цитратно-фосфатного буферного раствора – 1 фл. (6 мл);

ТМБ – тетраметилбензидин, хромоген – 1 фл. (0,5 мл);

Гидроперит – 1 таблетка (1,5 г);

Стоп-реагент – 1 фл. (5 мл).

Тест-система ХАНТАГНОСТ рассчитана на проведение анализа 48 образцов, включая контрольный образец.

5.2. Комплектность поставки:

- тест-система;
- инструкция по применению.

5.3. Аналитические (функциональные) характеристики

5.3.1. Аналитическая специфичность

Специфичность тест-системы ХАНТАГНОСТ определяется контрольным антигеном, представляющим собой гомогенат клеток Vero, инфицированных вирусами *Пуумала*, *Хантаан*, *Сеул*, *Добрава/Белград*, инактивированных ультрафиолетом.

Аналитическая специфичность тест-системы ХАНТАГНОСТ доказана производителем в опытах выявления хантавирусного антигена в суспензии легочной ткани рыжих полевок (природный резервуар хантавирусов – возбудителей ГЛПС) параллельно с выявлением антигена в криостатных срезах легких этих же полевок методом непрямой иммунофлюоресценции. Параллельно было обследовано 100 образцов легочной ткани рыжих полевок, содержащих хантавирусный антиген и 100 образцов ткани рыжих полевок, не содержащих хантавирусный антиген по результатам исследования криостатных срезов методом непрямой иммунофлюоресценции. Частота совпадений результатов составила 100 %. Также, были обследованы суспензии органов больного, погибшего от ГЛПС, суспензии клеток Vero, инфицированных хантавирусами –

возбудителями ГЛПС: Пуумала, Хантаан, Добрава/Белград, Сеул, а также вирусами лимфоцитарного хориоменингита, Западного Нила и клещевого энцефалита. Положительные результаты регистрировались только в пробах, инфицированных хантавирусами. Ложноположительные и ложноотрицательные результаты выявлены не были.

5.3.2. Аналитическая чувствительность

Аналитическая чувствительность метода определена при исследовании гомогената клеток Vero, инфицированных вирусом *Пуумала*, в опытах параллельного определения вируса (методом фокус образующих единиц) и антигена методом ИФА (в тест-системе ХАНТАГНОСТ). Антиген определяется при наличии вируса в титре не менее 2,5 lg ФОЕ/мл.

Диапазон определяемой активности антигена хантавирусов от неразведенного до 1:2048.

5.4. Диагностические характеристики

5.4.1. Диагностическая чувствительность

Для определения диагностической чувствительности в параллельных опытах выявляли антиген с использованием тест-системы ХАНТАГНОСТ и вирусную РНК методом ОТ-ПЦР в грубых гомогенатах ткани легких мелких млекопитающих, отловленных в ЦФО, ПФО, Д-ВФО и в Крыму. Все ХАНТАГНОСТ-положительные образцы были положительны в ПЦР, все ХАНТАГНОСТ-негативные образцы из лабораторной коллекции были отрицательны в ПЦР.

5.4.2. Диагностическая специфичность

При размножении хантавирусов (в культуре клеток, в тканях органов инфицированных мелких млекопитающих и больных ГЛПС) в наибольшем количестве экспрессируется N-белок, который содержит многочисленные антигенные детерминанты, общие для всех представителей рода Хантавирус, что позволяет рассматривать тест-систему ХАНТАГНОСТ как родоспецифичную, т.е. способную выявлять любой хантавирус. Подтверждением этому служат результаты выявления антигена в гомогенатах клеток Vero, инфицированных вирусами *Пуумала*, *Хантаан*, *Добрава*, *Сеул*, *Перспект Хилл*, *Таиланд*, *Тоттапалайам*, изолированных в Башкортостане, Корее, США, Таиланде и Индии соответственно.

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- ламинарный шкаф;

спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках планшета при длине волны 450 нм для ТМБ;



- промыватель для планшетов;
- Инкубатор - термостат (37±1) °C
- фильтровальная бумага;
- холодильник бытовой;
- флаконы типа «Эппендорф» или аналогичные;
- гомогенизатор/фарфоровая ступка с пестиком;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 5 до 5000 мкл;
- пипетки полуавтоматические многоканальные, со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости до 350 мкл;
- перчатки резиновые или латексные хирургические;
- раствор натрия хлорида;
- вода очищенная.

7. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И РИСКИ ПРИМЕНЕНИЯ

7.1. Тест-система ХАНТАГНОСТ предназначена только для применения ин витро.

7.2. Класс потенциального риска применения – 2б.

7.3. Все компоненты тест-системы являются нетоксичными. Стоп-реагент* для остановки ферментативной реакции обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые.

**В случае попадания стоп-реагента на кожу и слизистые необходимо промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.*

7.4. При работе с исследуемым материалом следует соблюдать правила техники безопасности в соответствии с СП 1.3.3118-13 Санитарно-эпидемические правила «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности».

7.5. Тест-система не предназначена для совместного использования с другими медицинскими изделиями.

7.6. Противопоказаний и побочных действий при работе с тест-системой не выявлено. Риски, связанные с применением тест-системы, минимальные. Снижение рисков обеспечивается поддержанием необходимых условий хранения на складе готовой продукции и при транспортировании, уведомлением пользователя о том, что изделие предназначено только для профессионального применения квалифицированным персоналом с соблюдением необходимых мер по утилизации (уничтожению) и дезинфицированию в соответствии с требованиями эксплуатационной документации.

8. УСЛОВИЯ ПРИМЕНЕНИЯ

Тест-система предназначена только для профессионального применения, для диагностики *ин витро*.

Тест-система не подлежит техническому обслуживанию и ремонту.

9. ПРИМЕНЕНИЕ

9.1. Анализируемые образцы

Вид анализируемого материала: суспензии тканей органов человека и мелких млекопитающих.

9.2. Проведение исследования (анализа)

9.2.1. Приготовление образца суспензии тканей:

При исследовании полевого материала готовят суспензии органов, для чего кусочки ткани размером 1-2 см растирают стерильно пестиком в фарфоровой ступке, постепенно добавляя 1-2 мл 0,15 М раствора натрия хлорида. Для каждого образца используется стерильный инструментарий и отдельный набор из пестика и ступки. Растертую суспензию переносят во флакон типа «Эппендорф» и оставляют при температуре $6 \pm 2^\circ\text{C}$ на 6-12 часов до исследования. Альтернативный вариант предусматривает использование гомогенизатора в соответствии с инструкцией производителя.

Биологические образцы (ткани органов, приготовленные суспензии) могут храниться при -20°C в течение 1 года.

Возможные причины некорректных результатов: нарушение условий хранения и транспортирования тест-системы.

9.2.2. Подготовка компонентов для исследования (анализа)

Перед работой извлечь изделие из холодильника, вскрыть упаковку и приступить к приготовлению буферных растворов.

Фосфатно-солевой буферный раствор (ФСБ): содержимое флакона (ФСБх100) разводят до 1 л водой очищенной. Хранят при температуре от 2 до 8°C в течение 3 сут.

Рабочее разведение (ИГ^-) 5 мл ФСБ добавляют во флакон с ИГ^- и слегка перемешивают до полного растворения содержимого флакона. *Не хранить, использовать в течение 10-20 мин.*

Рабочее разведение (ИГ^+) 5 мл ФСБ добавляют во флакон с ИГ^+ и слегка перемешивают до полного растворения содержимого флакона. *Не хранить, использовать в течение 10-20 мин.*

Цитратно-фосфатный буферный раствор (ЦФБ): содержимое флакона с ЦФБх2 разводят до 12 мл водой очищенной и перемешивают (в химически чистом стакане!).

9.2.3. Проведение исследования (ИФА)

9.2.3.1. Сенсibilизация лунок планшета: планшет располагают согласно рекомендуемой схеме, т.е. вертикально так, чтобы буквы (от Н до А) находились вверху, а нумерация рядов (от 1 до 12) – справа (см. схему). Вносят по 0,1 мл рабочего разведения ИГ⁺ в нечетные ряды лунок и по 0,1 мл рабочего разведения ИГ⁻ в четные ряды лунок. Планшет накрывают крышкой и выдерживают в холодильнике при температуре (6±2) °С в течение 16-20 ч или при температуре (37±1) °С в течение 3 ч.

исследуемые
ИГ⁺ и ИГ⁻
(1-47)

Н Г F E D C B A									
1	2	3	4	5	6	7	8	1	→ ИГ ⁺
1	2	3	4	5	6	7	8	2	→ ИГ ⁻
9	10	11	12	13	14	15	16	3	
9	10	11	12	13	14	15	16	4	
17	18	19	20	21	22	23	24	5	
17	18	19	20	21	22	23	24	6	
25	26	27	28	29	30	31	32	7	
25	26	27	28	29	30	31	32	8	
33	34	35	36	37	38	39	40	9	
33	34	35	36	37	38	39	40	10	
41	42	43	44	45	46	47	АГ	11	↘ Контрольный антиген
41	42	43	44	45	46	47	АГ	12	

9.2.3.2. Приготовление отмывочного раствора ФСБ-Т: содержимое флакона с Твин-20 переносят в емкость с остатком (990 мл) раствора ФСБ. Хранят при температуре (6±2) °С в течение 4 сут.

9.2.3.3. Промывание лунок планшета: после инкубации содержимое лунок удаляют, и лунки трижды промывают раствором ФСБ-Т, заполняя их до края и сразу же удаляя раствор. Планшет подсушивают постукиванием по 2-3 слоям фильтровальной бумаги до удаления видимых капель.

9.2.3.4. Контрольный антиген хантавируса: 0,1 мл воды очищенной добавляют во флакон с АГ⁺.

9.2.3.5. Внесение антигенов: в лунки планшета вносят по 0,05 мл исследуемых образцов суспензий, начиная от буквы Н до А (один образец в две вертикально расположенные лунки – с ИГ⁺ и ИГ⁻, а в последнюю пару лунок (А-11 и А-12) вносят по 0,05 мл АГ⁺. Планшет накрывают крышкой и выдерживают в холодильнике при температуре (6±2) °С в течение 16-20 ч, или при температуре (37±1) °С в течение 2 ч.

9.2.3.6. Промывание лунок планшета: после инкубации содержимое лунок удаляют, и лунки 5 раз промывают раствором ФСБ-Т, заполняя их до края (1-й раз сразу же удаляя раствор, а последующие 4 раза, выдерживая с раствором по 5 мин). Планшет подсушивают постукиванием по 2-3 слоям фильтровальной бумаги до удаления видимых капель.

9.2.3.7. Приготовление раствора для разведения конъюгата: содержимое флакона с БСА растворяют в 10 мл ФСБ-Т, слегка перемешивают до полного растворения содержимого флакона.

9.2.3.8. Рабочее разведение конъюгата: содержимое флакона с пероксидазным конъюгатом растворяют в 6,4 мл 1 % раствора БСА в ФСБ-Т. *Конъюгат в рабочем разведении не хранить, использовать **ex tempore!***

9.2.3.9. Внесение конъюгата: по 0,05 мл рабочего разведения пероксидазного конъюгата вносят во все лунки планшета. Планшет накрывают крышкой и выдерживают при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 1 ч.

9.2.3.10. Приготовление раствора перекиси водорода: таблетку гидроперита из упаковки растворяют в 3 мл воды очищенной в течение 10-15 мин.

9.2.3.11. Промывание лунок планшета: после инкубации содержимое лунок удаляют и лунки 6 раз промывают раствором ФСБ-Т, заполняя их до края (1-й раз сразу же удаляя раствор, а последующие 5 раз, выдерживая с раствором по 5 мин). Планшет подсушивают постукиванием по 2-3 слоям фильтровальной бумаги до удаления видимых капель.

9.2.3.12. Приготовление субстрат-индикаторной смеси: 0,2 мл содержимого флакона с ТМБ растворяют при перемешивании в 12 мл ЦФБ, в течение 1–2 мин. Непосредственно перед внесением в лунки к приготовленному раствору ТМБ+ЦФБ добавляют при перемешивании 0,035 мл раствора перекиси водорода.

9.2.3.13. Внесение субстрат-индикаторной смеси: приготовленную *ex tempore* субстрат-индикаторную смесь вносят по 0,1 мл во все лунки планшета, которую затем выдерживают в темном месте при комнатной температуре $(18-25)^\circ\text{C}$ от 3 до 15 мин. **

***как только лунка контрольного антигена в строке ИГ⁺ приобретает яркое окрашивание, а в строке ИГ⁻ - легкое окрашивание или лунка остается бесцветной, необходимо внести стоп-реагент.*

9.2.3.14. Внесение стоп-реагента*: для остановки реакции во все лунки планшета вносят по 0,05 мл содержимого флакона.

9.2.4. Учет результатов

Проводят спектрофотометрически по оптической плотности ОП при длине волны 450 нм. При фотометрическом контроле сравниваются оптические плотности лунок каждой пары:

с ИГ⁺ и ИГ⁻. Если ОП в лунках ИГ⁻ определяется меньше 0,1, следует принимать значение ОП для ИГ⁻ равным 0,1.

Положительными считаются те пробы, оптическая плотность которых в лунках с ИГ⁺ превосходит оптическую плотность лунок с ИГ⁻ в 2,1 и более раз. В случаях, когда интенсивность окрашивания (или оптические плотности) сравниваемых лунок каждой пары одинаковы (от бесцветных до интенсивно окрашенных), образец считается отрицательным.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

10.1. Хранение

При температуре от 2 до 8 °С в холодильных камерах.

Восстановленные, а также разведенные до рабочего разведения образцы хранению не подлежат.

10.2. Транспортирование

При температуре от 2 до 8 °С в термоконтейнерах любым видом крытого транспорта или в картонных коробах рефрижераторами. Замораживание компонентов не допускается.

10.3. Срок годности

В упаковке изготовителя - 2 года.

Не применять изделие по истечении срока годности.

11. ПРАВИЛА УТИЛИЗАЦИИ

Уничтожение отходов, использованных и неиспользованных компонентов изделия с истекшим сроком годности проводить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10.

При работе с возбудителями инфекции, относящимися к определенному классу патогенности, руководствоваться правилами безопасности в зависимости от класса патогенности микроорганизмов.

Отходы неиспользованных компонентов тест-системы с истекшим сроком годности, а также биоматериала (инфицированные и потенциально инфицированные) из клинико-диагностических лабораторий, работающих с ПБА 1-2 и 3-4 групп патогенности, относятся к классу Б (эпидемически опасные отходы).

Отходы класса Б подлежат обязательному обеззараживанию (дезинфекции)/обезвреживанию. Выбор метода обеззараживания/обезвреживания определяется возможностями организации, осуществляющей медицинскую деятельность, и выполняется при разработке схемы обращения с медицинскими отходами.

Упаковку изделия (класс А) утилизируют как бытовые отходы.

12. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

При соблюдении рекомендованного способа транспортирования и хранения тест-системы ХАНТАГНОСТ обеспечиваются требуемые показатели качества и эксплуатационные характеристики в течение установленного срока годности.

По вопросам, касающимся качества тест-системы ХАНТАГНОСТ, следует обращаться в ФГБНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН», Россия.

По адресу: 108819, г. Москва, поселение Московский, посёлок Института полиомиелита, домовладение 8, корп. 1, тел.: (495) 841-90-02, факс (495) 841-93-21.

«СОГЛАСОВАНО»
Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»



П.К. Варнавичус

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 10 ЛИСТОВ

«13» 05 2018 год
Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Барнавичус П.К.

Прошито и пронумеровано и
скреплено печатью
10 листа (ов)

Первый заместитель
генерального директора
ФГБНУ «ФНЦИРИП им. М.П.
Чумакова РАН»

А.Ю. Афонин
«22» 04 2018 года

«УТВЕРЖДАЮ»

Первый заместитель
генерального директора
ФГБНУ «ФНЦИРИП
им. М.П Чумакова РАН»

А.Ю. Афонин

«16» апреля 2018 г.

**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ
ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ИН ВИТРО
(для потребителя)**

**Тест-система иммуноферментная
для определения антигенов хантавирусов
ХАНТАГНОСТ**

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Тест-система иммуноферментная для определения антигенов хантавирусов ХАНТАГНОСТ (далее ХАНТАГНОСТ или тест-система) предназначена для обнаружения антигенов хантавирусов с целью диагностики возбудителей особо опасной природноочаговой вирусной инфекции геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС) в тканях человека (материалах некропсии), а также в тканях органов мелких млекопитающих, являющихся природным резервуаром хантавирусов и источником заражения людей.

1.2. Функциональное назначение

Тест-система иммуноферментная ХАНТАГНОСТ используется для диагностики ГЛПС по результатам исследования некропсийных материалов, а также для мониторинга очага хантавирусной инфекции с целью определения напряженности очага хантавирусной инфекции и показаний к проведению мероприятий по профилактике ГЛПС.

2. ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Область применения тест-системы – клиническая лабораторная диагностика; эпидемиология;

- 1) обнаружение хантавирусного антигена в материалах некропсии для подтверждения диагноза ГЛПС;
- 2) эпизоотологические исследования в очагах хантавирусной инфекции.

3. ТРЕБОВАНИЕ К ПЕРСОНАЛУ, УЧАСТВУЮЩЕМУ В ВЫПОЛНЕНИИ ИССЛЕДОВАНИЙ

Предназначенный пользователь тест-системы - сотрудники лабораторий особо опасных инфекций и вирусологических лабораторий ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» по регионам, сотрудники клинико-диагностических лабораторий и научно-исследовательских учреждений, прошедшие соответствующую профессиональную подготовку.

4. ПРИНЦИП МЕТОДА

ХАНТАГНОСТ основан на специфическом взаимодействии антигенов с соответствующими хантавирусными антителами. Антигены, связавшиеся с антителами, сорбированными на твердой фазе (лунки планшета), выявляются анти-хантавирусными антителами, мечеными пероксидазой хрена.

5. ХАРАКТЕРИСТИКА ТЕСТ-СИСТЕМЫ

5.1. Состав тест-системы

Планшет для иммунологических реакций – 1 планшет в упаковке;

ИГ⁺ – иммуноглобулин человека класса G, содержащий антитела к хантавирусам – 1 фл. (0,1 мл);

ИГ⁻ – иммуноглобулин человека класса G, не содержащий антител к хантавирусам – 1 фл. (0,1 мл);

АГ⁺ – антиген хантавирусный инактивированный – 1 фл. (0,1 мл);
Конъюгат – иммуноглобулин человека класса G (IgG) – 1 фл. (0,01 мл);
ФСБх100 – 100-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора – 1 фл. (10 мл);
БСА – бычий сывороточный альбумин – 1 фл. (0,1 г);
Твин-20 – 1 фл. (0,5 мл);
ЦФБх2 – 2-кратный концентрат цитратно-фосфатного буферного раствора – 1 фл. (6 мл);
ТМБ – тетраметилбензидин, хромоген – 1 фл. (0,5 мл);
Гидроперит – 1 таблетка (1,5 г);
Стоп-реагент – 1 фл. (5 мл).
Тест-система ХАНТАГНОСТ рассчитана на проведение анализа 48 образцов, включая контрольный образец.

5.2. Комплектность поставки:

- тест-система;
- инструкция по применению.

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- ламинарный шкаф;
- спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках планшета при длине волны 450 нм для ТМБ;
- промыватель для планшетов;
- Инкубатор - термостат (37±1) °С
- фильтровальная бумага;
- холодильник бытовой;
- флаконы типа «Эппендорф» или аналогичные;
- гомогенизатор/фарфоровая ступка с пестиком;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 5 до 5000 мкл;
- пипетки полуавтоматические многоканальные, со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости до 350 мкл;
- перчатки резиновые или латексные хирургические;
- раствор натрия хлорида;
- вода очищенная.

7. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И РИСКИ ПРИМЕНЕНИЯ

7.1. Тест-система ХАНТАГНОСТ предназначена только для применения ин витро.

7.2. Класс потенциального риска применения – 2б.

7.3. Все компоненты тест-системы являются нетоксичными. Стоп-реагент* для остановки ферментативной реакции обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые.

**В случае попадания стоп-реагента на кожу и слизистые необходимо промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.*

7.4. При работе с исследуемым материалом следует соблюдать правила техники безопасности в соответствии с СП 1.3.3118-13 Санитарно-эпидемические правила «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности».

8. УСЛОВИЯ ПРИМЕНЕНИЯ

Тест-система предназначена только для профессионального применения, для диагностики *ин витро*.

9. ПРИМЕНЕНИЕ

9.1. Анализируемые образцы

Вид анализируемого материала: суспензии тканей органов человека и мелких млекопитающих.

9.2. Проведение исследования (анализа)

9.2.1. Приготовление образца суспензии тканей:

При исследовании полевого материала готовят суспензии органов, для чего кусочки ткани размером 1-2 см растирают стерильно пестиком в фарфоровой ступке, постепенно добавляя 1-2 мл 0,15 М раствора натрия хлорида. Для каждого образца используется стерильный инструментарий и отдельный набор из пестика и ступки. Растертую суспензию переносят во флакон типа «Эппендорф» и оставляют при температуре 6 ± 2 °C на 6-12 часов до исследования. Альтернативный вариант предусматривает использование гомогенизатора в соответствии с инструкцией производителя.

Биологические образцы (ткани органов, приготовленные суспензии) могут храниться при -20 °C в течение 1 года.

Возможные причины некорректных результатов: нарушение условий хранения и транспортирования тест-системы.

9.2.2. Подготовка компонентов для исследования (анализа)

Перед работой извлечь изделие из холодильника, вскрыть упаковку и приступить к приготовлению буферных растворов.

Фосфатно-солевой буферный раствор (ФСБ): содержимое флакона (ФСБх100) разводят до 1 л водой очищенной. Хранят при температуре от 2 до 8 °C в течение 3 сут.

Рабочее разведение (ИГ⁻): 5 мл ФСБ добавляют во флакон с ИГ⁻ и слегка перемешивают до полного растворения содержимого флакона. *Не хранить, использовать в течение 10-20 мин.*

Рабочее разведение (ИГ⁺): 5 мл ФСБ добавляют во флакон с ИГ⁺ и слегка перемешивают до полного растворения содержимого флакона. *Не хранить, использовать в течение 10-20 мин.*

Цитратно-фосфатный буферный раствор (ЦФБ): содержимое флакона с ЦФБх2 разводят до 12 мл водой очищенной и перемешивают (в химически чистом стакане!).

9.2.3. Проведение исследования (ИФА)

9.2.3.1. Сенсibilизация лунок планшета: планшет располагают согласно рекомендуемой схеме, т.е. вертикально так, чтобы буквы (от Н до А) находились вверху, а нумерация рядов (от 1 до 12) – справа (см. схему). Вносят по 0,1 мл рабочего разведения ИГ⁺ в нечетные ряды лунок и по 0,1 мл рабочего разведения ИГ⁻ в четные ряды лунок. Планшет накрывают крышкой и выдерживают в холодильнике при температуре (6±2) °С в течение 16-20 ч или при температуре (37±1) °С в течение 3 ч.

		Н Г Е Д С В А									
Исследуемые антигены (1-47)	1	2	3	4	5	6	7	8	1	→	ИГ ⁺
	1	2	3	4	5	6	7	8	2	→	ИГ ⁻
	9	10	11	12	13	14	15	16	3	→	
	9	10	11	12	13	14	15	16	4		
	17	18	19	20	21	22	23	24	5		
	17	18	19	20	21	22	23	24	6		
	25	26	27	28	29	30	31	32	7		
	25	26	27	28	29	30	31	32	8		
	33	34	35	36	37	38	39	40	9		
	33	34	35	36	37	38	39	40	10		
	41	42	43	44	45	46	47	АГ	11	↘	Контрольный антиген
	41	42	43	44	45	46	47	АГ	12	→	

9.2.3.2. Приготовление отмывочного раствора ФСБ-Т: содержимое флакона с Твин-20 переносят в емкость с остатком (990 мл) раствора ФСБ. Хранят при температуре (6±2) °С в течение 4 сут.

9.2.3.3. Промывание лунок планшета: после инкубации содержимое лунок удаляют, и лунки трижды промывают раствором ФСБ-Т, заполняя их до края и сразу же удаляя раствор. Планшет подсушивают постукиванием по 2-3 слоям фильтровальной бумаги до удаления видимых капель.

9.2.3.4. Контрольный антиген хантавируса: 0,1 мл воды очищенной добавляют во флакон с АГ⁺.

9.2.3.5. Внесение антигенов: в лунки планшета вносят по 0,05 мл исследуемых образцов суспензий, начиная от буквы Н до А (один образец в две вертикально расположенные лунки – с ИГ⁺ и ИГ⁻, а в последнюю пару лунок (А-11 и А-12) вносят по 0,05 мл АГ⁺. Планшет

накрывают крышкой и выдерживают в холодильнике при температуре $(6\pm 2)^\circ\text{C}$ в течение 16-20 ч, или при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 2 ч.

9.2.3.6. Промывание лунок планшета: после инкубации содержимое лунок удаляют, и лунки 5 раз промывают раствором ФСБ-Т, заполняя их до края (1-й раз сразу же удаляя раствор, а последующие 4 раза, выдерживая с раствором по 5 мин). Планшет подсушивают постукиванием по 2-3 слоям фильтровальной бумаги до удаления видимых капель.

9.2.3.7. Приготовление раствора для разведения конъюгата: содержимое флакона с БСА растворяют в 10 мл ФСБ-Т, слегка перемешивают до полного растворения содержимого флакона.

9.2.3.8. Рабочее разведение конъюгата: содержимое флакона с пероксидазным конъюгатом растворяют в 6,4 мл 1 % раствора БСА в ФСБ-Т. *Конъюгат в рабочем разведении не хранить, использовать **ex tempore**!*

9.2.3.9. Внесение конъюгата: по 0,05 мл рабочего разведения пероксидазного конъюгата вносят во все лунки планшета. Планшет накрывают крышкой и выдерживают при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 1 ч.

9.2.3.10. Приготовление раствора перекиси водорода: таблетку гидроперита из упаковки растворяют в 3 мл воды очищенной в течение 10-15 мин.

9.2.3.11. Промывание лунок планшета: после инкубации содержимое лунок удаляют и лунки 6 раз промывают раствором ФСБ-Т, заполняя их до края (1-й раз сразу же удаляя раствор, а последующие 5 раз, выдерживая с раствором по 5 мин). Планшет подсушивают постукиванием по 2-3 слоям фильтровальной бумаги до удаления видимых капель.

9.2.3.12. Приготовление субстрат-индикаторной смеси: 0,2 мл содержимого флакона с ТМБ растворяют при перемешивании в 12 мл ЦФБ, в течение 1-2 мин. Непосредственно перед внесением в лунки к приготовленному раствору ТМБ+ЦФБ добавляют при перемешивании 0,035 мл раствора перекиси водорода.

9.2.3.13. Внесение субстрат-индикаторной смеси: приготовленную *ex tempore* субстрат-индикаторную смесь вносят по 0,1 мл во все лунки планшета, которую затем выдерживают в темном месте при комнатной температуре $(18-25)^\circ\text{C}$ от 3 до 15 мин.**

***как только лунка контрольного антигена в строке ИГ⁺ приобретает яркое окрашивание, а в строке ИГ⁻ - легкое окрашивание или лунка остается бесцветной, необходимо внести стоп-реагент.*

9.2.3.14. Внесение стоп-реагента*: для остановки реакции во все лунки планшета вносят по 0,05 мл содержимого флакона.

9.2.4. Учет результатов

Проводят спектрофотометрически по оптической плотности ОП при длине волны 450 нм. При фотометрическом контроле сравниваются оптические плотности лунок каждой пары: с ИГ⁺ и ИГ⁻. Если ОП в лунках ИГ⁻ определяется меньше 0,1, следует принимать значение ОП для ИГ⁻ равным 0,1.

Положительными считаются те пробы, оптическая плотность которых в лунках с ИГ⁺ превосходит оптическую плотность лунок с ИГ⁻ в 2,1 и более раз. В случаях, когда интенсивность окрашивания (или оптические плотности) сравниваемых лунок каждой пары одинаковы (от бесцветных до интенсивно окрашенных), образец считается отрицательным.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

10.1. Хранение

При температуре от 2 до 8 °С в холодильных камерах.

Восстановленные, а также разведенные до рабочего разведения образцы хранению не подлежат.

10.2. Транспортирование

При температуре от 2 до 8 °С в термоконтейнерах любым видом крытого транспорта или в картонных коробах рефрижераторами. Замораживание компонентов не допускается.

10.3. Срок годности

В упаковке изготовителя - 2 года.

Не применять изделие по истечении срока годности.

11. ПРАВИЛА УТИЛИЗАЦИИ

Уничтожение отходов, использованных и неиспользованных компонентов изделия с истекшим сроком годности проводить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10.

Упаковку изделия (класс А) утилизируют как бытовые отходы.

12. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

При соблюдении рекомендованного способа транспортирования и хранения тест-системы ХАНТАГНОСТ обеспечиваются требуемые показатели качества и эксплуатационные характеристики в течение установленного срока годности.

По вопросам, касающимся качества тест-системы ХАНТАГНОСТ, следует обращаться в ФГБНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН», Россия.

По адресу: 108819, г. Москва, поселение Московский, посёлок Института полиомиелита, домовладение 8, корп. 1, тел.: (495) 841-90-02, факс (495) 841-93-21.

«СОГЛАСОВАНО»
Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»



П.К. Варнавичус

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 7 ЛИСТОВ



Ген. Директор
ООО «ВЫМТЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичус П.К.

Прошито и пронумеровано и
скреплено печатью
7 листа (ов)



Первый заместитель
генерального директора
ФГБНУ «ФНЦИРИП им. М.П.
Чумакова РАН»

А.Ю. Афонин
2018 года