



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Медицинского изделия для диагностики *in vitro*

Набора реагентов для качественного и полуколичественного иммуноферментного определения иммуноглобулинов G к коронавирусу SARS-CoV-2 в сыворотке и плазме крови человека
«SARS-CoV-2ИФА-IgG»

по ТУ 21.20.23-545-98539446-2020

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор «SARS-CoV-2ИФА-IgG» предназначенный для качественного и полуколичественного иммуноферментного определения иммуноглобулинов класса G к рецептор-связывающему домену белка SARS-CoV-2-S1 (RBD) и нуклеокапсидному белку (N) вируса SARS-CoV-2 в сыворотке и плазме крови (цитрат натрия 3,2%, литиевая соль гепарина, натриевая соль гепарина, К2ЭДТА, К3ЭДТА) человека. Набор предназначен для ручной постановки и на автоматических анализаторах открытого типа.

Функциональное назначение набора «SARS-CoV-2ИФА-IgG» - вспомогательное средство в диагностике. Применяется для определения иммунного статуса при обследовании пациентов, клинические признаки и симптомы которых соответствуют признакам инфекции, вызванной SARS-CoV-2, а также: для

выявления лиц с бессимптомной формой инфекции, для оценки уровня популяционного иммунитета, в том числе полуколичественного определения уровня антител в поствакцинальном периоде.

1.2. Коронавирусы – семейство РНК-содержащих вирусов, которые чаще вызывают заболевание у животных, но в некоторых случаях у людей.

Коронавирус второго типа SARS-CoV-2 вызывает тяжелый острый респираторный синдром, относится к семейству коронавирусов, к роду Betacoronavirus.

SARS-CoV-2 передается преимущественно воздушно-капельным путем при кашле или чихании и при тесном контакте с инфицированными пациентами. К группе высокого риска относят медицинский персонал и членов семей заболевших людей. Инкубационный период SARS-CoV-2 составляет от 3 до 14 дней. Симптомы инфекции SARS-CoV-2 сходны с симптомами ОРВИ другой этиологии. У значительной части населения болезнь может протекать бессимптомно. У некоторых пациентов, особенно пожилых или страдающих хроническими заболеваниями, развивается тяжелый острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС). В феврале 2020 года ВОЗ назвала заболевание, вызываемое SARS-CoV-2, COVID-19.

К основным методам диагностики заражения SARS-CoV-2 относятся прямое обнаружение вируса методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), главным образом, в биоматериале верхних или нижних дыхательных путей и определение антител к SARS-CoV-2 в крови.

Антитела класса М (IgM) начинают выявляться примерно на 7-е сутки от начала заражения, достигают пика через неделю и могут сохраняться в течение 2-х месяцев и более. Примерно с 3-й недели или ранее определяются антитела класса G (IgG) к SARS-CoV-2. Особенностью гуморального ответа на инфекцию

является небольшой временной промежуток между появлением антител IgM и IgG, а иногда и одновременное их формирование.

Для получения наиболее достоверных результатов серологического исследования необходимо исследовать парные образцы от пациента – через 1-2 недели от начала заболевания и спустя 3-4 недели после выздоровления.

С помощью выявления отдельных классов антител к SARS-CoV-2 возможно определение различных фаз инфекционного процесса:

- серонегативная фаза — антитела могут не выявляться в первичном образце, но выявляются во взятых через несколько дней образцах;

- активная фаза — при определении диагностически значимого уровня IgA и/или IgM в одном образце или значимого нарастания уровня IgG в парных сыворотках, взятых с интервалом в 2-4 недели;

- фаза реконвалесценции — концентрация IgA и IgM, как правило, существенно снижается (падение титра в 2-4 раза) во время выздоровления, при сохраняющихся IgG через 2 недели после курса лечения и позднее;

- перенесенная инфекция — персистенция IgG без роста его уровня в парных сыворотках и отсутствие IgA и IgM;

Определение IgG к SARS-CoV-2 через 4 недели после вакцинации позволяет подтвердить наличие поствакцинального иммунитета.

1.3. Набор «SARS-CoV-2ИФА-IgG» предназначен для однократного применения.

1.4. Набор «SARS-CoV-2ИФА-IgG» предназначен для диагностики in vitro сотрудниками клиничко-диагностических лабораторий.

1.5. Набор «SARS-CoV-2ИФА-IgG» предназначен для обследования всех групп населения без градации по демографическому или популяционному признаку.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

В наборе «SARS-CoV-2ИФА-IgG» использован вариант непрямого, двустадийного твердофазного иммуноферментного анализа. Для реализации этого варианта рекомбинантные белки SARS-CoV-2 (Spike RBD и нуклеокапсидный белок N), иммобилизованы на твердой фазе (внутренняя поверхность лунок). Если в образце присутствуют специфические иммуноглобулины к SARS-CoV-2, то во время первой инкубации происходит их связывание с антигенами твердой фазы. Несвязавшиеся компоненты удаляются промывкой. Во время второй инкубации антитела к иммуноглобулинам G человека, конъюгированные с пероксидазой хрена, связываются с иммунокомплексом, образовавшимся на первой стадии. Несвязавшиеся компоненты удаляются промывкой (Рисунок 1).

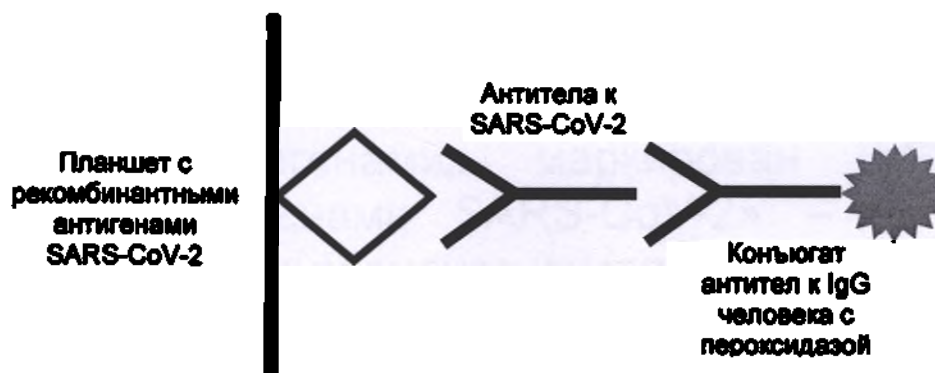


Рисунок 1. Схема анализа

Во время инкубации с раствором ТМБ происходит окрашивание раствора в лунках. Степень окраски прямо пропорциональна количеству иммуноглобулинов G в исследуемых пробах. Наличие IgG оценивается относительно значения индекса позитивности.

2.2. Состав и комплектации набора

Набор «SARS-CoV-2ИФА-IgG» выпускается в трех комплектациях.

Комплектация №1: на 96 определений при проведении анализа вручную или на автоматическом анализаторе «Alisei Q.S.»¹, SEAC/Next Level, Италия (далее «Alisei»).

Комплектация №2: на 192 определений при проведении анализа вручную или на автоматическом анализаторе «Alisei».

Комплектация №3: на 480 определений при проведении анализа вручную или на автоматическом анализаторе «Alisei».

Обратите внимание, при каждой постановке анализа на каждом планшете обязательно нужно определять: оптические плотности (ОП) отрицательной контрольной пробы (ОКП) и положительной контрольной пробы (ПКП) в соответствии со схемой маркировки лунок (п.7.2.1.1.).

Примечание: в случае дробного применения набор может быть использован только в течение шести месяцев после вскрытия компонентов набора.

В состав набора входят следующие компоненты:

- комплект из двенадцати 8-луночных стрипов в рамке с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок рекомбинантными антигенами, маркирован «Стрипы с рекомбинантными антигенами SARS-CoV-2» – 1, 2 или 5 упаковок в зависимости от варианта комплектации (Таблица 1);
- отрицательная контрольная проба на основе водно-солевого раствора, не содержащая антител к SARS-CoV-2. Флакон маркирован «Отрицательная контрольная проба» – 1, 2 или 5 флаконов (по 1,8 мл) в зависимости от варианта комплектации (Таблица 1);
- положительная контрольная проба на основе водно-солевого раствора, содержащая антитела к SARS-CoV-2. Флакон маркирован «Положительная контрольная проба» – 1

¹Допускается постановка анализа на других автоматических анализаторах для ИФА открытого типа, за информацией о необходимой комплектации набора и программе проведения анализа обращайтесь к производителю набора «SARS-CoV-2ИФА-IgG» в ООО «Компания Алкор Био», тел/факс: 8(812) 677-8779.

или 2 флакона (по 2,3 мл) в зависимости от варианта комплектации (Таблица 1);

- аналитический водно-солевой раствор, маркирован «Буфер А» – 1, 2 или 5 флаконов (по 15 мл) в зависимости от варианта комплектации (Таблица 1);

- конъюгат моноклональных антител к IgG человека с пероксидазой хрена, маркирован «Конъюгат Е» – 1, 2 или 5 флаконов (по 14 мл) в зависимости от варианта комплектации (Таблица 1);

- концентрированный водно-солевой раствор для промывки лунок, маркирован «Буфер Н (20Х)» – 1, 2 флакона (по 50 мл) или 3 флакона (по 100 мл) в зависимости от варианта комплектации (Таблица 1);

- раствор тетраметилбензидина, содержащий тетраметилбензидин, перекись водорода и стабилизаторы, маркирован «Раствор ТМБ» – 1, 2 флакона (по 14 мл) или 1 флакон 100 мл (Таблица 1);

- стоп-реагент, 3,59% раствор соляной кислоты, маркирован «Стоп-реагент» – 1, 2 флакона (по 50 мл) или 3 флакона (по 100 мл) в зависимости от варианта комплектации (Таблица 1);

- одноразовый наконечник – 16 или 32 шт. в зависимости от варианта комплектации (Таблица 1);

- одноразовая ванночка – 2 или 4 шт. в зависимости от варианта комплектации (Таблица 1);

- пленка для ИФА планшетов – 2, 4 или 10 шт. в зависимости от варианта комплектации (Таблица 1);

- пакет закрывающийся полиэтиленовый (при упаковке стрипов в пакет из материала пленочного) – 1, 2 или 5 шт в зависимости от варианта комплектации (Таблица 1).

Таблица 1

Кат. номер		200-72	200-81	200-82
Название компонента	Цветовая кодировка компонента	Комплектация №1	Комплектация №2	Комплектация №3
Комплект стрипов в рамке	-	1 шт	2 шт	5 шт
Отрицательная контрольная проба (ОКП)	Жидкость желтого цвета	1 фл – 1,8 мл	2 фл по 1,8 мл	5 фл по 1,8 мл
Положительная контрольная проба (ПКП)	Жидкость красного цвета	1 фл – 2,3 мл	1 фл – 2,3 мл	2 фл по 2,3 мл
Аналитический водно-солевой раствор (Буфер А)	Жидкость зеленого цвета	1 фл – 15 мл	2 фл по 15 мл	5 фл по 15 мл
Конъюгат Е	Жидкость темно-розового цвета	1 фл – 14 мл	2 фл по 14 мл	5 фл по 14 мл
Концентрированный водно-солевой раствор для промывки лунок (Буфер Н (20Х))	Бесцветная жидкость	1 фл – 50 мл	2 фл по 50 мл	3 фл по 100 мл
Раствор ТМБ	Бесцветная или бледно-желтого цвета, или светло-бурого цвета жидкость	1 фл – 14 мл	2 фл по 14 мл	1 фл – 100 мл
Стоп-реагент	Бесцветная жидкость	1 фл – 50 мл	2 фл по 50 мл	3 фл по 100 мл
Одноразовая ванночка	-	2 шт	2 шт	4 шт
Одноразовый наконечник	-	16 шт	16 шт	32 шт
Пленка для ИФА планшетов	-	2 шт	4 шт	10 шт
Пакет закрывающийся полиэтиленовый	-	1 шт	2 шт	5 шт

В комплект поставки входят: набор реагентов, инструкция по применению, паспорт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Аналитическая чувствительность.

Аналитическая чувствительность определяется относительно внутреннего контрольного образца (ВКО), который аттестован в зарегистрированной в РФ референсной тест-системе. Набор «SARS-CoV-2ИФА-IgG» определяет ВКО как положительный образец.

3.2. Аналитическая специфичность набора «SARS-CoV-2ИФА-IgG» определяется как способность теста обнаруживать только специфические IgG к коронавирусу SARS-CoV-2 в присутствии интерферирующих факторов в исследуемом материале.

Наличие антикоагулянтов (цитрат натрия 3,2%, литиевая соль гепарина, натриевая соль гепарина, K_2 ЭДТА, K_3 ЭДТА) в пробах не оказывает негативного воздействия на результаты анализа с помощью набора «SARS-CoV-2ИФА-IgG».

Повышение концентрации гемоглобина до 1000 мг/дл, билирубина до 60 мг/дл или триглицеридов до 50 мг/дл в пробах не оказывает негативного воздействия на результаты анализа с помощью набора «SARS-CoV-2ИФА-IgG», но не следует использовать гемолизированные или мутные образцы.

Аналитическая специфичность по Панелям предприятия для определения аналитической специфичности, аттестованных по СОП, составляет 100%.

Наличие перекрёстных реакций в образцах, полученных от пациентов с подтверждённым гепатитом В, гепатитом С, от ВИЧ-инфицированных, от пациентов с метапневмовирусом и респираторно-синцитиальным вирусом, вирусом Эпштейна-

arr, от пациентов с гриппом и парагриппом, аденовирусной инфекцией, риновирусной инфекцией, энтеровирусной инфекцией, с бактериальной пневмонией (вызванной *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*) и с туберкулезом, не выявлено.

3.3. Диагностическая чувствительность набора «SARS-CoV-2ИФА-IgG» определена на выборке из 250 положительных образцов сыворотки и плазмы крови, полученных от пациентов, с выявленным заболеванием, а также от пациентов с COVID-19 в анамнезе и пациентов, привитых вакциной.

Диагностическая чувствительность набора «SARS-CoV-2ИФА-IgG» на данной выборке образцов составила 100%, доверительный интервал с 95% доверительной вероятностью составил 98,8-100%.

Статистическая достоверность диагностической чувствительности для каждого вида биологического материала составила:

Клинический материал	Диагностическая чувствительность (с доверительной вероятностью 95%)
Сыворотка крови человека	97,1-100%
Плазма крови человека (К2ЭДТА, К3ЭДТА, цитрат натрия 3,2%, литиевая соль гепарина, натриевая соль гепарина)	98,0-100%

Чувствительность по Стандартной панели предприятия SARS-CoV-2 (СПП SARS-CoV-2) из образцов, содержащих антитела к SARS-CoV-2 (фирма ООО «Компания Алкор Био», Россия), составляет 100%.

3.4. Диагностическая специфичность набора «SARS-CoV-2ИФА-IgG» определена на 350 образцах сыворотки и плазмы крови, полученных от пациентов, без истории COVID-19 в

анамнезе (отрицательные по ПЦР анализу на SARS-CoV-2), в том числе, полученных от пациентов с различными ОРВИ в анамнезе.

Диагностическая специфичность набора «SARS-CoV-2ИФА-IgG» на данной выборке образцов составила 100%, доверительный интервал с 95% доверительной вероятностью составил 99,1-100%.

Статистическая достоверность диагностической специфичности для каждого вида биологического материала составила:

Клинический материал	Диагностическая специфичность (с доверительной вероятностью 95%)
Сыворотка крови человека	98,2-100%
Плазма крови человека (К2ЭДТА, К3ЭДТА, цитрат натрия 3,2%, литиевая соль гепарина, натриевая соль гепарина.	98,3-100%

Специфичность по Стандартной панели предприятия SARS-CoV-2 (СПП SARS-CoV-2) из образцов, не содержащих антитела к SARS-CoV-2 (фирма ООО «Компания Алкор Био», Россия), составляет 100%.

3.5. Коэффициент вариации оптической плотности² в одном и том же образце при определении антител IgG к короновирусу с использованием набора «SARS-CoV-2ИФА-IgG» не превышает 8%. Внутрисерийная воспроизводимость не превышает 8%.

3.6. Ограничение теста

Пробы пациентов, принимавших накануне сдачи крови алкоголь, соленую, жирную и острую пищу, для анализа с

² При измерении на одном и том же оборудовании, либо оборудовании со схожими техническими характеристиками.

помощью набора «SARS-CoV-2ИФА-IgG» использовать не рекомендуется.

Результаты тестирования с помощью набора «SARS-CoV-2ИФА-IgG» не должны использоваться в качестве единственного основания для диагностики/исключения инфекции COVID-19 или для информирования о статусе инфекции, необходимо учитывать клинические симптомы и результаты других тестов.

Положительный результат тестирования с помощью набора «SARS-CoV-2ИФА-IgG» может быть связан с прошлой или настоящей инфекцией, вызванной другими штаммами коронавируса, такими как коронавирус HKU1, NL63, OC43 или 229E.

Отрицательный результат тестирования с помощью набора «SARS-CoV-2ИФА-IgG» не исключает заражение SARS-CoV-2, особенно у лиц, бывших в контакте с вирусом.

На начальной стадии развития инфекции, вызванной коронавирусом SARS-CoV-2 (от момента заражения до проявления первых симптомов COVID-19), возможно получение ложноотрицательного результата с помощью набора «SARS-CoV-2ИФА-IgG», так как титр определяемых антител IgG в анализируемых образцах может быть ниже определяемого уровня. По этой причине рекомендуется провести тест повторно через 14 дней.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора — класс 2Б (согласно Приказу Министерства здравоохранения РФ №4н от 06.06.2012 г.).

4.2. Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

4.3. При работе с набором следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности» и СП 1.3.2333-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III – IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

4.4. Набор предназначен для профессионального применения персоналом, имеющим квалификацию для выполнения диагностических исследований *in vitro* после специального образования и обучения. Исследования могут выполнять специалисты не моложе 18 лет с высшим и средним медицинским, биологическим или иным образованием (врач КДЛ, биолог, медицинский технолог).

4.5. Перед началом работы ознакомиться с инструкцией и применять набор строго по назначению.

4.6. В состав компонентов набора входят соляная кислота в концентрации 3,59%, а также катон в концентрации 0,01%. При попадании компонентов с ними на кожу: смыть большим количеством воды с использованием мыла. При попадании в глаза - промыть глаза водой. При попадании в желудок - прополоскать рот водой. Получить консультацию у врача.

4.7. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, разрешенные к применению на территории РФ, т.к. производные крови, входящие в состав набора, и исследуемые образцы являются потенциально инфицированным материалом, способным

ительное время сохранять и передавать возбудителей различных вирусных инфекций.

4.8. Химическая посуда и оборудование, которые используются в работе с набором, должны быть соответствующим образом маркированы и храниться отдельно. Поскольку ИФА чувствителен к ионам металлов, контакт металлических предметов с компонентами набора недопустим.

4.9. Для обработки посуды и оборудования рекомендуется использовать дезинфицирующие средства, изготовленные на основе третичных аминов, четвертичных аммониевых соединений (ЧАС) или спиртов и разрешенные к применению на территории РФ. Использование дезинфицирующих средств на основе активного кислорода и хлора возможно лишь на предстерилизационном этапе, с последующей термической стерилизацией.

4.10. Запрещается прием пищи, использование косметических средств и курение в помещениях, предназначенных для работы с наборами.

4.11. Убирать и дезинфицировать разлитые образцы или реактивы, используя дезинфицирующие средства в соответствии с МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

4.12. Удалять неиспользованные реактивы в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению населения, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и

проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».

4.13. Все использованные одноразовые материалы и остатки образцов должны быть подвергнуты обработке дезинфицирующими средствами с последующей утилизацией в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

4.14. После использования стрипы, контрольные пробы, образцы и все расходные материалы, которые контактировали с образцами во время обработки, хранения или анализа (флаконы, перчатки, наконечники и т.д.) должны собираться отдельно и стерилизоваться в автоклаве с последующей утилизацией в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21. Вместо автоклавирования наконечники могут быть стерилизованы дезинфицирующим средством, после утилизированы в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21.

4.15. Во время процедуры ручной промывки планшета содержимое лунок необходимо выбрасывать в контейнер с дезинфицирующим раствором на основе третичных аминов, ЧАС или спиртов.

4.16. Не использовать набор по истечении срока годности.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность раствора в лунках при длинах волн 450 нм и 600-655 нм³;

³Допускается использование автоматических анализаторов для ИФА открытого типа с аналогичными характеристиками, за информацией о необходимой комплектации набора и программе проведения анализа обращайтесь к производителю набора «SARS-CoV-2ИФА-IgG» в ООО «Компания Алкор Био», тел/факс: (812) 677-8779.

- термостат, поддерживающий температуру $+37^{\circ}\text{C}$ ³;
- автоматическое промывочное устройство (вошер) для иммунологических планшетов^{3,4};
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными одноразовыми наконечниками⁵ с изменяемым объемом отбора жидкостей: на 5–50 мкл; на 20–200 мкл; на 100–1000 мкл; на 1000–5000 мкл;
- пипетка полуавтоматическая восьмиканальная со сменными одноразовыми наконечниками⁵, позволяющая отбирать объемы жидкости до 300 мкл;
- цилиндр мерный, позволяющий отмерять 100-1000 мл;
- стакан стеклянный подходящего объема;
- вода дистиллированная или очищенная деионизованная⁶;
- бумага фильтровальная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- дезинфицирующий раствор на основе третичных аминов, ЧАС или спиртов;
- контейнер для дезинфекции;
- ванночки для внесения реагентов восьмиканальной пипеткой.

Дополнительно для проведения анализа на анализаторе «Alisei»:

- автоматический иммуноферментный анализатор «Alisei»³;
- многоцелевые полипропиленовые пробирки⁷ 12x75 вместимостью 5 мл;
- концентрированный водный раствор Триала, 5000-кратный концентрат, маркирован «Триал»⁷.

⁴При использовании автоматического промывочного устройства необходимо тщательно следить за его состоянием, периодически проверять емкости и соединительные шланги для промывочных буферов на наличие микробиологического зароста и других загрязнений, проводить техническое обслуживание в соответствии с рекомендациями производителя оборудования.

⁵Повторное использование наконечников не допускается. При внесении каждого образца необходимо использовать новый наконечник.

⁶В соответствии с ГОСТ 6709-72 «Вода дистиллированная. Технические условия» необходимо периодически контролировать качество воды, используемой для приготовления растворов.

⁷Компоненты, не входящие в состав набора, поставляются по отдельному заказу.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Эквивалентность образцов сыворотки и плазмы крови человека, содержащих антикоагулянты (цитрат натрия 3,2%, литиевая соль гепарина, натриевая соль гепарина, K_2 ЭДТА, K_3 ЭДТА), подтверждена не менее чем на 25 положительных и 25 отрицательных образцах каждого вида биоматериала в анализе с помощью набора «SARS-CoV-2ИФА-IgG».

6.2. Забор крови из вены осуществляют с соблюдением правил асептики. После формирования сгустка сыворотку отделяют путем центрифугирования. Забор крови для получения плазмы осуществляют в пробирку, содержащую антикоагулянт (цитрат натрия 3,2%, литиевая соль гепарина, натриевая соль гепарина, K_2 ЭДТА, K_3 ЭДТА). После центрифугирования сыворотку или плазму переносят в отдельную пробирку.

6.3. Для проведения анализа не следует использовать гемолизированную или мутную сыворотку и плазму, а также образцы сыворотки, содержащие азид натрия.

6.4. Образцы сыворотки и плазмы крови разрешается хранить при температуре $+2...8^{\circ}\text{C}$ не более 5-ти суток; при необходимости более длительного хранения рекомендуется аликвотировать образец и хранить в замороженном виде при температуре -20°C и ниже. Не допускается повторное замораживание образца.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Подготовка реагентов

7.1.1. Стрипы. Перед вскрытием пакет со стрипами необходимо выдержать при комнатной температуре ($+18...25^{\circ}\text{C}$) (далее КТ) не менее 30 минут. Вскрыть пакет и переставить на свободную рамку необходимое количество стрипов.

7.1.2. Контрольные пробы готовы к использованию.

7.1.3. Буфер А готов к использованию.

7.1.4. Конъюгат Е готов к использованию.

7.1.5. Промывочный раствор. Необходимое количество буфера Н (20Х) развести дистиллированной или очищенной деионизованной водой в 20 раз.

Например: 50 мл буфера Н (20Х) + 950 мл воды. Тщательно перемешать, избегая пенообразования.

7.1.6. Раствор тетраметилбензидина (ТМБ) готов к использованию.

7.1.7. Стоп-реагент готов к использованию.

7.1.8. Рабочий раствор Триала. Необходимое количество концентрированного раствора Триала развести дистиллированной или очищенной деионизованной водой в 5000 раз.

Например: 1 мл Триала + 4999 мл воды. Тщательно перемешать, избегая пенообразования.

7.1.9. Все реагенты перед проведением анализа должны быть тщательно перемешаны и доведены до КТ.

7.2. Постановка анализа

7.2.1. Ручная постановка

На странице 28 приведена схема проведения анализа.

7.2.1.1. Составить протокол маркировки лунок.

Лунки промаркировать следующим образом:

A1, B1 – № 1 - для измерения величины ОП ОКП;

C1 – № 2 - для измерения величины ОП ПКП.

Примечание: Рекомендовано проведение анализа в дубликатах, это позволяет уменьшить вероятность ошибок и получить достоверные результаты. Допускается использование набора для анализа образцов в монопликатах при условии своевременной поверки и обслуживания

измерительного и промывочного оборудования, что позволяет в случае неисправности свести к минимуму их негативное влияние на результат анализа.

7.2.1.2. Внести в лунки для измерения величины ОП ОКП по 100 мкл отрицательной контрольной пробы, в лунку для измерения величины ОП ПКП – 100 мкл положительной контрольной пробы.

7.2.1.3. В остальные лунки внести по 90 мкл аналитического буфера и по 10 мкл исследуемых образцов, осторожно перемешивая содержимое лунок с помощью пипетирования. Цвет раствора при этом изменится со светло-зеленого на голубой.

Примечание: общее время внесения контрольных проб и исследуемых образцов не должно превышать 15 минут, иначе время инкубации различных образцов будет значительно различаться, что приведет к неправильным результатам.

7.2.1.4. Инкубировать стрипы 30 минут при температуре +37°C (предварительно встряхнуть рамку аккуратным простукиванием в течение 20-30 сек или на шейкере в течение 5-10 сек при комнатной температуре).

7.2.1.5. По окончании первой инкубации удалить содержимое лунок в контейнер с дезинфицирующим раствором на основе третичных аминов, ЧАС или спиртов и промыть лунки 4 раза. При каждой промывке во все лунки добавлять по 300 мкл промывочного раствора, приготовленного по п.7.1.5., и выдержать в течение 30 сек с последующим декантированием. После последнего декантирования тщательно удалить остатки жидкости из лунок постукиванием рамки со стрипами в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.

Допускается промывка лунок при помощи автоматического промывочного устройства. При автоматической промывке

необходимо заполнять лунки полностью и следить за качеством аспирации.

7.2.1.6. Внести во все лунки по 100 мкл Конъюгата Е.

7.2.1.7. Инкубировать стрипы 30 минут при температуре +37°C.

7.2.1.8. По окончании второй инкубации удалить содержимое лунок декантированием и промыть лунки согласно п.7.2.1.4.

7.2.1.9. Немедленно внести во все лунки по 100 мкл раствора ТМБ и инкубировать стрипы в темноте в течение 20 минут без шейкирования при КТ.

7.2.1.10. Добавить во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор ТМБ, по 100 мкл стоп-реагента для остановки ферментной реакции, встряхнуть рамку аккуратным постукиванием в течение 20-30 секунд или на шейкере в течение 5-10 секунд при комнатной температуре.

7.2.1.11. Если невозможно измерить оптическую плотность в лунках планшета непосредственно после выполнения п.7.2.1.8., то следует иметь в виду, что окраска в лунках планшета стабильна не более 20 минут при КТ.

7.2.2. Постановка на анализаторе «Alisei»

7.2.2.1. Анализатор «Alisei» имеет полностью автоматизированный процесс проведения анализа: внесение реагентов, инкубирование, промывка, измерение оптической плотности, обработка результатов. Программа «SARS-CoV-2 ИФА-IgG» введена в память анализатора.

7.2.2.2. При каждой постановке анализа на каждом планшете обязательно нужно определять: ОП ОКП и ОП ПКП.

7.2.2.3. В случае дробного применения набора необходимо извлечь контрольные пробы из автоматического анализатора после их внесения в лунки всех планшетов, участвующих в постановке, и, плотно закрыв крышками, убрать в холодильник.

не допускается повторное использование контрольных проб, находившихся на борту анализатора в течение всей сессии, вне зависимости от ее длительности. Остальные жидкие реагенты убрать в холодильник сразу по окончании сессии. Эти ограничения обусловлены естественным испарением жидкостей, приводящим к получению некорректных результатов измерения при последующем использовании реагентов.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

8.1. После выполнения ручной постановки измерить на фотометре вертикального сканирования оптическую плотность в лунках при длине волны 450 нм, рекомендуется использование референсного фильтра 600-655 нм.

При регистрации результатов **необходимо вычитать ОП**, полученную на референсном фильтре, из ОП, полученной при 450 нм, для каждой лунки.

8.2. Критерии достоверности анализа

Результаты анализа считают достоверными при соблюдении следующих условий:

- значение ОП в лунках, содержащих **ОКП**, должно быть **не более 0,2 ед.ОП**;
- значение ОП в лунке, содержащей **ПКП**, должно быть **не менее 1,0 ед.ОП**.

В случае, если полученные данные выходят за пределы указанных значений, результаты анализа считают недостоверными и анализ повторяют.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ (только для ручной постановки)

9.1. Определить значение ОПкрит., для чего к среднему значению ОП ОКП⁸ прибавить Ккрит.

Ккрит. – коэффициент, определяемый на предприятии-изготовителе и указанный в паспорте.

$$\text{ОПкрит.} = \text{ОПокп} + \text{Ккрит.}$$

9.2. Сравнить значение ОП каждого исследуемого образца со значением ОПкрит, вычислить индекс позитивности по формуле:

$$\text{ИП} = \text{ОПобр} / \text{ОПкрит},$$

где ОПобр – оптическая плотность образца;
ОПкрит – критическая оптическая плотность.

10. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Если значение ИП образца меньше 0,9 ($\text{ИП} < 0,9$), то считают, что исследуемый образец не содержит антител IgG к коронавирусу SARS-CoV-2.

Если значение ИП образца больше или равно 1,1 ($\text{ИП} \geq 1,1$), то считают, что исследуемый образец содержит антитела IgG к коронавирусу SARS-CoV-2.

Если значение ИП образца находится в диапазоне от 0,9 до 1,1 ($0,9 \leq \text{ИП} < 1,1$), то считают, что результат сомнительный («серая зона»). Такие образцы необходимо исследовать повторно в дубликатах. Если полученный результат также сомнительный, желательно провести дополнительный забор крови у этого пациента через 5 – 10 дней и повторить анализ, используя «парные» образцы (предыдущий и повторно забранный).

⁸ Для расчета среднего значения ОП ОКП использовать только те значения, которые удовлетворяют критерию достоверности. В случае если оба значения ОП не удовлетворяют критерию, анализ следует повторить.

10.1. Определение титра⁹ антител в положительном образце

Для положительных образцов следует определить соответствие между полученным значением ИП и титром антител по Таблице 2.

Таблица 2

Значение ИП образца без разведения	Титр антител в образце	Значение ИП образца, разведенного в 10 раз	Титр антител в образце, не более
1,1-2,5	от 1:10 до 1:20	1,0-1,9	1:100
2,6-5,0	от 1:20 до 1:40	2,0-3,0	1:200
5,1-6,5	от 1:40 до 1:80	3,1-4,0	1:400
6,6 и более	Развести образец в 10 раз*	4,1-6,5	1:800
		от 6,6-9,0	1:1600
		более 9,1	более 1:1600

Титр антител в образце	Результат ¹⁰
от 1:10 до 1:80	Низкое содержание антител IgG
от 1:80 до 1:160	Среднее содержание антител IgG
От 1:160	Высокое содержание антител IgG

**Разведение образца в 10 раз рекомендуется делать в отдельной пробирке (10 мкл образца + 90 мкл аналитического буфера), полученное разведение необходимо исследовать аналогично цельным образцам.*

Учитывая, что каждый иммуноферментный набор реагентов для диагностики коронавируса имеет свои особенности и титр антител в одном и том же образце может быть определен с различиями в наборах разных производителей, необходимо

⁹ Титр антител – это предельное разведение образца крови, при котором могут быть обнаружены антитела. Титр 1/10 показывает, что, при добавлении на 1 часть пробы 9 частей разбавителя, антитела уже не могут быть определены. Чем выше титр, тем больше антител в образце пациента.

¹⁰ Градация является условной и применима только для интерпретации результатов, полученных с применением данного набора реагентов.

следовать образцы крови каждого больного в динамике и проводить исследование в наборе одного производителя.

Исключения случайной ошибки добиваются перестановкой в дубликатах. Для прослеживания динамики заболевания образцы крови, полученные от одного пациента, например, с интервалом 2 – 3 недели, должны тестироваться одновременно (в одной постановке). Для получения корректных данных при сравнительной оценке рекомендуется аликвотировать образцы крови и хранить в соответствии с п.6.4. Перед проведением анализа аликвоту вынуть из морозильной камеры, дать нагреться до комнатной температуры, тщательно перемешать и отцентрифугировать.

В силу разнообразия используемого сырья, широкого спектра иммунологических реакций в образцах пациентов, тесты разных производителей могут давать различающиеся результаты для одних и тех же проб. Результаты, полученные в разное время, в разных лабораториях или при использовании тест-систем разных производителей, не могут сравниваться количественно, а только по диагнозу (т.е., как положительные или отрицательные).

11. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

11.1. Набор «SARS-CoV-2ИФА-IgG» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2...8°C в течение всего срока годности.

Срок годности набора — 12 месяцев¹¹.

11.2. Набор следует вынимать из холодильника не более чем за 1 час, но не менее, чем за 30 минут до проведения анализа.

¹¹ На основании данных по ускоренной оценке стабильности (ГОСТ Р ИСО 23640-2015) срок годности набора составляет 15 месяцев. (не подтверждено исследованиями в реальном времени).

11.3. В случае дробного использования компоненты набора необходимо хранить следующим образом:

- стрипы поместить в пакет с этикеткой, затем в пакет закрывающийся полиэтиленовый и герметично закрыть. Хранить в герметично закрытом пакете при температуре $+2...8^{\circ}\text{C}$ не более шести месяцев;
- контрольные пробы, буфер А, конъюгат Е, раствор ТМБ после вскрытия флаконов хранить при температуре $+2...8^{\circ}\text{C}$ не более шести месяцев;
- стоп-реагент, концентрированные водно-солевой раствор для промывки лунок и раствор Триала после вскрытия флаконов хранить при температуре $+2...8^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности;
- водно-солевой раствор для промывки лунок, подготовленный к использованию, хранить закрытым при КТ не более 5 суток или при температуре $+2...8^{\circ}\text{C}$ не более 4 недель;
- раствор Триала, подготовленный к использованию, хранить закрытым при КТ не более 5-ти суток.

11.4. При использовании набора для проведения нескольких независимых анализов необходимо иметь в виду следующее:

- набор рассчитан не более чем на 6 дробных постановок вручную или на 4 дробных постановки на автоматическом анализаторе;
- для каждого независимого анализа необходимо определение ОП ОКП и ОП ПКП;
- запрещается возвращать избыток конъюгата Е, буфера А, ТМБ и стоп-реагента из ванночек во флаконы;
- из флаконов с открытыми крышками происходит испарение, которое может привести к получению некорректных

результатов при повторном использовании реагентов. После окончания внесения реагентов в лунки планшета на каждой стадии анализа необходимо плотно закрывать крышки флаконов и помещать в рекомендуемые условия хранения;

- запрещается повторное использование контрольных проб, находившихся на борту анализатора в течение всей сессии, вне зависимости от ее длительности.

11.5. Не допускается смешивание или одновременное использование реагентов из разных партий, за исключением ТМБ, стоп-реагента и концентрированного промывочного раствора, входящих в состав наборов «SARS-CoV-2ИФА-IgG», «SARS-CoV-2ИФА-IgM», «SARS-CoV-2ИФА-суммарные антитела». Для данных тест-систем ТМБ, стоп-реагент и концентрированный промывочный раствор являются универсальными реагентами.

11.6. Запрещается смешивать растворы ТМБ с различными буквенными обозначениями в сериях.

11.7. Запрещается использовать промывочный раствор, стоп-реагент и ТМБ из наборов реагентов других фирм-производителей.

11.8. Запрещается использовать промывочные растворы производства Алкор Био с буквенными обозначениями, отличными от указанного в инструкции к набору.

11.9. К работе с набором допускается только специально обученный персонал.

11.10. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции.

11.11. Таблица расхода реагентов (при постановке ИФА вручную):

Количество используемых стрипов	Буфер А, мл	Конъюгат Е мл	Промывочный раствор		Раст-вор ТМБ, мл	Стоп-реагент, мл
			Буфер Н (20Х), мл	Дистиллированная или очищенная деионизованная вода, мл		
1	1,1	1,5	4	до 80	1,5	1,5
2	2,2	2,3	8	до 160	2,3	2,3
3	3,3	3,5	12	до 240	3,5	3,5
4	4,3	4,7	16	до 320	4,7	4,7
5	5,4	5,8	20	до 400	5,8	5,8
6	6,5	7,0	24	до 480	7,0	7,0
7	7,6	8,2	28	до 560	8,2	8,2
8	8,7	9,3	32	до 640	9,3	9,3
9	9,7	10,5	36	до 720	10,5	10,5
10	10,0	11,7	40	до 800	11,7	11,7
11	11,9	12,8	44	до 880	12,8	12,8
12	13,0	14,0	50	до 1000	14,0	14,0

12. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

12.1. Транспортирование наборов должно производиться всеми видами крытого транспорта при температуре +2...8°C.

Транспортирование изделий при температуре +2...8°C должно производиться в ёмкостях или при помощи холодильных установок, обеспечивающих регламентированный температурный режим.

Допускается транспортирование набора при температуре до +25°C не более 15 суток, в том числе при температуре +37°C не более 1 суток.

12.2. Набор, транспортированный с нарушением температурного режима, применению не подлежит.

13. БЕЗОПАСНАЯ УТИЛИЗАЦИЯ

13.1. При утилизации наборы с истекшим сроком годности должны быть подвергнуты обработке дезинфицирующими средствами в соответствии с требованиями МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

13.2. При использовании набора образуются отходы классов А, В и Г, которые утилизируются в соответствии с СанПин 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

14. ИНФОРМАЦИЯ О ПРОИЗВОДИТЕЛЕ

По вопросам качества набора «SARS-CoV-2ИФА-IgG» обращаться в ООО «Компания Алкор Био» по адресу: 192148, г. Санкт-Петербург, Железнодорожный проспект, д. 40 лит. А, тел/факс: 8(812) 677-8779.

Бесплатный телефон по России: 8-800-234-37-79.

15. СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ НА ЭТИКЕТКАХ

	Только для <i>in vitro</i> диагностики		Количество тестов
	Номер по каталогу		Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению
	Номер серии		Срок годности
	Производитель		Хранить при
	Дата изготовления		Биологический риск
	Ознакомьтесь с инструкцией		Беречь от влаги

Инструкция разработана в соответствии с ТУ 21.20.23-545-98539446-2020.

Примечания к Схеме проведения анализа (стр. 28):

КП – контрольные пробы;

ОП – оптическая плотность;

КТ – комнатная температура (+18...25°C);

ПО - программное обеспечение.

СХЕМА ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА (только для ручной постановки)

№	Стадия (операция)	Реагенты	Температура	Время	Примечания	
1	Внесение реагентов	100 мкл контрольных проб	КТ (+18...+25°C)	Внесение КП и исследуемых образцов не более 15'	Буфер А вносится только в лунки для исследуемых образцов Перемешивать содержимое лунок с помощью пипетирования	
2		90 мкл Буфер А				
3		10 мкл исследуемых образцов				
4	Инкубация №1	—	+37°C	30'	Термостат	
5	Промывка	300 мкл в лунку 1*буфера Н (4 раза) с задержкой между циклами 30 с			1*промывочный раствор = = 50 мл буфера Н (20X) + 950 мл Н ₂ О	
6	Внесение конъюгата	100 мкл Конъюгата Е			Во все лунки	
7	Инкубация №2	—	+37°C	30'	Термостат	
8	Промывка	300 мкл в лунку 1*буфера Н (4 раза) с задержкой между циклами 30 с			1*промывочный раствор = = 50 мл буфера Н (20X) + 950 мл Н ₂ О	
9	Внесение хромогена	100 мкл ТМБ			Во все лунки	
10	Инкубация с ТМБ	—	КТ	20'	Инкубация в темноте	
11	Остановка ферментной реакции	100 мкл стоп-реактанта			Во все лунки	
12	Перемешивание		КТ	20 – 30"	по выбору	Постукивание рамки
				5 – 10"		Шейкер
13	Регистрация результатов			В течение 20' после остановки ферментной реакции	Фотометр, 450 и 600-655 нм	
14	Обработка				Калькулятор, соответствующее ПО	

IS-COV-2IFA-IgG

В-2.2020-10

Прошито, пронумеровано, скреплено
печатью 23 (двадцать три)
лист 67

Генеральный директор
ООО «Компания Алкор Био»

Д.Г. Полынцев

