

**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ
ИММУНОГЛОБУЛИНОВ КЛАССА G (IgG)
К КОРОНАВИРУСУ SARS-CoV-2 ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ МЕТОДОМ**

«SARS-CoV-2-IgG-ELISA»



Instruction for use

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF AL-EL-5**

ТУ №21.10.60-001-83076696-2020



Для 96 исследований



Для *in vitro* диагностики



ООО «Аллель»

123458, г. Москва, ул. Твардовского,
Дом 8, помещение V, комната 8
Тел.: +7 (495) 780-92-96
e-mail: lab@allel.tech

Оглавление

1. Общая характеристика набора	3
2. Назначение набора	3
3. Принцип метода	4
4. Область применения набора	5
5. Потенциальные пользователи	5
6. Показания и противопоказания к применению набора	5
7. Анализируемые образцы	5
8. Подготовка анализируемых образцов для исследования	5
9. Состав набора	6
10. Необходимое дополнительное оборудование, не входящее в состав набора	6
11. Требования к упаковке и маркировке набора	7
12. Функциональные (технические) характеристики	8
13. Предупреждения и рекомендации при работе с набором	9
14. Требования безопасности	9
15. Утилизация отходов	10
16. Проведение иммуноферментного анализа	11
17. Обсчет и интерпретация результатов	13
18. Условия хранения и транспортировки	14
19. Гарантии производителя	15
20. Порядок подачи рекламаций	15
21. Краткая схема проведения анализа "SARS-CoV-2-IgG-ELISA"	15
22. Список обозначений	16

1. Общая характеристика набора

Полное наименование	"Набор для выявления иммуноглобулинов класса G (IgG) к коронавирусу SARS-CoV-2 иммуноферментным методом"
Сокращенное наименование	SARS-CoV-2-IgG-ELISA
Каталожный номер	AL-EL-5
Срок годности набора	1 год
Диапазон обнаружения	Качественный: положительный и отрицательный контроль
Диагностические характеристики	Диагностическая чувствительность - 98,1% Диагностическая специфичность - 99,0%
Контрольные образцы	2 (входят в состав набора)
Общее время проведения анализа	Не более 120 минут
Схема проведения анализа	Двухстадийный
Объем биологического материала для анализа (сыворотка/плазма крови)	10 мкл
Количество определений	Набор рассчитан на 96 определений включая контроли. Для ручных и автоматизированных методик
Готовность компонентов набора к использованию	Требуется предварительная подготовка рабочего раствора промывочного буфера (ПБф). Остальные компоненты набора готовы к использованию.
Упаковка	Планшет упакован в пластиковый фольгированный пакет с zipперным механизмом закрывания.
Эксплуатационная документация	Инструкция по применению набора SARS-CoV-2-IgG-ELISA V/1-05-20

2. Назначение набора

Набор «SARS-CoV-2-IgG-ELISA» предназначен для качественного определения иммуноглобулинов класса G к коронавирусу SARS-CoV-2 в сыворотке или плазме крови человека и рекомендуется для *in vitro* диагностики и проведения эпидемиологических исследований.

2.1. Актуальность проблемы

Широкое распространение новой коронавирусной инфекции COVID-19, вызываемой вирусом SARS-CoV-2, поставило перед медицинским сообществом сложные задачи, связанные с быстрой и достоверной диагностикой и эффективным лечением пациентов с данной инфекцией. К наиболее опасным осложнениям, связанным с высоким уровнем смертности среди пациентов с COVID-19, находящихся под наблюдением в отделениях интенсивной терапии, относится острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС). Основную роль в патогенезе ОРДС играет избыточный ответ иммунной системы, в результате чего может развиваться синдром системной воспалительной реакции (цитокиновый шторм).

Такая специфика вирусного заболевания подразумевает выработку антител к компонентам

вирусных частиц. Выявление этих антител подтверждает перенесенное заболевание или бессимптомное носительство и свидетельствует о наличии иммунитета. Продолжительность и интенсивность иммунитета к SARS-CoV-2 в настоящее время изучены недостаточно, поэтому в случае повторной угрозы заболевания могут быть проведены повторные исследования.

2.2. Методы диагностики новой коронавирусной инфекции COVID-19

Первоначально факт инфицирования SARS-CoV-2 может быть подтвержден выявлением РНК возбудителя в биологических пробах пациента, таких как бронхоальвеолярный лаваж, мокрота, мазки из ротоглотки. РНК SARS-CoV-2 может быть диагностирована с первых дней после заражения и является достаточно чувствительным исследованием. В настоящее время данные тесты широко используются и представлены наборами как зарубежного, так и отечественного производства. Преимущественно применяют тест-системы формата ПЦР-RT и LAMP (петлевая изотермальная амплификация).

Недостатками диагностики на основе ПЦР является то, что персистенция вируса в тканях наблюдается короткое время. По результатам исследований, 90% тестов на вирусную РНК SARS-CoV-2 в мазках из носоглотки становятся отрицательными спустя 8-10 дней от появления симптомов, и, таким образом ПЦР тест-системы могут давать ложно-отрицательные результаты в более поздний период после заражения. Кроме того, ложно-отрицательные результаты ПЦР теста могут быть получены при бессимптомном течении заболевания у пациента.

Этих недостатков лишены серологические методы исследования на основе диагностики специфических антител (иммуноглобулинов) к вирусу SARS-CoV-2. Методы определения сывороточных антител включают иммунохроматографию с коллоидным золотом, ИФА, хемилюминесцентный иммуноанализ и т. д. Специфические антитела IgG появляются в крови пациентов с SARS-CoV-2 уже через 12 дней после появления симптомов и могут быть обнаружены длительное время, при этом титр специфических антител IgG в фазе выздоровления примерно в 4 раза выше, чем в острой фазе. Положительный специфический IgG может использоваться в качестве критерия диагностики у пациентов с подозрением на COVID-19 с отрицательным анализом на наличие нуклеиновых кислот, для выявления бессимптомных и стертых форм COVID-19, определения продолжительности и интенсивности иммунитета к SARS-CoV-2, а также для определения потенциальных доноров плазмы, которая может быть использована в терапии тяжелых форм COVID-19.

3. Принцип метода

Набор «SARS-CoV-2-IgG-ELISA» представляет собой тест-систему, на основе метода непрямого твердофазного иммуноферментного анализа. На дне лунок полистиролового разборного / неразборного планшета нанесен рекомбинантный антиген вируса SARS-CoV-2, который во время процесса инкубации взаимодействует с антителами к SARS-CoV-2, присутствующими в исследуемом образце. Далее к образовавшемуся иммунному комплексу добавляют меченые ферментом (пероксидазой хрена) антитела к иммуноглобулинам человека класса G (IgG). После проведения субстрат-ферментативной реакции с участием хромогена (тетраметилбензидина, ТМБ), проводят учет полученных результатов. При наличии в образце специфических анти-SARS-CoV-2 иммуноглобулинов класса G (IgG), уровень оптической плотности прошедшей реакции превосходит

показатели отрицательных контрольных образцов, и пропорционален содержанию в образце специфических антител класса G.

4. Область применения набора

Набор «SARS-CoV-2-IgG-ELISA» предназначен для использования в клинической лабораторной диагностике. Набор «SARS-CoV-2-IgG-ELISA» используется для выявления специфических иммуноглобулинов класса G (IgG) к коронавирусу SARS-CoV-2 у всех лиц без ограничения пола и возраста с симптомами ОРВИ или без. Набор «SARS-CoV-2-IgG-ELISA» предназначен исключительно для профессионального использования. Только для диагностики *in vitro*. Для медицинских организаций независимо от организационно-правовой формы.

5. Потенциальные пользователи

Для выполнения анализа с использованием данного набора реагентов необходимо участие специалистов не моложе 18 лет с высшим или средним медицинским, биологическим или иным образованием, не имеющих медицинских противопоказаний к вакцинации, лечению специфическими препаратами и к работе в средствах индивидуальной защиты. Персонал должен иметь навыки работы с биохимическими реактивами и современным лабораторным оборудованием.

6. Показания и противопоказания к применению набора

Противопоказаний и побочных эффектов при работе с набором «SARS-CoV-2-IgG-ELISA» не выявлено. Набор «SARS-CoV-2-IgG-ELISA» предназначен только для однократного применения по назначению.

7. Анализируемые образцы

Для проведения иммуноферментного анализа допустимо использование образцов сыворотки или плазмы крови. Требуемый температурный режим хранения образцов сыворотки и плазмы: +2...+8 °C до 5 дней или -18...-22 °C до 6 месяцев.

8. Подготовка анализируемых образцов для исследования

Перед постановкой исследования с использованием набора «SARS-CoV-2-IgG-ELISA» образцы, хранившиеся в холодильнике или морозильной камере необходимо разморозить при температуре от +18...+25 °C и тщательно перемешать. Перед проведением исследования необходимо провести центрифугирование образцов в течение 15 минут на скорости 3000 об/мин. Не допустимо использовать для исследования образцы с выраженным гемолизом или хилезом, а также образцы в которых присутствует бактериальный рост. Не допустимо проводить повторные циклы замораживания/оттаивания образцов.

Необходимый объем исследуемого образца сыворотки или плазмы крови для анализа равен 10 мкл. Антикоагулянты не влияют на результаты анализа.

9. Состав набора

Наименование	Объем, мл	Кол-во, шт.	Описание
Иммуносорбент, планшет 96-луночный, полистироловый, разборный 12 стрипов*8 лунок / неразборный, 96 лунок (ИС)	-	1	планшет в пластиковом фольгированном пакете, готов к использованию
Промывочный буфер, 25х концентрат, (ПБф)	29	1	прозрачная бесцветная жидкость
Раствор для разведения сыворотки, (РРС)	17	1	прозрачная жидкость фиолетового цвета
Моноклональные антитела к IgG человека, конъюгированные с пероксидазой хрена (конъюгат)	17	1	прозрачная жидкость светло-розового или светло-оранжевого цвета
Раствор тетраметилбензидина в субстратном буфере (ТМБ)	17	1	бесцветная или бледно-желтая прозрачная жидкость
0,5М раствор серной кислоты (Стоп-реагент)	17	1	прозрачная бесцветная жидкость
Положительный контрольный образец (К+)	1,3*	1	прозрачная жидкость светло-красного цвета
Отрицательный контрольный образец (К-)	2*	1	прозрачная жидкость светло-желтого цвета
Пленка для заклеивания планшета	-	3	-
Инструкция по применению набора SARS-CoV-2-IgG-ELISA	-	1	-

* Субстанция, содержащая / не содержащая нативный или рекомбинантный химерный IgG человека (или его фрагменты) к антигенам SARS-CoV-2. Контрольный биологический материал не содержит р24 ВИЧ-1, HBsAg, антитела к антигенам ВИЧ 1,2, антитела к ВГС.

10. Необходимое дополнительное оборудование, не входящее в состав набора

- 10.1. Спектрофотометр, позволяющий проводить измерение оптической плотности растворов в лунках планшета на длине волны 450 нм;
- 10.2. Термостатируемый шейкер-инкубатор, поддерживающий температуру (37±1) °С;
- 10.3. Устройство для промывки лунок планшетов промывочным буфером;
- 10.4. Дозаторы одноканальные и/или многоканальные со сменными наконечниками, объемом до 10 мкл; до 200 мкл; до 1000 мкл;
- 10.5. Одноразовые ванночки для реагентов;
- 10.6. Холодильник фармацевтический, температурный режим 2...8 °С;

- 10.7. Цилиндр мерный, вместимостью до 100 мл, до 1000 мл;
- 10.8. Лабораторная фильтровальная бумага;
- 10.9. Дистиллированная или деионизованная вода.

11. Требования к упаковке и маркировке набора

11.1. Упаковка

- 11.1.1. Внешняя и внутренняя упаковка набора должна быть целостной, без деформаций. При переворачивании флаконов с завинчивающейся крышкой не должно наблюдаться протечек.
- 11.1.2. Флаконы с реагентами, пакет с планшетом (ИС) и инструкция по применению упакованы в картонную коробку с вкладышем (ложементом) из картона.
- 11.1.3. Планшет (ИС) герметично упакован в пакет из комбинированного материала с замком, внутрь каждого пакета вложен силикагель технический фасованный.
- 11.1.4. К⁺ и К⁻ дозированы во флаконы вместимостью 2 мл, резьбовые, конические навинчивающейся крышкой.
- 11.1.5. Конъюгат, РРС, ТМБ Стоп-реагент дозированы в пластмассовые с навинчивающейся крышкой флаконы вместимостью 20.
- 11.1.6. ПБф (концентрат x25) должен в пластмассовые с навинчивающейся крышкой флаконы вместимостью 30 мл

11.2. Маркировка

- 11.2.1. Графическое оформление флаконов с реагентами, упаковки иммуносорбента, полиэтиленовых пакетов с замком или коробки соответствует ГОСТ Р 51088-2013 и ГОСТ Р ИСО18113-2-2015.
- 11.2.2. На каждый флакон с компонентом набора и пакет с ИС наклеена черно-белая или многоцветная самоклеящаяся этикетка, с указанием: сокращенного наименования предприятия-изготовителя, сокращенного наименования набора реагентов, сокращенного наименования реагента, объема реагента (для жидких реагентов), номера серии (партии, LOT) набора, срока годности (годен до) и условий хранения, предупредительной надписи: «Только для диагностики *in vitro*»;
- 11.2.3. На пакете с ИС и флаконах с Конъюгатом, РРС, ПБф, ТМБ, К⁺, К⁻, и Стоп-реагентом должно быть указано торговое наименование набора реагентов.
- 11.2.4. На каждом наборе (коробке) или на этикетке, наклеенной на каждый набор (коробку), нанесена маркировка с указанием в соответствии с ГОСТ Р 51088-2013: наименования предприятия-изготовителя, юридического адреса, телефона, адреса электронной почты, ссылки на сайт производителя в виде QR-кода, полного и сокращенного наименования набора реагентов, состава набора (наименование компонентов, количество, объем), каталожный номер набора, количества определений, на которое рассчитан набор (включая контрольные образцы), номера серии (партии, LOT) набора, срока годности (годен до) и условий хранения, предупредительных надписей «Только для диагностики *in vitro*», «Обратитесь к инструкции по применению», «Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению», ссылки на скачивание полной версии инструкции к набору, на сайте производителя в виде QR-кода, регистрационного номера, номера настоящих технических условий.

12. Функциональные (технические) характеристики

Нижний порог обнаружения	При разведении положительного контрольного образца «К+» (или аналогичного по содержанию антител) в 100 раз, результат анализа положительный.
Специфичность	Отрицательный образец «К-» должен интерпретироваться как отрицательный. Положительный образец «К+» должен интерпретироваться как положительный.
Диагностические характеристики	Диагностическая чувствительность - 98,1% Диагностическая специфичность - 99,0%
Воспроизводимость	Установлена исследованием коэффициента вариации оптических плотностей повторов положительного образца «К+». Коэффициент вариации не более 8%.
Отсутствие ложноположительных / ложноотрицательных результатов	Отрицательный контрольный образец - при постановке иммуноферментного анализа в лунках с «К-» (все значения оптической плотности в лунках с «К-» $\leq 0,1$ о.е.). Положительный контрольный образец - при постановке иммуноферментного анализа в лунках с «К+» (значение ОП в лунке с К+ $\geq 0,5$ о.е.).
Биологические препараты, входящие в состав набора	Положительный контрольный образец – субстанция, содержащая нативный или рекомбинантный химерный IgG человека к антигенам SARS-CoV-2 (или его фрагменты). В случае присутствия компонентов, полученных из биологического материала человека, проводится патогенредукция нагреванием при температуре $(56 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 3 ч. Контрольный биологический материал не содержит p24 ВИЧ-1, HBsAg, антитела к антигенам ВИЧ 1,2, антитела к ВГС. Отрицательный контрольный образец – субстанция, не содержащая нативный или рекомбинантный химерный IgG человека к антигенам SARS-CoV-2 (или его фрагменты). В случае присутствия компонентов, полученных из биологического материала человека, проводится патогенредукция нагреванием при температуре $(56 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 3 ч. Контрольный биологический материал не содержит p24 ВИЧ-1,

13. Предупреждения и рекомендации при работе с набором

ВНИМАНИЕ! Для получения точных результатов исследования строго следуйте инструкции. Производитель не несет ответственности за некорректные результаты исследований, полученные вследствие несоблюдения требований инструкции.

- 12.1. Не используйте совместно реагенты наборов разных серий (партий, LOT) и наборов других производителей. Не используйте реагенты после истечения срока годности;
- 12.2. Для приготовления растворов и проведения иммуноферментного анализа следует использовать чистую мерную посуду и автоматические пипетки с погрешностью измерения объемов не более 5%;
- 12.3. Недопустимо поводить забор реагентов для раскапывания планшета непосредственно из флакона. Перенесите необходимое количество раствора в ванночку для реагентов, откуда производите раскапывание в планшет. Недопустимо сливать остатки реагентов из ванночки обратно во флакон;
- 12.4. Используйте сменные одноразовые наконечники для каждого реагента и каждого образца, для предотвращения перекрестного загрязнения;
- 12.5. Используйте только рекомендованный объем образца, как указано в инструкции, в противном случае, это может повлиять на достоверность результата;
- 12.6. На ферментную активность конъюгата могут влиять пыль и химические реагенты такие как гипохлорид натрия, кислоты, щелочи и т.п. Не проводите анализ в присутствии этих веществ;
- 12.7. Не допустимо воздействие света на раствор хромогена (ТМБ);
- 12.8. Убедитесь, что температура внутри инкубатора равна +37⁰С;
- 12.9. Избегайте длительных перерывов между шагами процедуры, соблюдайте одинаковые условия для всех лунок;
- 12.10. Не допускайте высыхания лунок после промывания, не допускайте формирования пузырей при добавлении реагентов;
- 12.11. Не касайтесь дна и поверхности лунок, отпечатки пальцев и царапины могут влиять на точность считывания;
- 12.12. При считывании результатов на спектрофотометре убедитесь, что в лунках нет пузырей.

14. Требования безопасности

Внимание! Все образцы человеческой крови должны рассматриваться как потенциально инфекционные.

- 14.1. Лаборатории, выполняющие исследования по определению IgG к коронавирусу SARS-CoV-2, обязаны обеспечить безопасность работы в соответствии с требованиями законодательства в сфере санитарно-эпидемиологического благополучия. Работа с исследуемыми образцами, при необходимости, должна проводиться с соблюдением требований СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)», СП 1.2.036-95 «Порядок

- учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I-IV групп патогенности», СанПин 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».
- 14.2. Потенциальный риск применения набора реагентов по Номенклатурной классификации медицинских изделий, утвержденной Приказом Минздрава Российской Федерации № 4н от 6 июня 2012 года (в редакции Приказа Минздрава России от 25.09.2014 N 557н) – класс 3.
 - 14.3. Набор реагентов предназначен только для профессионального использования. Работу следует проводить в специально оборудованном помещении лаборатории, отвечающей требованиям СП 1.3.2322 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV группы патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней». При работе с набором реагентов соблюдать требования «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» (утв. Минздравом СССР 17.01.1991) и ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».
 - 14.4. При работе с набором реагентов и исследуемыми образцами использовать индивидуальные средства защиты: маска, халат, головной убор, резиновые или пластиковые перчатки, специальную обувь, защитные очки или щиток), так как образцы сыворотки или плазмы крови следует рассматривать как потенциально инфицированный биоматериал.
 - 14.5. Необходимо одновременно обеспечить и соблюдать персоналом правила биологической безопасности и требования к организации и проведению данных работ с целью предотвращения контаминации дезинфектантом или пероксидазой хрена, содержащейся в растворе конъюгата, исследуемых проб, помещений и оборудования.
 - 14.6. Обрабатывать руки после работы с набором реагентов и образцами в соответствии с действующей нормативной документацией.
 - 14.7. Все компоненты набора реагентов, за исключением стоп-реагента, являются нетоксичными. Стоп-реагент обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания стоп-реагента на кожу и слизистые. В случае попадания промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.

15. Утилизация отходов

Уничтожение и утилизацию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

- 15.1. Промывочные растворы необходимо собрать в специальный контейнер, обработать дезинфицирующими средствами, разрешенными для применения на территории РФ в установленном порядке и утилизировать как отходы класса В.
- 15.2. Твердые отходы, собранные в специальный контейнер, необходимо обеззараживать в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и утилизировать как отходы класса В.

- 15.3. Неиспользованные наборы реагентов с истекшим сроком годности перед утилизацией необходимо разукomплектовать.
- 15.3.1. Неиспользованный концентрат промывочного раствора следует утилизировать, как отходы класса А.
- 15.3.2. Неиспользованные положительные и отрицательные контроли, конъюгат, раствор для разведения сыворотки и иммуносорбент необходимо обеззараживать и утилизировать, как медицинские отходы класса Б.
- 15.3.3. Неиспользованные концентрат ТМБ-хромогена и Стоп-реагент следует утилизировать, как отходы класса Г.
- 15.3.4. Все использованные в процессе проведения иммуноферментного анализа материалы (наконечники, флаконы, планшеты, контейнеры образцов) и рабочее место должны быть продезинфицированы в соответствии с требованиями СП 1.3.3118-13 и МУ-87-113.
- 15.4. Утилизация наборов реагентов и использованных материалов проводится специализированными организациями, которые имеют лицензию на право утилизации медицинских отходов.

16. Проведение иммуноферментного анализа

16.1. Ручная методика проведения исследования

16.1.1. Приведите реагенты к комнатной температуре (18-25⁰С) за 15-30 минут.

16.1.2. Приготовьте рабочий раствор промывочного буфера.

ВНИМАНИЕ! При наличии во флаконе концентрата промывочного буфера осадка солей, флакон следует выдержать при 37 °С до полного растворения.

Содержимое флакона с 25х концентратом промывочного буфера необходимо развести дистиллированной водой в соответствии с «таблицей разведения ПБф».

Используйте только чистые пробирки для разбавления моющего буфера.

Таблица разведения ПБф:

Количество используемых стрипов ИС	25х концентрат, мл	dH ₂ O, мл	Общий объем, мл
1	2	48	50
2	4	96	100
3	6	144	150
4	8	192	200
5	10	240	250
6	12	288	300
7	14	336	350
8	16	384	400
9	18	432	450

10	20	480	500
11	22	528	550
12	24	576	600

- 16.1.3. Извлеките необходимое количество стрипов ИС из планшета. Поместите стрипы в держатель. Для каждой постановки требуется добавить к исследуемым образцам три контроля: отрицательный контроль (К-) в дубле и положительный контроль (К+), см. образец схемы планшета для постановки (при постановке анализа на одном стрипе допускается использовать для К- и К+ по одной лунке).

Образец схемы планшета для постановки:

К-	Образец №6	Образец №14
К-	Образец №7	Образец №15
К+	Образец №8	Образец №16
Образец №1	Образец №9	Образец №17
Образец №2	Образец №10	Образец №18
Образец №3	Образец №11	Образец №19
Образец №4	Образец №12	Образец №20
Образец №5	Образец №13	Образец №21

- 16.1.4. Во все лунки, кроме контрольных (К+, К-) добавьте 100 мкл раствора для разведения сыворотки (РРС);
- 16.1.5. Во все лунки, кроме контрольных (К+, К-), добавьте 10 мкл исследуемых образцов и тщательно перемешайте пипетированием. В лунку К+ добавьте 100 мкл положительного контрольного образца (К+), в лунки К- добавьте по 100 мкл отрицательного контрольного образца (К-);
- 16.1.6. Инкубация №1: заклейте планшет пленкой и инкубируйте 30 минут при температуре +37⁰С. Рекомендуется использовать инкубатор со встряхиванием (шейкер-инкубатор);
- 16.1.7. Промывка №1: после окончания инкубации, снимите и выбросьте пленку. Промойте лунки планшета 5 раз промывочным буфером (ПБф), внося по 300 мкл раствора в каждую лунку. Каждый раз выдержите лунки в наполненном состоянии 30-60 секунд. После конечного (пятого) промывания переверните планшет на бумажное полотенце (фильтровальную бумагу) и постучите по планшету для удаления жидкости;
- 16.1.8. Добавьте во все лунки 100 мкл конъюгата;
- 16.1.9. Инкубация №2: заклейте планшет пленкой и инкубируйте 30 минут при температуре +37⁰С. Рекомендуется использовать инкубатор со встряхиванием (шейкер-инкубатор);
- 16.1.10. Промывка №2: после окончания инкубации, снимите и выбросьте пленку. Промойте лунки планшета 5 раз промывочным буфером (ПБф), внося по 300 мкл раствора в каждую лунку. Каждый раз выдержите лунки в наполненном состоянии 30-60 секунд. После конечного (пятого) промывания переверните

планшет на бумажное полотенце (фильтровальную бумагу) и постучите по планшету для удаления жидкости.

16.1.11. Проявление цветовой реакции: Внесите 100 мкл хромогена (ТМБ) в каждую лунку, перемешайте пипетированием. Инкубируйте планшет в темноте в течение 15 минут при комнатной температуре (18-25⁰С).

16.1.12. Остановка реакции: внесите 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку и перемешайте пипетированием. Проводите измерение оптической плотности не позднее, чем через 10 мин после внесения стоп-реагента.

16.2. Использование ИФА анализаторов

Набор реагентов «SARS-CoV-2-IgG-ELISA» адаптирован для любых открытых полуавтоматических и автоматических иммуноферментных анализаторов. С учетом использования автоматических систем анализа, объем компонентов набора увеличен на 10%, однако для некоторых моделей анализаторов могут потребоваться дополнительные объемы реагентов. Необходимые дополнительные компоненты набора предоставляются производителем по предварительному запросу.

17. Обсчет и интерпретация результатов

Измерения оптической плотности проводят спектрофотометрически при длине волны 450 нм с настройкой “нуля” прибора (бланк) по воздуху.

При каждой постановке иммуноферментного анализа рассчитывают критическое значение оптической плотности (ОП_{крит.}) и "серую зону". "Серой зоной" является интервал от ОП_{крит.} - 10% до ОП_{крит.} + 10%. Исследуемый образец учитывают, как положительный, если ОП данного образца выше "серой зоны", как сомнительный, если ОП находится в пределах "серой зоны", и как отрицательный, если ОП ниже "серой зоны". Варианты интерпретации результатов представлены в таблице «интерпретации результатов исследования».

17.1. Диапазон контроля качества прохождения иммуноферментного анализа.

Результаты исследований считают достоверными, если среднее значение оптической плотности (ОП) в лунках отрицательного контрольного образца (К-) ≤ 0,1 о.е., а значение оптической плотности (ОП) в лунке положительного контрольного образца (К+) ≥ 0,5 о.е.

17.2. Обсчет и интерпретация результатов иммуноферментного анализа.

Для интерпретации результатов рассчитывают ОП(К-)ср. по формуле:

$$\text{ОП(К-)ср} = (\text{ОП(К-)}_1 + \text{ОП(К-)}_2) / 2 \quad (1),$$

где ОП(К-)ср. – среднее значение ОП в лунках с К-;

ОП(К-)1 – значение оптической плотности в лунке с К- в первом повторе

ОП(К-)2 – значение оптической плотности в лунке с К- во втором повторе

Затем рассчитывают значение ОП_{крит.} по формуле:

$$\text{ОП}_{\text{крит.}} = \text{ОП(К-)ср} + 0,2 \quad (2),$$

где ОП_{крит.} – критическое значение оптической плотности.

Результат анализа может быть также представлен в виде коэффициента позитивности (КП):

$$\text{КП} = \text{ОП образца} / \text{ОПкрит}, \quad (3),$$

где КП — коэффициент позитивности образца.

Таблица интерпретации результатов исследования:

Интерпретация результата	По измерению ОПкрит	По коэффициенту позитивности (КП)
Положительный результат	ОП исследуемого образца $\geq$ ОПкрит + 10%	$> 1,1$
Отрицательный результат	ОП исследуемого образца $\leq$ ОПкрит - 10%	$< 0,9$
Пограничный* результат	ОП исследуемого образца = ОПкрит $\pm$ 10%	$0,9 - 1,1$

*в случае получения пограничного значения однозначная интерпретация результата невозможна. Рекомендуется повторное проведение тестирования пациента спустя 1-2 недели с помощью набора «SARS-CoV-2-IgG-ELISA».

18. Условия хранения и транспортировки

- 18.1. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно осуществляться при температуре $+2 \dots +8^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.
- 18.2. Транспортировать набор реагентов следует крытым транспортом (автомобильным, железнодорожным либо воздушным) при температуре $+2 \dots +8^{\circ}\text{C}$ в термоконтейнере. Допускается транспортирование при температуре до $+25^{\circ}\text{C}$ не более пяти суток. Не допускать замораживания.
- 18.3. В случае дробного использования Набора компоненты следует хранить следующим образом:
 - 18.3.1. Неиспользованные стрипы иммуносорбента (ИС) необходимо тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре $+2 \dots +8^{\circ}\text{C}$ не более 2х месяцев;
 - 18.3.2. Раствор для разведения сыворотки, конъюгат, хромоген (ТМБ), стоп-реагент после вскрытия флаконов следует хранить при температуре $+2 \dots +8^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности Набора;
 - 18.3.3. Контрольные образцы (К+, К-) после вскрытия флаконов следует хранить при температуре $+2 \dots +8^{\circ}\text{C}$ не более 2х месяцев;
 - 18.3.4. Концентрат промывочного буфера (ПБф) следует хранить при температуре $+2 \dots +8^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности Набора. Приготовленный промывочный буфер следует хранить при комнатной температуре ($+18 \dots +25^{\circ}\text{C}$) не более 5 суток или при температуре $+2 \dots +8^{\circ}\text{C}$ не более 30 суток.

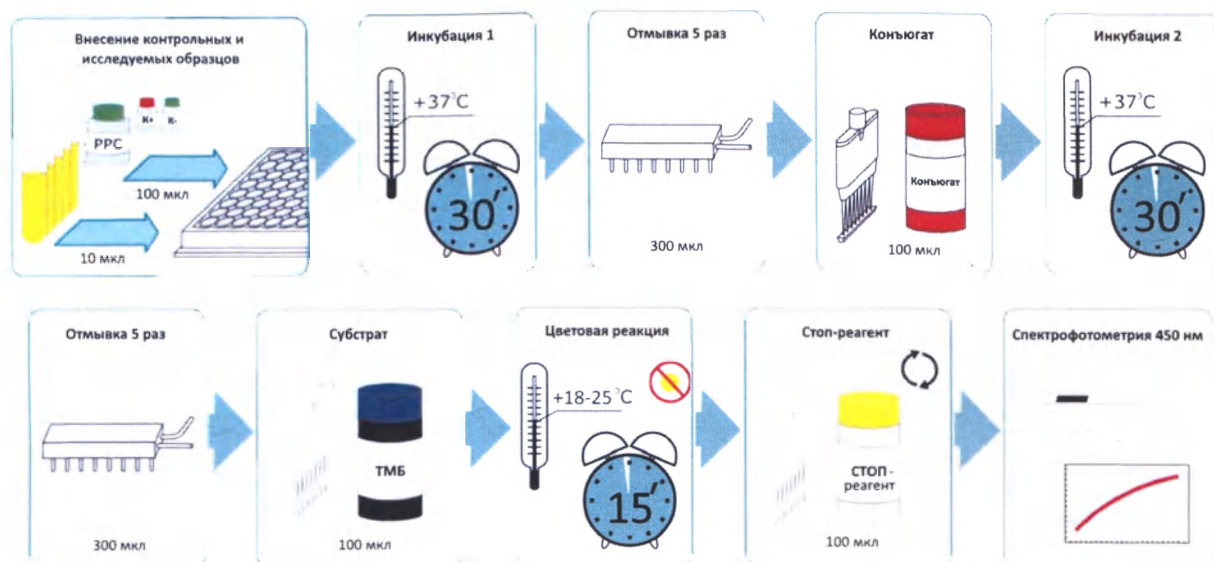
19. Гарантии производителя

Предприятие-производитель гарантирует соответствие функциональных характеристик набора реагентов требованиям, указанным в технической и эксплуатационной документации, в течение установленного срока годности при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и применения. Срок годности набора «SARS-CoV-2-IgG-ELISA» составляет 12 месяцев с даты изготовления набора. Требования к транспортировке, хранению и применению набора «SARS-CoV-2-IgG-ELISA» указаны в п. 17 настоящей инструкции.

20. Порядок подачи рекламаций

Рекламации на специфические и физические свойства тест-системы направлять в адрес предприятия-изготовителя: ООО «Аллель», 123458, РФ, г. Москва, ул. Твардовского, дом 8, помещение V, комната 8 Тел. +7(495)780-92-96, lab@allel.tech, <https://alleltech.com/>

21. Краткая схема проведения анализа "SARS-CoV-2-IgG-ELISA"



22. Список обозначений

Символ / Symbol	Значение символа / Symbolize
	Производитель / Manufacturer
	Дата производства / Data of manufacture
REF	Номер по каталогу / Catalogue number
LOT	Номер серии / Batch code
	Использовать до (год*месяц) / Use By
	Ограничение температуры / Temperature limitation
IVD	Только для in vitro диагностики / In Vitro Diagnostic Medical Device
	Внимание / Caution, consult accompanying documents
	Не использовать при нарушении целостности упаковки / Do not use if package damaged
SORB MTP	Планшет иммуносорбент / EIA strips
CONTROL	Контрольный образец / Control sample
CONJ HRP	Конъюгат / Conjugate
SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) / Substrate solution
BUF WASH 21X	Концентрат отмывочного раствора / Washing solution concentrate
STOP	Стоп-реагент / Stop solution
DIL	Дилуент (раствор для разведения сыворотки) / EIA buffer

Всего прошито, пронумеровано и скреплено печатью
16 (Шестнадцать) лист 06

Коммерческий директор
ООО «Алле́ль»

 П. А. Деркач



1. Краткое описание

Набор реагентов «SARS-CoV-2-IgG-ELISA» представляет собой тест-систему на основе метода непрямого твердофазного иммуноферментного анализа. На дне лунок полистиролового разборного / неразборного планшета нанесен рекомбинантный антиген вируса SARS-CoV-2, который во время процесса инкубации взаимодействует с антителами к SARS-CoV-2, присутствующими в исследуемом образце. Далее к образовавшемуся иммунному комплексу добавляют меченые ферментом (пероксидазой хрена) антитела к иммуноглобулинам человека класса G (IgG). После проведения субстрат-ферментативной реакции с участием хромогена (тетраметилбензидин, ТМБ), проводят учет полученных результатов. При наличии в образце специфических анти-SARS-CoV-2 иммуноглобулинов класса G (IgG), уровень оптической плотности в лунке превосходит показатели отрицательных контрольных образцов, и пропорционален содержанию в образце специфических антител класса G.

2. Назначение

Набор реагентов «SARS-CoV-2-IgG-ELISA» предназначен для качественного определения иммуноглобулинов класса G к коронавирусу SARS-CoV-2 в сыворотке или плазме крови человека и рекомендуется для *in vitro* диагностики и проведения эпидемиологических исследований.

3. Сбор и хранение образцов

- ✓ Для проведения иммуноферментного анализа допустимо использование образцов сыворотки или плазмы крови. Температурный режим хранения образцов сыворотки и плазмы: +2...+8 °C до 5 дней или -18...-22 °C до 6 месяцев;
- ✓ Перед постановкой анализа образцы, хранившиеся в холодильнике/морозильной камере, разморозить при температуре от +18...+25 °C и тщательно перемешать;
- ✓ Перед проведением исследования необходимо провести центрифугирование образцов в течение 15 мин на скорости 3000 об/мин;
- ✓ Не допустимо использовать для исследования образцы с выраженным гемолизом или хилезом, а также образцы в которых присутствует бактериальный рост;
- ✓ Не допустимо проводить повторные циклы замораживания-оттаивания образцов.

4. Состав набора

Наименование	Объем, мл	Кол-во, шт.	Описание
Иммуносорбент, планшет полистироловый, разборный 12 стрипов*8 лунок / неразборный, 96 лунок (ИС)	-	1	в пластиковом фольгированном пакете, готов к использованию
Промывочный буфер, 25х концентрат (ПБФ)	29	1	прозрачная бесцветная жидкость
Раствор для разведения сыворотки (PPC)	17	1	прозрачная жидкость фиолетового цвета
Моноклональные антитела к IgG человека, конъюгированные с пероксидазой хрена (конъюгат)	17	1	прозрачная жидкость розового или светло-оранжевого цвета
Раствор тетраметилбензидина в субстратном буфере, хромоген (ТМБ)	17	1	бесцветная или бледно-желтая прозрачная жидкость
0,5M раствор серной кислоты (стоп-реагент)	17	1	прозрачная бесцветная жидкость
Положительный контрольный образец (K+)	1,3*	1	прозрачная жидкость светло-красного цвета
Отрицательный контрольный образец (K-)	2*	1	прозрачная жидкость светло-желтого цвета
Пленка для заклеивания планшета	-	3	-
Краткая инструкция по применению Набора реагентов «SARS-CoV-2-IgG-ELISA». Полная версия инструкции к набору доступна на сайте производителя.	-	1	-

Примечание: * - Субстанция, содержащая / не содержащая нативный или рекомбинантный химерный IgG человека (или его фрагменты) к антигенам SARS-CoV-2. В случае присутствия компонентов, полученных из биологического материала человека, проводится патогенредукция. Контрольный биологический материал не содержит р24 ВИЧ-1, HBsAg, антитела к антигенам ВИЧ 1,2, антитела к ВГС.

Необходимое дополнительное оборудование, не входящее в состав набора:

- 1.Спектрофотометр, позволяющий проводить измерение оптической плотности растворов в лунках планшета на длине волны 450 нм;
- 2.Термостатируемый шейкер-инкубатор, поддерживающий температуру (37±1) °C;
- 3.Устройство для промывки лунок планшетов промывочным буфером;
- 4.Дозаторы одноканальные и/или многоканальные со сменными наконечниками, объемом до 10 мкл; до 200 мкл; до 1000 мкл;
- 5.Одноразовые ванночки для реагентов;
- 6.Холодильник фармацевтический, температурный режим +2...+8 °C;
- 7.Цилиндр мерный, вместимостью до 100 мл, до 1000 мл;
- 8.Лабораторная фильтровальная бумага;
- 9.Дистиллированная или деионизованная вода.

5. Способ применения

5.1. Требования безопасности

Все образцы человеческой крови должны рассматриваться как потенциально инфекционные:

- ✓ Набор реагентов предназначен только для профессионального использования. Работу следует проводить в специально оборудованном помещении лаборатории, отвечающей требованиям СП 1.3.2322 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV группы патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней»;
- ✓ При работе используйте одноразовые перчатки и индивидуальные средства защиты;
- ✓ Все использованные материалы (наконечники, флаконы, планшеты, контейнеры образцов) должны подвергаться обработке 6% раствором перекиси водорода (не менее 6 часов), или 10% гипохлоридом натрия 30 минут или должны быть проавтоклавированы 1 час при 121°C;
- ✓ Все компоненты набора реагентов, за исключением стоп-реагента, являются нетоксичными. Стоп-реагент обладает раздражающим действием. В случае попадания на кожу или слизистые оболочки, промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.

5.2. Проведение иммуноферментного анализа

1. Приведите реагенты к комнатной температуре (+18...+25°C) за 15-30 минут.

2. Приготовьте рабочий раствор промывочного буфера.

ВНИМАНИЕ! При наличии во флаконе концентрата промывочного буфера осадка солей, флакон следует выдержать при +37 °C до полного растворения.

Содержимое флакона с 25х концентратом промывочного буфера необходимо развести дистиллированной водой в соответствии с «таблицей разведения ПБФ». Используйте только чистые пробирки для разбавления промывочного буфера. Приготовленный

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU Ребра хранить при температуре +2...+8 °C не более 1 месяца.

Таблица разведения ПБф:

Количество используемых стрипов	25х концентрат ПБф, мл	dH ₂ O, мл	Общий объем, мл
1	2	48	50
2	4	96	100
3	6	144	150
4	8	192	200
5	10	240	250
6	12	288	300
7	14	336	350
8	16	384	400
9	18	432	450
10	20	480	500
11	22	528	550
12	24	576	600

3. Извлеките необходимое количество стрипов ИС из планшета. Поместите стрипы в держатель. Для каждой постановки требуется добавить к исследуемым образцам три контроля: отрицательный контроль (К-) в дубле и положительный контроль (К+), см. образец схемы планшета для постановки (при постановке анализа на одном стрипе допускается использовать для К- и К+ по одной лунке). Неиспользованные стрипы поместить обратно в пакет, плотно закрыть и хранить при температуре +2...+8 °С не более 2 месяцев.

Образец схемы планшета для постановки:

К-	Образец №6	Образец №14
К-	Образец №7	Образец №15
К+	Образец №8	Образец №16
Образец №1	Образец №9	Образец №17
Образец №2	Образец №10	Образец №18
Образец №3	Образец №11	Образец №19
Образец №4	Образец №12	Образец №20
Образец №5	Образец №13	Образец №21

4. Во все лунки, кроме контрольных (К+, К-) добавьте 100 мкл раствора для разведения сыворотки (PPC);
5. Во все лунки, кроме контрольных (К+, К-), добавьте 10 мкл исследуемых образцов и тщательно пропипетируйте. В лунку К+ добавьте 100 мкл положительного контрольного образца (К+), в лунки К- добавьте по 100 мкл отрицательного контрольного образца (К-);
6. Инкубация №1: заклейте планшет пленкой и инкубируйте 30 минут при температуре +37°С. Рекомендуется использовать инкубатор со встряхиванием (шейкер-инкубатор);
7. Промывка №1: после окончания инкубации, снимите и выбросьте пленку. Промойте лунки планшета 5 раз промывочным буфером (ПБф), внося по 300 мкл раствора в каждую лунку. Каждый раз выдержите лунки в наполненном состоянии 30-60 секунд. После конечного (пятого) промывания переверните планшет на бумажное полотенце (фильтровальную бумагу) и постучите по планшету для удаления жидкости;
8. Добавьте во все лунки 100 мкл конъюгата;
9. Инкубация №2: заклейте планшет пленкой и инкубируйте 30 минут при температуре +37°С. Рекомендуется использовать инкубатор со встряхиванием (шейкер-инкубатор);
10. Промывка №2: после окончания инкубации, снимите и выбросьте пленку. Промойте лунки планшета 5 раз промывочным буфером (ПБф), внося по 300 мкл раствора в каждую лунку. Каждый раз выдержите лунки в наполненном состоянии 30-60 секунд. После конечного (пятого) промывания переверните планшет на бумажное полотенце (фильтровальную бумагу) и постучите по планшету для удаления жидкости;
11. Проявление цветовой реакции: Внесите 100 мкл хромогена (ТМБ) каждую лунку, перемешайте пипетированием. Инкубируйте планшет в темноте в течение 15 минут при комнатной температуре (18-25°С).
12. Остановка реакции: внесите 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку и перемешайте пипетированием. Проводите измерение оптической плотности не позднее, чем через 10 мин после внесения стоп-реагента.

6. Интерпретация результатов

Измерения оптической плотности проводят спектрофотометрически при длине волны 450 нм с настройкой "нуля" прибора (бланк) по воздуху.

6.1. Диапазон контроля качества:

- ✓ Результаты исследований считают достоверными, если среднее значение оптической плотности (ОП) в лунках отрицательного контрольного образца (К-) ≤ 0,1 о.е., а значение оптической плотности (ОП) в лунке положительного контрольного образца (К+) ≥ 0,5 о.е.

6.2. Обсчет результатов:

Расчет ОКрит: $ОКрит = ОП(К-)_{среднее} + 0,2 \quad (1)$

где ОП (К-)среднее - среднее значение оптической плотности отрицательного контроля (К-) по двум лункам.

Результат анализа может быть также представлен в виде коэффициента позитивности (КП): $КП = ОП(образца) / ОКрит \quad (2)$

Таблица интерпретации результатов исследования:

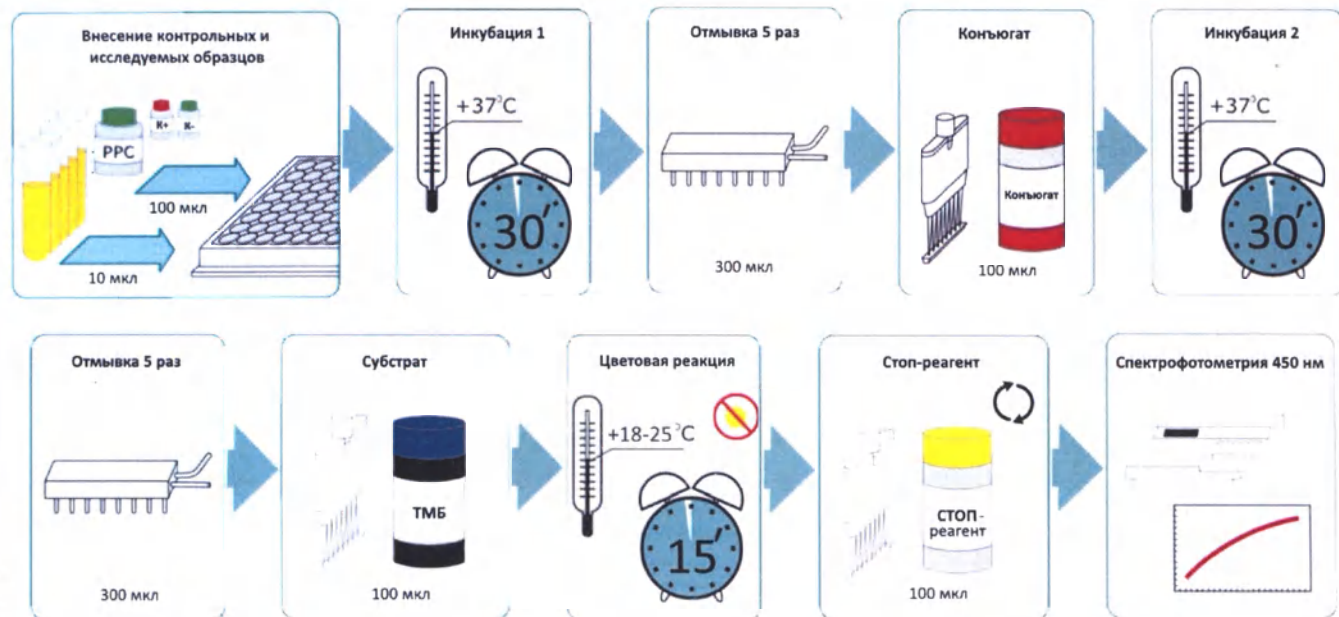
Интерпретация результата	По измерению ОКрит	По коэффициенту позитивности (КП)
Положительный результат	ОП исследуемого образца ≥ ОКрит + 10%	> 1,1
Отрицательный результат	ОП исследуемого образца ≤ ОКрит - 10%	< 0,9
Пограничный результат	ОП исследуемого образца = ОКрит ± 10%	0,9 – 1,1

7. Условия хранения и транспортировки

Срок годности тест-системы — 12 месяцев со дня выпуска. Наборы хранить и транспортировать при температуре +2...+8°С. Допускается транспортирование при температуре до +25°С не более 5 суток. Не допускать замораживания. Срок годности компонентов набора после вскрытия при температуре +2...+8°С – ИС, К+, К- не более 2х месяцев; PPC, Конъюгат, ТМБ, концентрат ПБф в течение срока годности, указанного на упаковке.

В случае, если у Вас возникли вопросы или Вам необходима помощь по работе с нашей продукцией, Вы можете получить консультацию,

8. Краткая схема проведения анализа "SARS-CoV-2-IgG-ELISA"



Всего прошито, пронумеровано и скреплено печатью
3 (три) лист а

Коммерческий директор
ООО «Алель»

П. А. Деркач

