

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор
ООО «ИМБИАН ЛАБ»



А.А. Марков

« 1 » 202 0 г.

Инструкция по применению медицинского изделия для диагностики in vitro

Набор реагентов для определения иммуноглобулинов класса G (IgG) к коронавирусу SARS-CoV-2, вызывающему COVID-19, в сыворотке (плазме) крови человека методом твердофазного непрямого иммуноферментного анализа (ИФА) «SARS-CoV-2 IgG Screen», ТУ 21.20.23-001-41390295-2020

КАТАЛОЖНЫЙ НОМЕР



K-007



Для 96 определений



Для диагностики in vitro



ООО «Имбиан Лаб»
Красный проспект, 17/1
105043 Новосибирск, Россия
+7(383) 213-00-71
info@imbian.ru
www.imbian.ru

1. Назначение набора

1.1. Набор реагентов для определения иммуноглобулинов класса G (IgG) к коронавирусу SARS-CoV-2, вызывающему COVID-19, в сыворотке (плазме) крови человека методом твердофазного непрямого иммуноферментного анализа (ИФА) «SARS-CoV-2 IgG Screen», ТУ 21.20.23-001-41390295-2020 предназначен для качественного выявления антител класса G (IgG) к коронавирусу SARS-CoV-2, вызывающему заболевание «COVID-19», в сыворотке (плазме) крови человека методом твердофазного непрямого иммуноферментного анализа (ИФА).

Набор реагентов «SARS-CoV-2 IgG Screen» рекомендуется применять для:

- оценки иммунного ответа на перенесенную и текущую инфекцию (коронавирус SARS-CoV-2).
- обследования лиц, прибывающих из регионов с высоким уровнем заболевания COVID-19 и их повторное обследование перед выходом из обсервации;
- выявления переболевших COVID-19, независимо от формы инфекционного процесса.

1.2. Область применения - клиническая лабораторная диагностика.

1.3. Набор реагентов «SARS-CoV-2 IgG Screen» предназначен для профессионального применения. Потенциальный потребитель: профессиональная квалификационная группа "Средний медицинский и фармацевтический персонал не ниже 2 квалификационного уровня, профессиональная квалификационная группа "Врачи и провизоры" всех уровней (Приказ МЗ РФ № 526 от 06.08.2007).

2. Характеристика изделия

2.1. Состав набора реагентов «SARS-CoV-2 IgG Screen»:

Название компонента	Описание компонента	Количество
Иммуно-сорбент	Запаянный в фольгированный пакет 96-луночный разборный полистироловый планшет для иммунологических реакций с плоским дном (12 стрипов по 8 лунок) с сорбированным рекомбинантными антигенами, иммунологически идентичным антигену Spike (Glycoprotein (S)) и нуклеокапсидному N- белку вируса SARS-CoV-2	1 шт.
K(+)	Инактивированный положительный контрольный образец на основе сыворотки крови человека, содержащий IgG антитела к вирусу SARS-CoV-2. Готов к применению Прозрачная жидкость желтого цвета	1 флакон (1 мл)
K(-)	Инактивированный отрицательный контрольный образец на основе сыворотки крови человека, не содержащий антитела к вирусу SARS-CoV-2. Готов к применению. Прозрачная жидкость синего цвета	1 флакон (2 мл)
ФСБ-Tx26	Концентрат промывочного раствора, 26-кратный. Фосфатно-солевой буферный раствор с твином. Слегка опалесцирующая, бесцветная жидкость, возможно выпадение осадка. Требуется разведение	1 флакон (30 мл)
РРО	Раствор для разведения образцов. Опалесцирующая жидкость фиолетового цвета. Готов к использованию	1 флакон (12 мл)
КГ(x11)	Концентрат конъюгата, 11-кратный. Смесь мышиных моноклональных антител против IgG человека с пероксидазой хрена.	1 флакон (1,3 мл)

	Прозрачная бесцветная жидкость	
РРК	Раствор для разведения конъюгата. Прозрачная жидкость зеленого цвета	1 флакон (13 мл)
ТМБ (x11)	Концентрат ТМБ, 11 кратный. Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон (1,3 мл)
РРТ	Раствор для разведения ТМБ. Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон (13 мл)
Стоп-реагент	Прозрачная бесцветная жидкость. Готов к использованию	1 флакон (7 мл)
Пленка для заклеивания планшета		3 шт.
Инструкция по использованию набора реагентов		1 шт.

2.2. Число анализируемых проб

Набор реагентов рассчитан на 96 определений, включая контрольные образцы, с использованием анализатора автоматического иммуноферментного открытого типа или с помощью ручной постановки анализа.

Возможны отдельные независимые постановки анализа с необходимым количеством стрипов **Иммуносорбента**.

2.3. Принцип метода

Принцип действия набора реагентов – непрямой двухстадийный иммуноферментный анализ. На поверхности лунок полистиролового планшета сорбированы рекомбинантные антигены иммунологически идентичные антигену Spike (Glycoprotein (S)) и нуклеокапсидному N- белку вируса SARS-CoV-2. В лунки вносятся контрольные и анализируемые образцы. При наличии в образцах специфических IgG антител к вирусу SARS-CoV-2 образуется комплекс (антиген-антитело), выявляемый посредством последующей инкубации с рабочим раствором конъюгата **КГ** (антитела к IgG человека, меченные пероксидазой хрена). При добавлении рабочего раствора **ТМБ** в результате ферментативной реакции содержимое лунок планшета окрашивается. Ферментативная реакция останавливается внесением **Стоп-реагента**. Интенсивность окрашивания (оптическая плотность), пропорциональная количеству IgG к антигенам вируса SARS-CoV-2 в анализируемом образце, регистрируется с помощью спектрофотометра.

3. Аналитические характеристики

3.1. Чувствительность набора реагентов

Чувствительность набора реагентов с использованием компонента **КГ(x11)** (определение антител класса G (IgG) к коронавирусу SARS-CoV-2) при исследовании на контрольной панели сывороток «Анти-SARS-CoV-2 рабочая панель» (производитель ФИЦ ФТМ) составляет 100 % без ложноотрицательных результатов.

3.2. Специфичность набора реагентов

Специфичность набора реагентов с использованием компонента **КГ(x11)** (определение антител класса G (IgG) к коронавирусу SARS-CoV-2) при исследовании на контрольной панели сывороток «Анти-SARS-CoV-2 рабочая панель» (производитель ФИЦ ФТМ) составляет 100 % без ложноположительных результатов.

3.3. Воспроизводимость

Внутрисерийный коэффициент вариации результатов при определении антител IgG к вирусу SARS-CoV-2 при исследовании 3 положительных образцов каждого типа анализируемых образцов в 5 повторах одной серии не превышает 8,0 %.

Межсерийный коэффициент вариации результатов выявления антител IgG к вирусу SARS-CoV-2 в одном и том же образце для каждого типа образца с использованием наборов реагентов «SARS-CoV-2 IgG Screen» не превышает 8,0 %.

3.4. Перекрестная реактивность

В рамках внутренних клинических испытаний перекрестную реактивность набора реагентов изучали на 144 заведомо отрицательных сыворотках крови человека из хранилища крови ФИЦ ФТМ (забор крови был осуществлен в период до 09.2019 гг.), не содержащих антитела к вирусу SARS-CoV-2 и содержащие антитела к различным инфекционным агентам – парагриппу, риновирусу, аденовирусу, гриппу типа А, гриппу типа В, метапневмовирус человека (hMPV), респираторно-синцитиальному вирусу человека, ВИЧ-1, ВИЧ-2, вирусу гепатита В (HBsAg), вирусу гепатита С (ВГС), Chlamydia pneumoniae, Mycoplasma pneumoniae, MERS-CoV, Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenza type B, Legionella pneumophila, коронавирусам HKU1, NL63, OC43, 229E, Вирус Эпштейна-Барра.

В рамках внутренних клинических испытаний перекрестную реактивность набора реагентов изучали на 96 заведомо отрицательных сыворотках крови человека из хранилища крови ФИЦ ФТМ (забор крови был осуществлен в период до 09.2019 гг.), не содержащих антитела к вирусу SARS-CoV-2 и содержащие антитела к различным инфекционным агентам – парагриппу, риновирусу, аденовирусу, гриппу типа А, гриппу типа В, метапневмовирус человека (hMPV), респираторно-синцитиальному вирусу человека, ВИЧ-1, ВИЧ-2, вирусу гепатита В (HBsAg), вирусу гепатита С (ВГС), Chlamydia pneumoniae, Mycoplasma pneumoniae, MERS-CoV, Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenza type B, Legionella pneumophila, другим коронавирусам, Вирус Эпштейна-Барра.

Результаты ИФА показали, что неспецифические взаимодействия рекомбинантных антигенов вируса SARS-CoV-2 с антителами различных инфекционных агентов маловероятны.

3.5. Интерферирующие вещества

На результат анализа не оказывают влияние гемоглобин (до 1000 мг/дл), триглицериды (до 50 мг/дл) и общий билирубин (до 60 мг/дл) в клинических образцах.

3.6. Диагностическая чувствительность

В ходе клинико-лабораторных испытаний диагностическую чувствительность определения антител IgG к коронавирусу SARS-CoV-2 определяли на 155 положительных образцах, показана 100 % чувствительность (98,1%, интервал (97,7-100,0) %, с доверительной вероятностью 95%).

3.7. Диагностическая специфичность

В ходе клинико-лабораторных испытаний диагностическую специфичность определения антител IgG к коронавирусу SARS-CoV-2 определяли на 191 отрицательном образце, показана 100 % специфичность (98,4%, интервал (98,2-100,0) %, с доверительной вероятностью 95%).

4. Меры предосторожности

4.1. 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 2б.

4.2. 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 требуется соблюдать «Инструкцию по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденную Минздравом

СССР 17 января 1991 года; ГОСТ Р 52905 (ИСО 15190:2003) «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

4.3. Так как контрольные и анализируемые образцы, компоненты набора реагентов являются потенциально инфицированным биоматериалом, то при работе с набором реагентов необходимо использовать индивидуальные средства защиты: халат, головной убор, резиновые или пластиковые перчатки, специальную обувь, защитные очки или щиток).

4.4. Обрабатывать руки после работы с набором реагентов и образцами в соответствии с действующей нормативной документацией.

4.5. Сыворотка (плазма) крови человека, использованная для приготовления положительного контроля, инаktivирована нагреванием при температуре $(56 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 3 ч, содержит антитела IgG к вирусу SARS-CoV-2 человека и не содержат p24 ВИЧ-1, HBsAg, антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2, ВГС и *Treponema pallidum*.

4.6. Сыворотка (плазма) крови человека, использованная для приготовления отрицательного контроля, инаktivирована нагреванием при температуре $(56 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 3 ч, не содержит антитела к вирусу SARS-CoV-2, антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2, ВГС, *Treponema pallidum*, p24 ВИЧ-1 и HBsAg.

4.7. В состав компонентов **К(+)**, **К(-)**, **РРО**, **КГ(х11)**, **РРК**, **ТМБ (х11)**, **РРТ**, **ФСБ-Т(х26)** входят консерванты в концентрациях, являющихся нетоксичными. **К(+)** содержит 0,1% Проклина 300, **К(-)** – 0,1% Проклина 300; **РРО** – 0,1% Проклина 300; **КГ(х11)** – 0,1% фенола; **РРК** – 0,1% Проклина 300; **РРТ** – 0,03% бензоата натрия; **ФСБ-Т(х26)** – 0,2% бензоата натрия. Все реактивы, входящие в состав компонентов набора реагентов в используемых концентрациях, являются нетоксичными.

4.8. **Стоп-реагент** обладает раздражающим действием, за счет кислоты серной входящей в состав. При работе избегать попадания **Стоп-реагента** на кожу и слизистые. В случае попадания промыть пораженный участок большим количеством проточной воды. Все компоненты, входящие в состав набора реагентов, предназначены только для диагностики «in vitro». Все реактивы в используемых концентрациях, входящие в состав компонентов набора реагентов – нетоксичные.

4.9. Нельзя пипетировать растворы ртом.

4.10. Все промывные растворы следует собирать в специальный контейнер и обрабатывать дезинфицирующими средствами, разрешенными для применения на территории РФ в установленном порядке.

4.11. Все твердые отходы следует собирать в специальный контейнер, обеззараживать в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

4.12. Лабораторную посуду многократного использования и расходные материалы, контактирующие с исследуемыми и контрольными образцами, следует обеззараживать с использованием дезинфицирующих средств, не содержащих активный кислород и хлор, оказывающих негативное воздействие на качество ИФА.

4.13. Инструменты, оборудование, а также рабочие поверхности столов необходимо протирать 70 % раствором этилового спирта.

5. Обеспечение качества исследований

5.1. Выполнять процедуру анализа следует в строгом соответствии с инструкцией прилагаемой к набору реагентов.

5.2. Не использовать реагенты с истекшим сроком годности.

5.3. Не использовать реагенты других производителей.

5.4. Нельзя использовать реагенты из наборов разных серий или смешивать их в процессе анализа.

5.5. Не подвергать реагенты воздействию высоких температур и прямых солнечных лучей в процессе использования и хранения.

5.6. Недопустимо замораживание набора реагентов, как целиком, так и отдельных ее компонентов.

5.7. Исследования проводить в помещении с комнатной температурой (в соответствии с действующей нормативной документацией).

5.8. Не проводить исследования в присутствии паров щелочей, кислот, альдегидов, в запыленном помещении.

5.9. Для дезинфекции использовать реагенты, не оказывающие воздействия на ферментативную реакцию: дезинфицирующие средства на основе четвертичных аммониевых соединений, спиртов, третичных аминов.

5.10. В помещении, где проводится исследование, не использовать дезинфицирующие средства, содержащие активный кислород и хлор.

5.11. Использовать чистую, тщательно промытую лабораторную посуду.

5.12. Использовать прошедшие валидацию дозаторы и оборудование.

5.13. При работе с образцами и реагентами набора использовать чистые, новые одноразовые наконечники отдельно для каждого анализируемого образца и компонента набора реагентов.

5.14. Исключить контакт металлических предметов с концентратом конъюгата (КГ(x11)), рабочим раствором конъюгата КГ, концентратом ТМБ (ТМБ (x11)) и раствором ТМБ.

5.15. Использовать новые одноразовые ванночки для каждого компонента набора реагентов.

5.16. Не использовать одну и ту же емкость, в том числе и многоразовую, после промывки, для рабочего раствора конъюгата КГ и раствора ТМБ.

5.17. Рекомендуется для отбора концентрата конъюгата (КГ(x11)) и концентрата ТМБ (ТМБ (x11)) использовать разные дозаторы пипеточные. При использовании одного дозатора необходимо тщательно следить за чистотой посадочного конуса дозатора. Перед сменой реагента тщательно обрабатывать внутреннюю и внешнюю поверхности посадочного конуса 70% этиловым спиртом.

5.18. Для отмывки **Иммуносорбента** рекомендуется использовать автоматическое или ручное промывочное устройство. В конце рабочего дня необходимо проводить промывку системы подачи жидкости дистиллированной (деионизированной) водой. Не реже 1 раза в неделю следует обрабатывать шланги и емкости промывочного устройства 70% этиловым спиртом.

5.19. Для исключения контаминации образцов друг другом и **K(+)** требуется аккуратная, тщательная работа без разбрызгивания компонентов и образцов.

6. Оборудование и материалы

6.1. дозаторы лабораторные переменного объема одно- и многоканальные вместимостью от 10 до 1000 мкл;

6.2. наконечники одноразовые к дозаторам лабораторным вместимостью от 10 до 1000 мкл;

6.3. ванночки для разведения компонентов;

6.4. микроцентрифуга лабораторная на 1000-3000 об/мин;

6.5. термостатирующее устройство для планшетов (или термостат) с режимом термостатирования $37 \pm 1^\circ\text{C}$ или орбитальный термощейкер, поддерживающий температуру $37 \pm 1^\circ\text{C}$ и с частотой вращения платформы 700 об/мин.;

6.6. устройство для промывания планшета (вошер);

6.7. спектрофотометр вертикального сканирования позволяющий выполнять измерения оптической плотности содержимого лунок планшета при 450 нм (основной фильтр) и 620-680 нм (референсный фильтр);

6.8. анализатор автоматический иммуноферментный открытого типа;

6.9. холодильная или морозильная камера;

6.10. цилиндры мерные не ниже 2 класса точности объемом 100 и 1000 мл, колба лабораторная вместимостью 1000 мл;

6.11. емкость с крышкой для жидкого дез.средства;

6.12. вода дистиллированная или деионизированная;

6.13. бумага фильтровальная;

6.14. таймер;

6.15. одноразовые нестерильные медицинские перчатки;

6.16. лабораторная посуда.

7. Анализируемые пробы

7.1. Нативная сыворотка, плазма (с гепарином, цитратом натрия, ЭДТА) крови человека. Аналитический объем образца - 10 мкл.

7.2. Образцы сыворотки (плазмы) крови до анализа ИФА хранить не более 7 суток при температуре от 2 до 8 °С. Длительное хранение (до 6 месяцев) анализируемых образцов осуществлять при температуре минус 20 °С.

7.3. Замороженные образцы перед исследованием прогреть до температуры (17 до 27 °С) тщательно перемешать для устранения возникающего при заморозке градиента концентраций. При работе с размороженными образцами следует учитывать, что каждая последующая заморозка-разморозка снижает качество исследуемого материала. С целью получения достоверных результатов исследования, производитель набора реагентов рекомендует использовать только однократное замораживание-размораживание образцов, а также хранение нескольких замороженных аликвот образца.

7.4. Не рекомендуется использование для исследования образцов с повышенным содержанием липидов и (или) с признаками гемолиза, и (или) с видимым микробным загрязнением («проростом»).

7.5. Образцы, содержащие осадок, взвешенные частицы, перед анализом подвергнуть центрифугированию в течение 10 мин при частоте вращения 3000 об/мин.

Внимание!

Перед подготовкой реагентов к работе и проведением исследования производитель настоятельно рекомендует еще раз прочитать раздел «Обеспечение качества исследований» настоящей инструкции по применению.

8. Подготовка компонентов для исследования

8.1. Предварительные манипуляции

Перед использованием вскрыть упаковку набора реагентов и извлечь все компоненты, включая запечатанный Иммуносорбент.

Выдержать компоненты в течение 30 мин при температуре от 18 до 28 °С, аккуратно перемешать.

Внимание!

К(+), К(-), РРО и Стоп-реагент готовы к использованию и не требуют дополнительных разведений.

Неиспользованные К(+), К(-), РРО и Стоп-реагент хранить в упаковке производителя при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности набора.

Компоненты ФСБ-Tx26, КГ(x11), ТМБ (x11) представлены в виде концентрата. Требуют разведения.

8.2. Подготовка Иммуносорбента

Вскрыть пакет с **Иммуносорбентом**. Установить в рамку **Иммуносорбента** необходимое количество стрипов. Неиспользуемые в данной постановке стрипы сразу после вскрытия пакета с планшетом поместить в фольгированный пакет с застежкой типа zip-lock. Из пакета удалить остаточный воздух, закрыть застежку, убрать в холодильную камеру.

Хранить неиспользованные стрипы при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности набора реагентов.

Рамку планшета сразу после использования промыть дистиллированной (деионизированной) водой. Затем – 70% этиловым спиртом и повторно дистиллированной (деионизированной) водой. Просушить, используя фильтровальную бумагу. Хранить в упаковке производителя вместе с другими неиспользованными реагентами.

Иммуносорбент (стрипы) использовать однократно!

8.3. Приготовление рабочего промывочного раствора ФСБ-Т

Внимание! В процессе хранения и транспортировки концентрата промывочного раствора (**ФСБ-Тх26**) возможно выпадение осадка солей.

При наличии осадка во флаконе с **ФСБ-Тх26** выдержать при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$ до полного растворения солей.

Содержимое флакона с **ФСБ-Тх26** перелить в мерный цилиндр вместимостью 1000 мл и довести объем раствора до 750 мл водой дистиллированной (деионизированной).

При использовании одного или нескольких стрипов **Иммуносорбента** необходимое количество рабочего промывочного раствора **ФСБ-Т** приготовить в соответствии с таблицей 1.

Рабочий промывочный раствор **ФСБ-Т** хранить при температуре от 18 до 28°C не более 3 дней или при температуре от 2 до 8°C не более 30 дней.

Неиспользованный концентрат промывочного раствора (**ФСБ-Тх26**) хранить в упаковке производителя при температуре от 2 до 8°C до истечения срока годности набора.

8.4. Приготовление рабочего раствора КГ

Во флакон с **РРК**, используя новый наконечник дозатора пипеточного, добавить содержимое флакона **КГ(х11)**. Флакон с **РРК** закрыть крышкой и аккуратно перемешать содержимое, переворачивая флакон 12-15 раз.

Перед внесением в лунки **Иммуносорбента** рабочий раствор **КГ** аккуратно перелить в ванночку для внесения реагентов.

При использовании одного или нескольких стрипов **Иммуносорбента** необходимое количество рабочего раствора **КГ** приготовить в соответствии с таблицей 1. Смешивание соответствующих объемов **РРК** и **КГ (х11)** допустимо выполнять, используя ванночку для внесения реагентов. Компоненты смешиваются аккуратным 12-15-кратным пипетированием.

Рабочий раствор **КГ** хранить при температуре от 18 до 28°C не более 60 минут.

Неиспользованный концентрат конъюгата (**КГ(х11)**) хранить в упаковке производителя при температуре от 2 до 8°C до истечения срока годности набора.

8.5. Приготовление рабочего раствора ТМБ

Во флакон с **РРТ**, используя новый наконечник дозатора пипеточного добавить содержимое флакона с **ТМБ(х11)**. Флакон с **РРТ** закрыть крышкой и аккуратно перемешать содержимое, переворачивая флакон 12-15 раз.

Перед внесением в лунки **Иммуносорбента** рабочий раствор **ТМБ** аккуратно перелить в ванночку для внесения реагентов.

При использовании одного или нескольких стрипов **Иммуносорбента** необходимое количество рабочего раствора **ТМБ** приготовить в соответствии с таблицей 1. Смешивание соответствующих объемов **РРТ** и **ТМБ(х11)** допустимо выполнять,

используя ванночку для внесения реагентов. Компоненты смешиваются аккуратным 12-15-кратным пипетированием.

Рабочий раствор ТМБ хранить при температуре от 18 до 28°C не более 60 минут в защищенном от света месте.

Неиспользованный концентрат ТМБ (ТМБ(x11)) хранить в упаковке производителя при температуре от 2 до 8°C до истечения срока годности набора.

Таблица 2. Сводная таблица приготовления рабочих растворов

Количество используемых стрипов, шт.	Рабочий промывочный раствор ФСБ-Т		Рабочий раствор КГ		Рабочий раствор ТМБ	
	ФСБ-Тх26, мл	Вода*, мл	КГ(x11), мл	РРК, мл	ТМБ (x11), мл	РРТ, мл
1	2,0	до 50	0,1	1,0	0,1	1,0
2	4,0	до 100	0,2	2,0	0,2	2,0
3	8,0	до 150	0,3	3,0	0,3	3,0
4	10,0	до 200	0,4	4,0	0,4	4,0
5	12,0	до 250	0,5	5,0	0,5	5,0
6	14,0	до 300	0,6	6,0	0,6	6,0
7	18,0	до 450	0,7	7,0	0,7	7,0
8	20,0	до 500	0,8	8,0	0,8	8,0
9	22,0	до 550	0,9	9,0	0,9	9,0
10	24,0	до 600	1,0	10,0	1,0	10,0
11	26,0	до 650	1,1	11,0	1,1	11,0
12	30,0	до 750	1,3	13,0	1,3	13,0

Примечание: * вода дистиллированная или деионизированная

9. Проведение анализа

Вариант №1 (использование термошейкера)

Этап анализа	Процедура этапа анализа	Примечание
1	Установить необходимое количество стрипов в рамку планшета	
2	Внести в одну лунку 100 мкл К(+)* . Внести в две лунки по 100 мкл К(-)* . Выбор лунок для расположения контролей произвольный. Например, лунка A1- К(+) , лунки B1 и C1 – К(-)	При использовании 1 стрипа допускается внесение К(-) в 1 лунку
3	В остальные лунки Иммуносорбента внести по 90 мкл РРО , а затем по 10 мкл анализируемых образцов. Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой.	Время внесения образцов при использовании всего планшета не должно превышать 10 мин. Неправильное соотношение в лунке объемов анализируемого образца и РРО может привести к искажению результата исследования. При ошибке внесения анализируемого образца лунка бракуется. Запрещается удаление раствора из лунки с последующим внесением в нее нового образца
4	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 30 мин.	

	Для инкубации использовать орбитальный термощейкер. Скорость вращения платформы шейкера: 700 об/мин.; температура инкубации: 37± 1°C	
5	С помощью промывателя для планшетов удалить содержимое лунок. Пять раз промыть планшет рабочим раствором ФСБ-Т, внося в лунки 400 мкл раствора . Экспозиция между этапами отмывки – 30 секунд. По окончании промывки при необходимости удалить влагу из лунок, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге	Внимание! Недостаточная аспирация жидкости в лунке может привести к искажению результата исследования. Производитель рекомендует использовать режим отмывки с перекрестной придонной аспирацией. Внимание! Не допускать высыхание лунок Иммуносорбента в перерыве между завершением промывок и внесением реагентов.
6	Во все лунки Иммуносорбента внести по 100 мкл рабочего раствора КГ . Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой	Время внесения рабочего раствора КГ при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты. Внимание! Остатки рабочего раствора КГ из ванночек утилизировать – повторное использование запрещено!
7	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 30 мин. Для инкубации использовать орбитальный термощейкер. Скорость вращения платформы шейкера: 700 об/мин.; температура инкубации: 37± 1°C	
8	С помощью промывателя для планшетов удалить содержимое лунок. Пять раз промыть планшет рабочим раствором ФСБ-Т, внося в лунки 400 мкл раствора . Экспозиция между этапами отмывки – 30 секунд. По окончании промывки при необходимости удалить влагу из лунок, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге	Внимание! Недостаточная аспирация жидкости в лунке может привести к искажению результата исследования. Производитель рекомендует использовать режим отмывки с перекрестной придонной аспирацией. Внимание! Не допускать высыхание лунок планшета в перерыве между завершением промывок и внесением реагентов.
9	Во все лунки планшета внести по 100 мкл рабочего раствора ТМБ	Время внесения рабочего раствора ТМБ при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты. Внимание! Остатки рабочего раствора ТМБ из ванночек утилизировать – повторное использование запрещено.
10	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 15 мин. Для инкубации использовать орбитальный термощейкер (без вращения). температура инкубации: 37± 1°C	Внимание! Инкубацию проводить в защищенном от света месте
11	Реакцию остановить внесением в каждую лунку Иммуносорбента по 50 мкл Стоп-реагента .	Время внесения Стоп-реагента при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты

12	Измерить оптическую плотность содержимого лунок с помощью спектрофотометра при длине волны 450 нм или используя два фильтра: основной - 450 нм референсный – 620-680 нм.	Внимание! Учет реакции необходимо произвести не позднее, чем через 5 мин. после остановки реакции
----	---	---

Вариант №2 (использование термостата).

Вариант №2 отличается от варианта №1 выполнением процедур 4 (четвертого) и 7 (седьмого) этапов анализа.

Этап анализа	Процедура этапа анализа	Примечание
1	Установить необходимое количество стрипов в рамку планшета.	
2	Внести в 1 лунку планшета 100 мкл К(+)* . Внести в 2 лунки планшета по 100 мкл К(-)* . Выбор лунок для расположения контролей произвольный. Например, лунка A1- К(+), лунки B1 и C1 – К(-).	При использовании 1 стрипа допускается внесение К(-) в 1 лунку
3	В остальные лунки планшета внести по 90 мкл РРО , а затем по 10 мкл исследуемых образцов. Раствор тщательно и аккуратно перемешать пять раз пипетированием. Заклеить лунки планшета (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой.	Время внесения образцов при использовании всего планшета не должно превышать 10 мин. Неправильное соотношение в лунке объемов анализируемого образца и РРО может привести к искажению результата исследования. При ошибке внесения анализируемого образца лунка бракуется. Запрещается удаление раствора из лунки с последующим внесением в нее нового образца.
4	Инкубировать планшет (стрипы) в течение 60 мин. Для инкубации использовать термостат. Температура инкубации: 37± 1°C	
5	С помощью промывателя для планшетов удалить содержимое лунок. Пять раз промыть планшет рабочим раствором ФСБ-Т , внося в лунки 400 мкл раствора . Экспозиция между этапами отмывки – 30 секунд . По окончании промывки при необходимости удалить влагу из лунок, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге	Внимание! Недостаточная аспирация жидкости в лунке может привести к искажению результата исследования. Производитель рекомендует использовать режим отмывки с перекрестной придонной аспирацией. Внимание! Не допускать высыхания лунок планшета в перерыве между завершением промывок и внесением реагентов.
6	Во все лунки Иммуносорбента внести по 100 мкл рабочего раствора КГ . Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой.	Время внесения рабочего раствора конъюгата при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты . Внимание! Остатки рабочего раствора конъюгата из ванночек утилизировать – повторное использование запрещено.

7	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 60 мин. Для инкубации использовать термостат. Температура инкубации: 37± 1°C	
8	С помощью промывателя для планшетов удалить содержимое лунок. Пять раз промыть Иммуносорбент рабочим раствором ФСБ-Т, внося в лунки 400 мкл раствора. Экспозиция между этапами отмывки – 30 секунд. По окончании промывки при необходимости удалить влагу из лунок, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге.	Внимание! Недостаточная аспирация жидкости в лунке может привести к искажению результата исследования. Производитель рекомендует использовать режим отмывки с перекрестной придонной аспирацией. Внимание! Не допускать высыхания лунок планшета в перерыве между завершением промывок и внесением реагентов.
9	Во все лунки Иммуносорбента внести по 100 мкл рабочего раствора ТМБ.	Время внесения рабочего раствора ТМБ при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты. Внимание! Остатки рабочего раствора ТМБ из ванночек утилизировать – повторное использование запрещено.
10	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 15 мин. Для инкубации использовать термостат. температура инкубации: 37± 1°C	Внимание! Инкубацию проводить в защищенном от света месте
11	Реакцию остановить внесением в каждую лунку Иммуносорбента по 50 мкл сСтоп-реагента.	Время внесения Стоп-реагента при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты.
12	Измерить оптическую плотность содержимого лунок с помощью спектрофотометра при длине волны 450 нм или используя два фильтра: основной - 450 нм референсный – 620-680 нм.	Внимание! Учет реакции необходимо произвести не позднее, чем через 5 мин. после остановки реакции.

Использование ИФА-анализаторов

Набор реагентов «SARS-CoV-2 IgG Screen» адаптирован для любых открытых полуавтоматических и автоматических иммуноферментных анализаторов.

Процедуру анализа проводить также, как и для ручной постановки анализа.

10. Расчеты

Результаты регистрируют при помощи спектрофотометра вертикального сканирования. Оптическую плотность (ОП) измеряют при длине волны 450 нм или используя два фильтра - 450 нм (основной фильтр) и 620-680 нм (референсный фильтр).

Нулевой уровень («бланк») задают по воздуху.

10.1. Критерии правильности теста

Для определения соответствия полученных результатов измерений критериям правильности теста рассчитывают среднее значение ОП в лунках с **К(-)**.

Рассчитать ОП **К(-)** среднее:

$$\text{ОП К(-) среднее} = \frac{(\text{ОП К(-)}_1 + \text{ОП К(-)}_2)}{2}$$

При использовании 1 стрипа значение ОП **К(-)** среднее не определяют.

Среднее значение ОП К(-) должно быть не более 0,200.

При использовании одного стрипа: значение ОП в лунке с К(-) должно быть не более 0,200.

Значение ОП в лунке с К(+) должно быть не менее 0,500.

Если полученные значения ОП в лунках с контрольными образцами не соответствуют критериям правильности теста, результаты теста не учитывают. Исследование проводят повторно.

Рассчитать критического уровня – ОП крит.(Cut off):

$$\text{ОП крит.} = \text{ОП К(-) среднее} + 0,150^*$$

При использовании одного стрипа: ОП крит. = ОП К(-) + 0,150*

*0,150 – коэффициент, определенный методом статистической обработки результатов исследований на предприятии-изготовителе.

10.2. Интерпретация результатов

Если при использовании рабочего раствор КГ ОП анализируемого образца меньше (<) ОПкрит., результат исследования образца считают отрицательным: IgG антитела к SARS-CoV-2 не обнаружены.

Если при использовании рабочего раствор КГ ОП анализируемого образца больше или равно ($\geq$) ОПкрит., результат исследования образца считают положительным: IgG антитела к SARS-CoV-2 обнаружены.

11. Утилизация отходов

11.1. 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».

11.2. Все промывные растворы, собранные в специальный контейнер и обработанные дезинфицирующими средствами, разрешенными для применения на территории РФ в установленном порядке, следует утилизировать как отходы класса В.

11.3. Все твердые отходы, собранные в специальный контейнер, обеззараженные в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами», следует утилизировать как отходы класса В.

11.4. Неиспользованные наборы реагентов с истекшим сроком годности перед утилизацией следует разукруплять.

11.5. Неиспользованный концентрат промывочного раствора следует утилизировать, как отходы класса А.

11.6. Неиспользованные положительные и отрицательные контроли набора, конъюгаты, растворы для разведения конъюгатов и иммуносорбент следует обеззараживать и утилизировать, как медицинские отходы класса Б.

11.7. Неиспользованные концентрат ТМБ-субстрата и стоп-реагент следует утилизировать, как отходы класса Г.

11.8. Утилизация проводится специализированными организациями, которые имеют лицензию на право утилизации медицинских отходов.

12. Ограничение теста

Следует помнить, что результаты тестирования на антитела не могут быть единственным критерием для диагностики или исключения инфекции SARS-CoV-2, или для определения статуса инфекции.

Отрицательный результат исследования при наличии инфицирования SARS-CoV-2 возможен:

- в инкубационный и начальный периоды заболевания;
- примерно у 6% пациентов, перенесших COVID-19 (антитела не обнаруживались и в стадии реконвалесценции);
- у пациентов со слабым иммунным ответом (состояние иммуносупрессии).

Ложноположительный результат исследования нельзя исключить при наличии текущей или анамнестической коронавирусной инфекции, вызванной не SARS-CoV-2, а другими коронавирусами человека, например HCoV-229E, -OC43, -NL63 и -HKU1.

Постановка диагноза COVID-19 и определение SARS-CoV-2-статуса возможны только при проведении всего спектра специфических исследований, с обязательным выполнением молекулярных и иммунологических тестов. Кроме того, следует не ограничиваться однократным обследованием пациента, а выполнять лабораторные исследования в динамике, забирая материал на разных стадиях инфекционного процесса.

13. Срок годности, условия транспортировки и хранения

Срок годности, условия транспортировки и хранения набора реагентов и компонентов представлены в таблице 3.

Таблица 3. Срок годности, условия транспортировки и хранения набора реагентов и компонентов

Параметр	Период	Условия
Срок годности набора реагентов	12 месяцев*	хранить в упаковке производителя в сухом, защищенном от света месте, при температуре от 2 до 8°C. Внимание! Замораживание не допускается
Транспортировка	в течение срока годности	при температуре от 2 до 8° С
	7 суток	при температуре от 9 до 28°С
Вскрытые компоненты: К(+), К(-), ФСБ-Т*26, КГ(х11), ТМБ(х11), РРК, РРТ, РРО, Стоп-реагент, Иммуносорбент	в течение срока годности набора реагентов	хранить в упаковке производителя в сухом, защищенном от света месте, при температуре от 2 до 8° С
Рабочий раствор Кг	не более 60 минут	при температуре от 18 до 28°С
Рабочий раствор ТМБ	не более 60 минут	от 18 до 28°С в защищенном от света месте
Рабочий промывочный раствор ФСБ-Т	не более 3 дней	при температуре от 18 до 28°С
	не более 30 дней	при температуре от 2 до 8°С

Примечание: * Данные не подтверждены исследованиями в реальном времени. Исследования стабильности в реальном времени продолжаются.

14. Гарантийные обязательства

Производитель гарантирует соответствие набора реагентов «SARS-CoV-2 IgG Screen» требованиям нормативной и технической документации, а также качество и безопасность продукта в течение всего срока годности.

Рекламации на специфические и физические свойства набора реагентов направлять в адрес предприятия-изготовителя: ООО «Имбиан Лаб», 105043, РФ, Новосибирск, Красный проспект 17/1.

Тел. +7(383)2130071, info@imbian.ru, www.imbian.ru.

15. Форма подачи рекламаций

Для проведения расследования и получения объективных выводов по заявленной рекламации необходимо предоставить:

- рекламационный набор реагентов с сопроводительным письмом, содержащим информацию о выявленных несоответствиях;
- исследуемые образцы;
- протоколы исследований, выполненных другим методом (указать наименование, серию, срок годности набора);
- протоколы исследований, выполненных референтным набором (указать наименование, серию, срок годности набора).

Символы маркировки

Символ	Наименование символа	Символ	Наименование символа
	Использовать до		Не использовать повторно
	Дата изготовления		Осторожно! Обратитесь к сопроводительной документации
	Код партии		Не допускать воздействия солнечного света
	Каталожный номер		Содержимого достаточно для 96 определений
	Обратитесь к инструкции по применению		Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Температурный диапазон		Не использовать при поврежденной упаковке
	Беречь от влаги		Биологический риск
	H302: Вредно при проглатывании H315: При попадании на кожу вызывает раздражение H319: При попадании в глаза вызывает выраженное раздражение		

Штрих-код Набора реагентов для определения иммуноглобулинов класса G (IgG) к коронавирусу SARS-CoV-2, вызывающему COVID-19, в сыворотке (плазме) крови человека методом твердофазного непрямого иммуноферментного анализа (ИФА) «SARS-CoV-2 IgG Screen», ТУ 21.20.23-001-41390295-2020: **9780201370010**

Штрих-коды компонентов набора реагентов

Наименование компонента	Штрих-кода	Наименование компонента	Штрих-кода
Иммуносорбент	9780201370157	РРК	9780201370096
К(+)	9780201370058	ТМБ (x11)	9780201370102
К(-)	9780201370034	РРТ	9780201370089
ФСБ-ТХ26	9780201370027	Стоп-реагент	9780201370041
РРО	9780201370072		
КГ (x11)	9780201370126		

Краткая схема анализа набора реагентов «SARS-CoV-2 IgG Screen» с использованием термощейкера

Этап анализа	Процедура этапа анализа.
1	Установить необходимое количество стрипов в рамку планшета
2	Внести в одну лунку Иммуносорбента 100 мкл K(+) , внести в две лунки Иммуносорбента по 100 мкл K(-)
3	В остальные лунки планшета внести по 90 мкл РРО , а затем по 10 мкл анализируемых образцов
4	Инкубировать в течение 30 мин в термощейкере при 700 об/мин и при температуре 37 ± 1 °C
5	Пять раз промыть Иммуносорбент рабочим раствором ФСБ-Т , внося в лунки 400 мкл раствора. Экспозиция между этапами отмывки – 30секунд
6	Во все лунки планшета внести по 100 мкл рабочего раствора K1
7	Инкубировать в течение 30 мин в термощейкере при 700 об/мин и при температуре 37 ± 1 °C
8	Пять раз промыть Иммуносорбент рабочим раствором ФСБ-Т , внося в лунки 400 мкл раствора. Экспозиция между этапами отмывки – 30секунд
9	Во все лунки Иммуносорбента внести по 100 мкл рабочего раствора ГМБ .
10	Инкубировать в защищенном от света месте в течение 15 мин при температуре 37 ± 1 °C
11	Внести в каждую лунку Иммуносорбента по 50 мкл Стоп-реагента
12	Измерить оптическую плотность содержимого лунок с помощью спектрофотометра при длине волны 450 нм, или используя два фильтра: основной (450 нм) и референсный (620-680 нм)

Краткая схема анализа набора реагентов «SARS-CoV-2 /IgG Screen» с использованием термостата

Этап анализа	Процедура этапа анализа.
1	Установить необходимое количество стрипов в рамку планшета
2	Внести в одну лунку Иммуносорбента 100 мкл К(+) , внести в две лунки планшета по 100 мкл К(-)
3	В остальные лунки Иммуносорбента внести по 90 мкл РРО , а затем по 10 мкл анализируемых образцов
4	Инкубировать в течение 60 мин в термостате при температуре $37\pm 1^{\circ}\text{C}$
5	Пять раз промыть Иммуносорбент рабочим раствором ФСБ-Т, внося в лунки 400 мкл раствора Экспозиция между этапами отмывки – 30секунд
6	Во все лунки Иммуносорбента внести по 100 мкл рабочего раствора КГ
7	Инкубировать в течение 60 мин в термостате при температуре $37\pm 1^{\circ}\text{C}$
8	Пять раз промыть Иммуносорбент рабочим раствором ФСБ-Т, внося в лунки 400 мкл раствора. Экспозиция между этапами отмывки – 30секунд.
9	Во все лунки Иммуносорбента внести по 100 мкл рабочего раствора ТМБ
10	Инкубировать в защищенном от света месте в течение 15 мин при температуре $37\pm 1^{\circ}\text{C}$
11	Внести в каждую лунку Иммуносорбента по 50 мкл Стоп-реагента
12	Измерить оптическую плотность содержимого лунок с помощью спектрофотометра при длине волны 450 нм, или используя два фильтра: основной (450 нм) и референсный (620-680 нм)

Дата создания 21.08.2020 г.

СОГЛАСОВАНО

Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»



И.К. Варнавичус

« 21 » августа 2020 г.

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

18 лист 16

Генеральный директор
ООО «ИМБИАН ЛАБ»

31 4/2020 Марков А.А.

2020 г.



конная версия
время директора
71113 97114

М.Ю. Рукавишников



«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»

М.Д. Хусанов

2020 г.

М.П.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для иммуноферментного выявления
иммуноглобулинов класса G к SARS-CoV-2
(SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса G к SARS-CoV-2 «SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ» (далее по тексту – набор) предназначен для качественного определения иммуноглобулинов класса G (IgG) к SARS-CoV-2 в сыворотке (плазме) крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа. Набор можно использовать при диагностике COVID-19.

1.2. Набор рассчитан на проведение анализа 96 образцов, включая контрольные образцы. Возможно дробное использование набора.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Метод определения основан на двухстадийном «непрямом» варианте твердофазного иммуноферментного анализа. На первой стадии анализа, содержащиеся в исследуемых образцах специфические антитела (в том числе IgG) связываются с иммобилизованным на поверхности лунок планшета рекомбинантным антигеном SARS-CoV-2. На второй стадии конъюгат моноклональных антител к IgG человека с пероксидазой хрена взаимодействует с комплексами «антиген-IgG». При инкубации с раствором тетраметилбензидина происходит окрашивание раствора в лунках, содержащих образовавшиеся комплексы «антиген-IgG-конъюгат». Интенсивность окрашивания пропорциональна концентрации IgG к SARS-CoV-2 в анализируемом образце. После остановки реакции добавлением стоп-реагента результаты анализа регистрируются измерением оптической плотности в лунках планшета.

Инструкция составлена сотрудниками АО «Вектор-Бест»: директором НИИ СД М.Ю. Рукавишниковым, начальником лаборатории маркеров вирусных инфекций И.Н. Кувшиновой

2.2. Состав набора

Компонент набора (сокращение) <i>Описание.</i>	Кол-во
Планшет разборный с иммобилизованным рекомбинантным антигеном SARS-CoV-2	1 шт.
Положительный контрольный образец (K⁺) <i>Содержит IgG к SARS-CoV-2.</i> <i>Содержит ProClin 300 (0,03 %)</i>	1 фл., 1,5 мл
Отрицательный контрольный образец (K⁻) <i>Не содержит IgG к SARS-CoV-2.</i> <i>Содержит ProClin 300 (0,03 %).</i>	1 фл., 2,5 мл
Конъюгат <i>Конъюгат моноклональных антител к IgG человека с пероксидазой хрена.</i> <i>Содержит натрия мертиолят (0,0008%), ProClin 150 (0,004 %), ProClin 300 (0,027 %), фенол (0,004 %).</i>	1 фл., 13,0 мл
Раствор для разведения сывороток (PPC)	1 фл., 12,0 мл
Раствор для предварительного разведения сывороток (РПРС) <i>Содержит ProClin 300 (0,02 %).</i>	1 фл., 10,0 мл
Концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) <i>Содержит ProClin 300 (0,25 %).</i>	1 фл., 28,0 мл
Раствор тетраметилбензидина (раствор ТМБ) <i>Содержит 3,3',5,5' - тетраметилбензидин (0,025 %).</i>	1 фл., 13,0 мл
Стоп-реагент <i>Содержит кислоту серную (4,9 %).</i>	1 фл., 12,0 мл
Планшет разборный для предварительного разведения исследуемых образцов	1 шт.
Плётки для заклеивания планшета	2 шт.
Наконечники для дозаторов на 2-200 мкл	16 шт.
Ванночки для реагентов	2 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Диагностическая чувствительность выявления IgG к SARS-CoV-2: клинические испытания, проведенные на положительных образцах сыворотки и плазмы крови, полученных от 83 пациентов, показали 100 % чувствительность (интервал 95,7 % - 100 %, с доверительной вероятностью 95 %);

3.2. Диагностическая специфичность выявления IgG к SARS-CoV-2: клинические испытания, проведенные на отрицательных образцах сыворотки и плазмы крови, полученных от 249 пациентов, показали 100 % специфичность (интервал 98,5 % - 100 %, с доверительной вероятностью 95 %).

3.3. Для оценки аналитической специфичности (перекрестной реактивности) использовали 224 образца сыворотки крови от беременных женщин и пациентов с другими гетерологичными заболеваниями, содержащими специфические IgG: грипп А и В (45), аденовирусная инфекция, риновирусная инфекция; коронавирусная инфекция, вызванная HCoV-229E, SARS-

CoV и MERS-CoV; инфекция, вызванная вирусом Varicella Zoster, цитомегаловирусом, вирусом кори, вирусом Rubella, вирусом простого герпеса первого типа, вирусом Эпштейна-Барр; бактериальная пневмония и бронхит, вызванные *Mycoplasma pneumoniae* и *Chlamydia pneumoniae*; HBV-инфекция, HCV-инфекция, HIV-1,2 – инфекция; инфекция, вызванная *Mycobacterium tuberculosis*. Перекрестно реагирующих образцов обнаружено не было.

Образцы сыворотки (плазмы) от пациентов, инфицированных вирусом HCoV-NL63, HCoV-OC43 и HCoV-NKUI не тестировались!

3.4. Воспроизводимость результатов: клинические испытания, проведенные на 185 положительных и 299 отрицательных образцах с использованием двух серий набора реагентов, показали 100 % межсерийную воспроизводимость результатов. Результаты ИФА показали хорошую воспроизводимость набора (коэффициент вариации ОП не более 8%).

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 3 (Приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).

4.2. SARS-CoV-2 (ранее 2019-nCoV) - новый вид коронавирусов, вызывающий опасное инфекционное заболевание COVID-19, относится к II группе патогенности.

Лаборатории, выполняющие исследования по выявлению IgG к SARS-CoV-2, обязаны обеспечить безопасность работы в соответствии с требованиями законодательства в сфере санитарно-эпидемиологического благополучия.

Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом. Допускать к работе с набором только специально обученный персонал с высшим или средним медицинским, или биологическим (ветеринарным) образованием, прошедший подготовку на лицензированных курсах первичной специализации по работе с микроорганизмами III-IV групп патогенности и получивший дополнительное специальное образование на курсах повышения квалификации. Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

4.3. Стоп-реагент и раствор ТМБ обладают раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента и раствора ТМБ на кожу и слизистые необходимо промыть пораженный участок большим количеством проточной воды. Некоторые компоненты содержат ProClin 300, ProClin 150, фенол, кислоту серную, натрия мертиолят, тетраметилбензидин в концентрациях, указанных в п. 2.2 «Состав набора».

Все компоненты набора, содержащие в своем составе материалы человеческого происхождения, инаktivированы.

4.4. При работе с исследуемыми и контрольными образцами следует соблюдать меры

предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом. Основные правила работы изложены в «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР 17 января 1991 г.

4.5. При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

4.6. Дезинфекцию наборов реагентов, посуды и материалов, контактировавших с исследуемыми и контрольными образцами, следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

– спектрофотометр, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках планшета при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620 - 655 нм; допускается измерение при одной длине волны - 450 нм (например, Анализатор иммуноферментный микропланшетный автоматический Infinite F50, «Текан Австрия ГмбХ», РУ № ФСЗ 2010/07029 или Анализатор иммуноферментных реакций АИФР-01 УНИПЛАН, ЗАО «ПИКОН», РУ № ФСР 2010/08123);

– термостатируемый шейкер орбитального типа, поддерживающий температуру $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$, с интенсивностью перемешивания 700 об/мин;

– промывочное устройство для планшетов;

– холодильник бытовой;

– дозаторы одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 10 до 5000 мкл;

– дозаторы многоканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкостей от 10 до 300 мкл;

– цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;

– вода дистиллированная;

– перчатки медицинские диагностические одноразовые;

– бумага фильтровальная лабораторная;

– дезинфицирующие средства.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Требования к условиям и процедурам ведения преаналитического этапа клинических лабораторных исследований с целью исключения или ограничения влияния эндогенных, экзо-

генных, ятрогенных и иных факторов, мешающих правильному отражению состояния внутренней среды обследуемых пациентов в результатах клинических лабораторных исследований изложены в ГОСТ Р 53079.4-2008 «Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа».

Взятие, транспортирование и хранение исследуемого материала осуществляется согласно МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории», утвержденным Роспотребнадзором и Рекомендациям «Организация преаналитического этапа при централизации лабораторных исследований», одобренным профильной комиссией Минздрава России по клинической лабораторной диагностике 30.05.2013.

При проведении работ с клиническими образцами в лаборатории, необходимо обеспечить безопасность работы в соответствии с требованиями законодательства в сфере санитарно-эпидемиологического благополучия.

6.2. Для анализа использовать образцы сыворотки крови человека или образцы плазмы крови, полученной с использованием в качестве антикоагулянта ЭДТА или цитрата натрия.

6.3. Образцы сыворотки (плазмы) крови хранить при температуре (2-8) °С не более 5 суток или при температуре минус 18 °С и ниже, если требуется более длительное хранение.

После размораживания образцы следует тщательно перемешать.

6.4. Образцы сыворотки или плазмы крови, содержащие взвешенные частицы, необходимо очистить центрифугированием.

6.5. Образцы, содержащие гемоглобин в концентрации до 10 мг/мл, билирубин в концентрации до 0,2 мг/мл, триглицериды в концентрации до 20 мг/мл пригодны для использования.

7. ПОДГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

7.1. *Внимание! Тщательное соблюдение описанных ниже требований позволит избежать искажения результатов ИФА.*

- Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать при температуре (18–26) °С не менее 30 мин.

- При детальном использовании набора после отбора необходимого количества компонентов флаконы с растворами необходимо плотно закрыть, а оставшиеся стрипы сразу упаковать в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух и плотно закрыть замок. Хранить при температуре (2–8) °С, использовать в течение всего срока годности. Допускается хранение ФСБ-Т×25 и стоп-регента при температуре (2-30) °С.

- Необходимо избегать воздействие прямого солнечного света на раствор ТМБ при подготовке и проведении ИФА.

- При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (ФСБ-Т×25, раствор ТМБ, РПРС, стоп-реагент), которые взаимозаменяемы в наборах АО «Вектор-Бест».

- Нельзя использовать реагенты из наборов других фирм-производителей.

- Для приготовления растворов и проведения ИФА использовать одноразовые наконечники для дозаторов.

- При использовании автоматического устройства для промывки планшетов необходимо следить за чистотой ёмкости для промывочного раствора и соединительных шлангов: в них не должно быть микробной контаминации. Для предотвращения засорения игл промывочного устройства в конце рабочего дня обязательно следует выполнить процедуру ополаскивания системы подачи жидкости дистиллированной водой. Один раз в неделю необходимо производить замачивание всей системы промывочного устройства в 70% этиловом спирте или в другом растворе, рекомендованном инструкцией к прибору.

- Для дезинфекции посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС (четвертичных аммониевых соединений), спиртов, третичных аминов.

- В случае повторного использования посуду (ванночки) для конъюгата необходимо промыть проточной водой и тщательно ополоснуть дистиллированной водой; посуду (ванночки) для раствора ТМБ ополоснуть водой, промыть 70% этиловым спиртом, а затем дистиллированной водой. Нельзя обрабатывать посуду (ванночки) дезинфицирующими растворами и моющими средствами.

- Дозаторы и рабочие поверхности обрабатывать только 70% раствором этилового спирта. Не использовать перекись водорода, хлорамин.

- Запрещается повторное использование планшета разборного для предварительного разведения исследуемых образцов.

7.2. Подготовка планшета.

Вскрыть пакет с планшетом выше замка. Оставить на рамке необходимое для проведения анализа количество стрипов.

7.3. Приготовление промывочного раствора.

Перемешать содержимое флакона с ФСБ-Т×25. При выпадении в концентрате осадка солей необходимо прогреть его при температуре (30–40) °С до полного растворения осадка.

В соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) внести в мерный цилиндр необходимое количество ФСБ-Тх25 и довести до соответствующего объема дистиллированной водой, тщательно перемешать.

Хранение: при температуре (2-8) °С не более 1 месяца или при (18-26) °С не более 7 суток.

7.4. Конъюгат.

Конъюгат готов к использованию. В соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) отобрать в ванночку для реагента необходимое количество конъюгата.

7.5. Раствор ТМБ.

Раствор ТМБ готов к использованию. В соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) отобрать необходимое количество раствора ТМБ в ванночку для реагента.

7.6. Подготовка исследуемых образцов.

Исследуемые образцы развести в 10 раз РПРС. Для этого внести в лунки планшета для предварительного разведения исследуемых образцов по 90 мкл РПРС и добавить по 10 мкл цельных образцов сыворотки (плазмы), тщательно перемешать.

При разведении сыворотки красный цвет РПРС должен измениться на желтый. Если изменения цвета не произошло, анализ образца сыворотки может дать неправильный результат. При разведении плазмы цвет раствора в лунке меняется незначительно.

10-тикратно разведенные образцы можно хранить не более 3 ч при температуре (18-26) °С.

Таблица расхода компонентов

Количество используемых стрипов	Промывочный раствор		Конъюгат, мл	Раствор ТМБ, мл
	ФСБ-Тх25, мл	Дистиллированная вода, мл		
1	2,0	до 50	1,0	1,0
2	4,0	до 100	2,0	2,0
3	6,0	до 150	3,0	3,0
4	8,0	до 200	4,0	4,0
5	10,0	до 250	5,0	5,0
6	12,0	до 300	6,0	6,0
7	14,0	до 350	7,0	7,0
8	16,0	до 400	8,0	8,0
9	18,0	до 450	9,0	9,0
10	20,0	до 500	10,0	10,0

11	22,0	до 550	11,0	11,0
12	24,0	до 600	12,0	12,0

7.7. Контрольные образцы (K^+ и K^-) и стоп-реагент готовы к использованию.

8. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

8.1. В любые две лунки, например, А-1 и В-1, внести по 100 мкл отрицательного контрольного образца (K^-), в одну лунку, например, С-1, – 100 мкл положительного контрольного образца (K^+).

В остальные лунки внести по 90 мкл РРС и по 10 мкл предварительно разведенных исследуемых образцов (п. 7.6.), тщательно перемешать. Таким образом, исследуемый образец в лунке разбавляется в 100 раз.

Время внесения образцов не должно превышать 10 мин.

Стрипы заклеить пленкой и инкубировать 30 мин в термостатируемом шейкере при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ с интенсивностью перемешивания 700 об/мин.

8.1.1. При необходимости определения титра антител в выявленных положительных образцах в лунки верхнего ряда А-2 – А-12 внести по 180 мкл РРС; в лунки рядов В2-В12 – Н2-Н12 внести по 100 мкл РРС. В лунки верхнего ряда внести по 20 мкл предварительно разведенных исследуемых образцов (п. 7.6.), тщательно перемешать пипетированием. Многоканальной пипеткой отобрать по 100 мкл разведенных исследуемых образцов сыворотки (плазмы) из лунок верхнего ряда и перенести в лунки второго ряда, перемешать. Из лунок второго ряда – в лунки третьего ряда, перемешать. Так же последовательно перенести до последнего ряда. Из последнего ряда по 100 мкл содержимого лунок удалить в сосуд с дезинфицирующим раствором. Таким образом, в вертикальных рядах А-2 – А-12 получают последовательные 2-кратные разведения исследуемых образцов в интервале от 1:100 до 1:12800.

Стрипы заклеить пленкой и инкубировать 30 мин в термостатируемом шейкере при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ с интенсивностью перемешивания 700 об/мин.

8.2. По окончании инкубации снять липкую пленку и поместить ее в сосуд с дезинфицирующим раствором. С помощью промывочного устройства промыть лунки планшета 5 раз промывочным раствором (п. 7.3.), чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок каждого стрипа. В каждую лунку вносить 400 мкл жидкости в процессе каждого цикла промывки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. По окончании промывки остатки влаги из лунок тщательно удалить, постукивая перевернутым планшетом по фильтровальной бумаге.

8.3. Внести во все лунки по 100 мкл конъюгата (см. п. 7.4.), заклейти стрипы пленкой и инкубировать 30 мин в термостатируемом шейкере при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ с интенсивностью перемешивания 700 об/мин.

Остатки конъюгата из ванночки утилизировать *(не сливать во флакон с исходным конъюгатом)*.

8.4. По окончании второй инкубации промыть лунки, как указано в п. 8.2.

8.5. Внести во все лунки по 100 мкл раствора ТМБ (см. п. 7.5.) и инкубировать в защищённом от прямого солнечного света месте 25 мин при температуре $(18-26)^\circ\text{C}$

Остатки раствора ТМБ из ванночки утилизировать *(не сливать во флакон с исходным раствором ТМБ)*.

8.6. Внести во все лунки по 100 мкл стоп-реактанта.

8.7. Измерить величину оптической плотности (ОП) растворов в лунках на спектрофотометре в двухволновом режиме: при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620 - 655 нм. Допускается измерение при одной длине волны - 450 нм. Время между остановкой реакции и измерением оптической плотности не должно превышать 5 мин.

9. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ

9.1. Рассчитать среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом ($\text{ОП}_{\text{ср. K}^-}$).

9.2. Результаты исследований учитывать только при соблюдении следующих условий:

- среднее значение ОП в лунках с K^- не более 0,2;
- значение ОП в лунке с K^+ не менее 0,5.

9.3. Вычислить критическое значение оптической плотности ($\text{ОП}_{\text{крит}}$) по формуле:

$$\text{ОП}_{\text{крит}} = \text{ОП}_{\text{ср. K}^-} + 0,2$$

Вычислить коэффициент позитивности (КП) по формуле:

$$\text{КП} = \text{ОП}_{\text{обр}} / \text{ОП}_{\text{крит.}}$$

где $\text{ОП}_{\text{обр}}$ – значение ОП в лунке с контрольным или анализируемым образцом.

9.4. Результат анализа считается положительным, если $\text{КП}_{\text{обр}} \geq 1,1$.

Результат анализа считается отрицательным, если $\text{КП}_{\text{обр}} < 0,8$.

Результат анализа считается пограничным, если $0,8 \leq \text{КП}_{\text{обр}} < 1,1$.

где $\text{КП}_{\text{обр}}$ – КП исследуемого образца.

В случае пограничного результата рекомендуется повторно исследовать эти образцы параллельно с образцами данных пациентов, взятыми через 2–5 дней.

При определении титра в выявленных положительных образцах за титр IgG к SARS-CoV-2 принимается последнее разведение исследуемого образца, при котором в соответствующей лунке значение $\text{КП}_{\text{обр}} \geq 1,1$.

10. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

10.1. Транспортировать изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, при температуре (2–8) °С. Допускается транспортирование при температуре до 26 °С не более 10 суток.

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре (2–8) °С в течение всего срока годности в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

10.3. Срок годности набора – 12 месяцев¹ со дня выпуска. Не допускается применение наборов по истечении срока их годности.

10.4. Для получения надёжных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

10.5. Набор предназначен для однократного применения.

10.6. Изделие не требует технического обслуживания и не подлежит ремонту.

11. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

11.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

11.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

11.3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

По вопросам, касающимся качества набора «SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ», следует обращаться в АО «Вектор-Бест» по адресу:

630559, Новосибирская обл., р.п. Кольцово, а/я 121,
тел. (383) 227-67-64, тел. (383) 227-75-40.

E-mail: ybobtk@vector-best.ru

¹ Не верифицировано данными исследования в режиме реального времени



Директор НИИ СД
АО «Вектор-Бест»

М.Ю. Рукавишников

Генеральный директор
ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора

Р.А. Максютов



Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

лист 06

ВРИО директора ФИЦ ФТМ

М.И. Воевода

2020 г

