

«УТВЕРЖДАЮ»

**Директор ФБУН
НИИ эпидемиологии и
микробиологии имени Пастера**

А.А. Тотолян

2021 г.



ИНСТРУКЦИЯ

**по применению Набора реагентов для иммуноферментного количественного
определения антител человека класса IgG к N-белку SARS-CoV-2 (N-CoV-2-IgG PS),
серия 001**

ОГЛАВЛЕНИЕ

	Стр.
1. Назначение	3
2. Риски применения.....	4
3. Характеристика медицинского изделия.....	5
4. Меры предосторожности.....	9
5. Требуемое дополнительное оборудование и материалы.....	10
6. Анализируемые образцы.....	11
7. Проведение исследования.....	12
8. Учет и интерпретация результатов.....	15
9. Особые указания.....	17
10. Утилизация.....	17
11. Условия транспортирования, хранения и эксплуатации.....	18

Настоящая инструкция содержит информацию, необходимую для правильного и безопасного применения медицинского изделия (МИ) для *in vitro* диагностики Набор реагентов для иммуноферментного количественного определения антител человека класса IgG к N-белку SARS-CoV-2 (N-CoV-2-IgG PS), серия 001, разработанного и произведенного Федеральным бюджетным учреждением науки Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации (ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера).

1. Назначение

1.1 Набор реагентов для иммуноферментного количественного определения антител человека класса IgG к N-белку SARS-CoV-2 (N-CoV-2-IgG PS), серия 001 предназначен для количественного определения антител IgG-класса в сыворотке или плазме крови человека к N-белку коронавируса SARS-CoV-2 методом иммуноферментного анализа.

По своему функциональному назначению МИ является диагностическим средством, служащим для выявления сероконверсии у лиц, инфицированных коронавирусом SARS-CoV-2, с клиническими признаками COVID-19, переболевших или контактировавших с SARS-CoV-2 в прошлом при отсутствии клинической симптоматики.

1.2 Тип анализируемого образца

В качестве анализируемого образца используется плазма или сыворотка периферической крови человека.

1.3 Потенциальные потребители

Потенциальными потребителями МИ являются специалисты учреждений Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (центры гигиены и эпидемиологии в субъектах Российской Федерации, противочумные учреждения, научные организации, санитарно-эпидемиологические службы министерств и ведомств), а также специалисты медицинских учреждений, имеющие специальность врача клинической лабораторной диагностики или биолога согласно требованиям Приказа Минздравсоцразвития №541н от 23.07.2010 г. и Приказа Минздрава №707н от 8.10.2015 г.

Согласно методическим рекомендациям МР 3.1.0169-20 «Лабораторная диагностика COVID-19» организация лабораторной диагностики COVID-19

осуществляется в соответствии с требованиями санитарного законодательства по работе с микроорганизмами II группы патогенности. Лаборатории, имеющие санитарно-эпидемиологическое заключение о возможности проведения работ с возбудителями инфекционных заболеваний человека III-IV групп патогенности и условия для работы (методом ПЦР или другими методами), могут организовывать работу по диагностике COVID-19 без выделения возбудителя, пользуясь зарегистрированными в установленном порядке на территории Российской Федерации тест-системами, в соответствии с инструкцией по применению.

К работе с тест-системами для диагностики COVID-19 в лабораториях допускаются специалисты, давшие письменное согласие и прошедшие инструктаж, проведенный сотрудниками Роспотребнадзора, на работу с возбудителями инфекционных заболеваний человека II группы патогенности.

1.4 Целевой анализ

Целевым анализом являются антитела человека класса IgG к N-белку коронавируса SARS-CoV-2.

1.5 Специфическая патология

Для коронавирусной инфекции, вызванной SARS-CoV-2, характерно наличие клинических симптомов острой респираторной вирусной инфекции, в том числе повышение температуры тела, кашель (сухой или с небольшим количеством мокроты), одышка, миалгии и утомляемость, ощущение заложенности в грудной клетке. Также среди первых симптомов в отдельных случаях отмечаются головные боли, кровохарканье, диарея, тошнота, рвота, сердцебиение. Инфекция, вызванная коронавирусом SARS-CoV-2, может проявляться в виде острого респираторного заболевания легкого течения, пневмонии, как без дыхательной недостаточности, так и с развитием острой дыхательной недостаточности, острого респираторного дистресс-синдрома, сепсиса и септического (инфекционно-токсического) шока. У пожилых людей, а также лиц с имеющимися соматическими заболеваниями, например, артериальной гипертензией, заболеваниями сердца или диабетом, вероятность тяжелого течения заболевания выше.

2. Риски применения

Все компоненты МИ в используемых концентрациях являются нетоксичными, поэтому по целевому назначению МИ безопасно и не обладает токсичностью.

2.1 Потенциальный риск применения

По степени потенциального риска применения МИ N-CoV-2-IgG PS относится к классу 2б.

2.2 Прямой риск применения

В состав калибратора (Калибратор), отрицательного (К-) и положительного (К+) контролей входят образцы сыворотки/плазмы человека, которые не представляют биологической опасности, поскольку в ходе производства Набора реагентов протестированы на отсутствие антител к ВИЧ 1, 2, вирусу гепатита С, а также к HBsAg. Однако исследуемые образцы сыворотки/плазмы, а также используемые растворы, оборудование и материалы, находящиеся с ними в контакте, представляют собой потенциально инфекционный материал, обращаться с которым следует, соблюдая технику безопасности согласно ГОСТ Р 52905-2007.

2.3 Косвенный риск применения

Косвенный риск применения N-CoV-2-IgG PS связан с вероятностью получения как ложноотрицательных, так и ложноположительных результатов, что может привести к ошибочному медицинскому решению и отрицательно повлиять на тактику терапевтических и противоэпидемических мероприятий.

Причинами ложноотрицательных результатов могут быть:

- 1) порча отдельных компонентов МИ в результате несоблюдения условий его транспортировки и хранения до использования;
- 2) превышение гарантийных сроков хранения, указанных на этикетках;
- 3) несоблюдение требований инструкции по применению в ходе обработки образцов.

Причиной ложноположительных результатов может быть наличие в исследуемых образцах перекрестно реагирующих IgG-антител к N-белку других штаммов рода бета-коронавирусов (HKU1, NL63, OC43, 229E) при отсутствии антител к N-белку SARS-CoV-2.

3. Характеристика медицинского изделия

3.1 Принцип количественного метода исследования

В основе метода иммуноферментного анализа лежит взаимодействие антител из исследуемого образца с антигеном, сорбированным в лунках полистиролового планшета, и последующим образованием иммунного комплекса с пероксидазным конъюгатом на основе моноклональных антител к тяжелой цепи иммуноглобулинов человека IgG-класса. Визуализацию иммунного комплекса производят после добавления субстрата для пероксидазы хрена - 3,3',5,5'-тетраметилбензидина гидрохлорида (ТМБ), который под

действием атомарного кислорода, образующегося из перекиси водорода, окисляется до продукта, окрашенного в синий цвет, интенсивность которого пропорциональна концентрациям IgG-антител в исследуемых образцах. Добавление серной кислоты (стоп-реагента) изменяет цвет раствора на желтый, с максимумом оптического поглощения при 450 нм. Значение оптической плотности измеряется с помощью планшетного спектрофотометра для иммуноферментного анализа.

Количественное содержание антител в образце рассчитывают по калибровочной кривой, полученной при анализе семи разведений калибратора, представляющего собой пул образцов сыворотки крови доноров, содержащий IgG-антитела к N-белку коронавируса SARS-CoV-2, в концентрации, выраженной в условных единицах в мл буферного раствора (у.е.).

Сорбированный в лунках планшета коронавирусный антиген, в качестве которого использован рекомбинантный N-белок нуклеокапсида коронавируса SARS-CoV-2, обеспечивает аналитическую специфичность тест-системы.

Область применения – для диагностики *in vitro*.

3.2 Состав медицинского изделия

Набор реагентов N-CoV-2-IgG PS выпускается в одном варианте комплектации и одном варианте исполнения, который рассчитан на проведение 96 исследований, включая образцы калибратора и контроля (табл. 1).

Таблица 1

Состав Набора реагентов N-CoV-2-IgG PS и описание компонентов

Наименование реагента	Описание	Объем	Количество
Планшет Антиген N-белок	96-луночный полистироловый разборный планшет с сорбированным N-белком SARS-CoV-2	-	1 шт.
Калибратор	Прозрачная жидкость. Используется для постановки не более 3-х калибровочных кривых	0,4 мл	1 пр.
К –	Прозрачная жидкость зеленого цвета	0,5 мл	1 пр.
К +	Прозрачная жидкость красного цвета	0,5 мл	1 пр.
Конъюгат	Прозрачная жидкость синего цвета	0,4 мл	1 пр.
ФСР-Т	Прозрачная бесцветная жидкость. Промывочный раствор	20,0 мл	2 фл.
РИП	Прозрачная жидкость сине-фиолетового цвета	15,0 мл	2 фл.
ХСР	Прозрачная жидкость слегка	13,0 мл	1 фл.

	голубоватого цвета		
Стоп-реагент	Прозрачная бесцветная жидкость	6,0 мл	1 фл.
Защитная пленка	Полиэтиленовая пленка с клейкой поверхностью для заклеивания планшета с антигеном	-	2 шт.
Планшет для разведения	Планшет 96-луночный с плоским дном для предварительного разведения калибратора и образцов	-	1 шт.
Инструкция по применению		-	1 шт.
Паспорт качества		-	1 шт.

Планшет Антиген N-белок представляет собой 96-луночный полистироловый планшет для иммуноферментного анализа, разборный, с прозрачными лунками, в которых иммобилизован N-белок коронавируса SARS-CoV-2. Планшет упакован в фольгированный пакет.

Калибратор представляет собой пул образцов сыворотки крови доноров, переболевших коронавирусным заболеванием COVID-19, содержащий IgG-антитела к N-белку коронавируса SARS-CoV-2, в буферном растворе с консервантом объемом 0,4 мл в пробирке с завинчивающейся крышкой. Объем калибратора рассчитан на постановку не более 3-х калибровочных кривых. Концентрация антител в Калибраторе составляет 120 ± 6 у.е./мл

К- (отрицательный контроль) представляет собой пул образцов сыворотки крови, полученных от здоровых доноров в 2018 году (до пандемии коронавирусной инфекции COVID-19), не содержащих IgG-антител к N-белку коронавируса SARS-CoV-2, в буферном растворе с консервантом объемом 0,5 мл в пробирке с завинчивающейся крышкой. К- используется для построения калибровочной кривой в качестве нулевого образца.

К+ (положительный контроль) представляет собой пул образцов сыворотки крови доноров, переболевших коронавирусным заболеванием COVID-19, содержащий IgG-антитела к N-белку коронавируса SARS-CoV-2, в буферном растворе с консервантом объемом 0,5 мл в пробирке с завинчивающейся крышкой. Концентрация IgG-антител в положительном контроле составляет 1,2 – 3,0 у.е./мл

Конъюгат представляет собой 50-кратный концентрат мышинных моноклональных антител к тяжелой цепи IgG человека, меченных пероксидазой хрена, объемом 0,4 мл, содержащийся в пробирке с завинчивающейся крышкой.

ФСР-Т представляет собой 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора объемом 20 мл во флаконе с завинчивающейся крышкой.

РИП представляет собой раствор для разведения исследуемых проб объемом 15 мл во флаконе с завинчивающейся крышкой.

ХСР представляет собой хромоген-субстратный раствор ТМБ, содержащий перекись водорода, объемом 13 мл, во флаконе с завинчивающейся крышкой.

Стоп-реагент представляет собой 1 N раствор серной кислоты объемом 6 мл во флаконе с завинчивающейся крышкой.

Защитная пленка представляет собой полиэтиленовую пленку с клейкой поверхностью для заклеивания планшета с антигеном.

Планшет для разведения представляет собой 96-луночный планшет с плоским дном для предварительного разведения калибратора и образцов.

3.3 Функциональные характеристики

3.3.1 Достоверность (правильность) измерений

Набор реагентов должен давать положительную реакцию с контролем К+ (ОП $\geq$ 0,25 о.е.) и не должен реагировать с К- (ОП $\leq$ 0,10 о.е.) при длине волны 450 нм с поправкой на референсную длину волны 650 нм. Правильность измерений подтверждается путем определения концентрации антител класса IgG к N-белку SARS-CoV-2 в К+, которая должна находиться в интервале 1,2-3,0 у.е./мл ($n=10$) при коэффициенте вариации (CV), не превышающем 5,0 % с доверительным уровнем значимости 95%.

3.3.2 Прецизионность в условиях повторяемости и воспроизводимости

Набор реагентов должен показывать повторяемость и воспроизводимость значений концентрации антител класса IgG к N-белку SARS-CoV-2 в К+ при коэффициенте вариации (CV), не превышающем 5,0 % с доверительным уровнем значимости 95%.

3.3.3. Точность измерений

Смещение измерения концентрации антител в разведении Калибратора с концентрацией 60 у.е./мл не должно превышать 0,6 у.е./мл при доверительной вероятности 95 %

3.3.4. Линейность измерительной системы

Значения концентраций аналита, измеренные в интервале 1,0 – 50 у.е./мл, находятся в зоне линейности калибровочной кривой.

3.3.5. Показания холостой пробы

Показание холостой пробы, в качестве которой используется К-, соответствует значению концентрации 0,1 у.е./мл на калибровочной кривой.

3.3.6. Ударный эффект высокой дозы

Отрицательное смещение значений концентрации антител IgG-класса к N-белку SARS-CoV-2 может наблюдаться при анализе образцов с концентрацией антител IgG-класса к N-белку SARS-CoV-2, существенно превышающей верхний предел зоны калибровочной кривой (60 у.е./мл)

3.3.7 Аналитическая специфичность

Набор реагентов должен выявлять наличие антител IgG-класса к N-белку SARS-CoV-2 в образцах плазмы крови в присутствии антикоагулянтов (ЭДТА, цитрат натрия), а также в присутствии высоких концентраций гемоглобина (до 10,0 мг/мл), общего билирубина (до 0,6 мг/мл) и триглицеридов (до 0,5 мг/мл) в образцах плазмы/сыворотки крови. Набор реагентов не должен выявлять наличие антител IgG-класса к N-белку SARS-CoV-2 в образцах плазмы/сыворотки крови, полученных от больных и переболевших ОРВИ людей, инфицированных вирусами иной, чем SARS-CoV-2 природы.

3.3.8 Аналитическая чувствительность (предел обнаружения)

Набор реагентов должен выявлять наличие антител IgG-класса к N-белку SARS-CoV-2 в разведении Калибратора К7 в минимальной концентрации 1,0 у.е./мл.

4. Меры предосторожности

4.1 Работа с Набором реагентов должна проводиться в лаборатории, выполняющей микробиологические, серологические и диагностические исследования с соблюдением санитарно-эпидемических правил СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III - IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней» и методических указаний МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

4.2 При работе необходимо выполнять следующие требования:

- постановку ИФА следует проводить в помещении с комнатной температурой от 18 до 24 °С;
- перед началом работы следует ознакомиться с инструкцией по применению;
- все компоненты Набора реагентов перед началом работы необходимо выдержать при комнатной температуре в течение 30 мин;

- не допускается использование Набора реагентов после истечения его срока годности, указанного на упаковке;
- лабораторная посуда должна быть тщательно промыта, предпочтительно применение материалов одноразового использования;
- необходимо использовать валидированные дозаторы и оборудование;
- работы по пипетированию должны выполняться с использованием одноразовых наконечников для полуавтоматических пипеток.

4.2.10 Все использованные одноразовые материалы и остатки образцов должны быть подвергнуты обработке дезинфицирующими средствами с последующей утилизацией в соответствии с требованиями 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».

4.2.11 Не допускать контакта образцов Набора реагентов с глазами и слизистой оболочкой. При контакте обильно промыть участок контакта водой, при необходимости обратиться за медицинской помощью.

4.2.12 Во избежание деградации нанесенного биоматериала при работе с компонентами Набора реагентов следует избегать воздействия высоких температур, влаги и прямого солнечного света.

4.3 Оценка вероятных событий, в результате наступления которых могут произойти отрицательные последствия для организма человека.

Все компоненты Набора реагентов за исключением Стоп-реагента являются нетоксичными. Серная кислота, входящая в состав Стоп-реагента обладает раздражающим действием. При попадании раствора Стоп-реагента на кожу и слизистые промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.

5. Требуемое дополнительное оборудование и материалы:

- спектрофотометр вертикальный для ИФА с длинами волн 450 нм и референс-фильтром 650 нм;
- вошер автоматический для иммунологических планшетов;
- термостатируемый вибровстряхиватель;
- термостат воздушный с регулировкой температуры на 37 °C;
- дозаторы пипеточные 1-канальные с переменным объёмом от 10 до 100 мкл, от 20 до 200 мкл и от 100 до 1000 мкл;

- дозаторы пипеточные 8-канальные с переменным объемом от 5 до 50 мкл и от 30 до 300 мкл;
- наконечники полипропиленовые на 10-200 мкл и 200-1000 мкл;
- вода дистиллированная (ГОСТ 6709 -72);
- фильтровальная бумага;
- ванночки для реагентов;
- мерные стеклянные цилиндры;
- флаконы для разведения конъюгата.

6. Анализируемые образцы

Согласно Временным методическим рекомендациям «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» все образцы, полученные для лабораторного исследования, следует считать потенциально инфицированными, и при работе с ними должны учитываться требования СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)». Медицинские работники, которые собирают или транспортируют клинические образцы в лабораторию, должны быть обучены практике безопасного обращения с биоматериалом, строго соблюдать меры предосторожности и использовать средства индивидуальной защиты.

Транспортировка образцов осуществляется с соблюдением требований СП 1.2.036-95 «Порядок учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I-IV групп патогенности». На сопровождающем формуляре необходимо указать наименование подозреваемой острой респираторной инфекции, предварительно уведомив лабораторию о том, какой образец транспортируется.

Образцы крови в присутствии антикоагулянтов или без них транспортируются при температуре 2 – 8 °С.

Сбор образцов крови проводить путем венепункции, при соблюдении стандартных лабораторных процедур. Выбор пробирок для получения сыворотки или плазмы, подготовку, центрифугирование, хранение и транспортировку образца производить согласно правилам проведения преаналитического этапа, утвержденным для лаборатории. Способы подготовки образца (сыворотки или плазмы) и режимы центрифугирования описаны в инструкциях по применению пробирок для забора крови, используемых лабораторией.

Исследуемые образцы сыворотки/плазмы хранят при температуре 2-8 °С не более 3 суток от момента взятия крови. Допускается хранение образцов в замороженном

состоянии при температуре не выше минус 18 °С не более 1 года. Перед использованием образцы размораживают при температуре 16-25 °С и перемешивают встряхиванием. Образцы, содержащие агрегаты и осадок, необходимо осветлять центрифугированием 10 мин при 6000 об./мин. Не допускается использование исследуемого материала, прошедшего термообработку, консервированного азидом натрия, с выраженным гемолизом, гиперлипидемией и бактериальным проростом. Повторное замораживание разведенных образцов не допускается.

ВНИМАНИЕ! Образцы сыворотки/плазмы могут подвергаться замораживанию/оттаиванию не более 2-х раз. Непригодными для исследования являются образцы плазмы крови, если кровь была взята в пробирки с гепарином в качестве антикоагулянта.

7. Проведение исследования

7.1. Подготовка реагентов

7.1.1. Реагенты, готовые к применению

7.1.1.1 Антиген N белок. Разборный планшет упакован в фольгированный пакет. Вскрыть фольгированный пакет и вынуть планшет. В случае необходимости оставить в рамке-держателе необходимое количество стрипов. Остальные стрипы немедленно поместить обратно в фольгированный пакет, удалить из него воздух и загерметизировать пакет зип-лок застежкой. Неиспользованные стрипы хранить в фольгированном пакете в течение срока годности набора при температуре 2-8 °С.

7.1.1.2. Растворы К+, К-, РИП, ХСР, Стоп-реагент – готовы к использованию.

Частично использованные К+, К-, Калибратор, РИП, ХСР, Стоп-реагент хранить в закрытых пробирках и флаконах в течение срока годности набора при температуре 2-8 °С.

7.2. Реагенты, требующие предварительного приготовления.

7.2.1. Подготовка раствора ФСР-Т

Раствор ФСР-Т используется для промывания планшета и для разведения конъюгата. Для получения рабочего раствора исходный 25-кратный концентрат ФСР-Т разводят в 25 раз. В мерный цилиндр, в соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу 2), вносят нужное количество концентрата ФСР-Т и доводят до соответствующего объема дистиллированной водой. Полученный раствор следует хранить не более 5 суток при температуре 16-25 °С и не более 30 суток при температуре 2-8 °С.

7.2.2 Подготовка раствора конъюгата

Конъюгат развести в рабочем растворе ФСР-Т в соотношении 1:50. Для этого, в соответствии с числом используемых стрипов, к нужному количеству раствора ФСР-Т добавляют необходимое количество концентрата конъюгата (см. таблицу 2). Полученный рабочий раствор конъюгата следует хранить не более 4 ч при температуре 2-8 °С.

Таблица 2

Расход реагентов, требующих предварительного приготовления

Кол-во стрипов	Рабочий раствор ФСР-Т		Рабочий раствор конъюгата	
	х25 ФСР-Т, мл	Дист. вода, мл	Конъюгат, мл	Рабочий раствор ФСР-Т, мл
4	5	до 125	0,07	3,5
6	10	до 250	0,1	5
8	15	до 375	0,14	7
12	20	до 500	0,25	12,5

7.3. Проведение иммуноферментного анализа

Точность приготовления разведений калибратора и исследуемых образцов определяет качество результатов анализа. Предварительные разведения проводить в индивидуальных пробирках (типа Эппендорф) или в лунках дополнительного 96-луночного планшета и каждое разведение тщательно перемешивать чистыми наконечниками.

7.3.1. Разведение Калибратора

В пробирки или лунки дополнительного планшета **A-G** внести по 120 мкл раствора РИП. В пробирку (лунку) **A** внести 120 мкл Калибратора и тщательно перемешать пипетированием. Это разведение калибровочного образца K1 соответствует концентрации 60 у.е./мл.

Из пробирки (лунки) **A** перенести 120 мкл в пробирку (лунку) **B** и тщательно перемешать.

Из пробирки (лунки) **B** перенести 120 мкл в пробирку (лунку) **C** и т.д. до пробирки **G**. Эти 2-кратные разведения являются калибровочными образцами K2, K3, K4, K5, K6, K7.

7.3.2. Предварительное разведение исследуемых образцов сыворотки/плазмы

В пробирки (лунки дополнительного планшета) внести по 190 мкл раствора РИП. Внести в них по 10 мкл исследуемых образцов сыворотки (разведение – 1:20).

7.3.3. Внесение разведенных калибровочных образцов

В лунки А-Г стрипа 1 Планшета Антиген N-белок внести по 100 мкл разведенных калибровочных образцов К1 - К7.

7.3.4. Внесение контролей и предварительно разведенных исследуемых образцов сыворотки/плазмы

В лунку Н стрипа 1 внести 100 мкл отрицательного контроля К-. В лунку А стрипа 2 внести 100 мкл положительного контроля К+. Остальные лунки использовать для исследуемых образцов. Для этого внести в лунки по 80 мкл раствора РИП, затем внести по 20 мкл предварительно разведенных в 20 раз образцов сыворотки/плазмы. Таким образом, конечное разведение образцов составит 1:100. Стрипы слегка встряхнуть в течение 30 секунд, заклеить защитной пленкой и инкубировать 1 ч при температуре 37 °С.

7.3.5. Промывка. После инкубации снять защитную пленку со стрипов или планшета и поместить ее в сосуд с дезинфицирующим раствором. Раствор из лунок удалить автоматическим промывателем (вошером) или декантацией в сосуд, заполненный до половины 6% раствором перекиси водорода. Затем лунки промыть, внося в каждую лунку по 300 мкл раствора ФСР-Т, встряхнуть планшет в течение 10 секунд и удалить содержимое лунок путем аспирации или декантации. Промывку повторить 3 раза. После последней промывки удалить остаточную влагу постукиванием перевернутого планшета по чистой фильтровальной бумаге.

7.3.6. Связывание конъюгата. Во все лунки внести по 100 мкл рабочего раствора конъюгата. Планшет закрыть защитной пленкой и инкубировать при температуре (37±1) °С в течение 1 ч. Затем процедуру промывания осуществить, как указано в п. 7.3.5.

7.3.7. Проведение ферментативной реакции. В каждую лунку планшета внести по 100 мкл субстратного раствора ХСР. Инкубировать в защищенном от света месте при температуре 18 - 22 °С в течение 10 минут.

7.3.6 Остановка ферментативной реакции. Во все лунки внести по 50 мкл Стоп-реагента.

8. Учет и интерпретация результатов

8.1 Измерение оптической плотности (ОП)

Учет результатов анализа проводить спектрофотометрическим методом не позднее чем через 15 мин после внесения Стоп-реагента, при длине волны 450 нм и волны сравнения 650 нм с помощью иммуноферментного анализатора.

Результат учитывается, если значение ОП в лунках с К- не превышает 0,10

оптических единиц (о.е.) и не менее 0,25 о.е. с К+, а значение ОП в лунках с разведением калибратора К1 (60 у.е./мл) должно быть не менее 1,50 о.е.

Калибровочный график строится с использованием данных таблицы 3 и соответствующих значений ОП с помощью программного обеспечения иммуноферментного анализатора или вручную путем построения линейного графика. По графику находят значения концентраций, соответствующие значениям ОП исследуемых сывороток. Значения полученных концентраций исследуемых образцов, определённые по калибровочной кривой, умножают на 100 в соответствии с разведением образцов сыворотки/плазмы крови 1:100. Рассчитанные концентрации в анализируемых образцах сыворотки/плазмы крови человека соответствуют количествам мкг/мл специфических IgG-антител к N-белку SARS-CoV-2. Калибровочная кривая должна быть построена одновременно с исследуемыми образцами сыворотки/плазмы.

Таблица 3

Значения концентраций IgG-антител к N-белку SARS-CoV-2 (мкг/мл) в калибровочных образцах, используемых для построения калибровочной кривой

Калибровочные образцы	Концентрация IgG антител (у.е./мл)
К1	60
К2	30
К3	15
К4	7,5
К5	3,75
К6	1,86
К7	0,93
К –	0,1

Пример калибровочной кривой для определения концентрации антител в образцах представлен на рисунках 1 и 2 (версии для демонстрации).

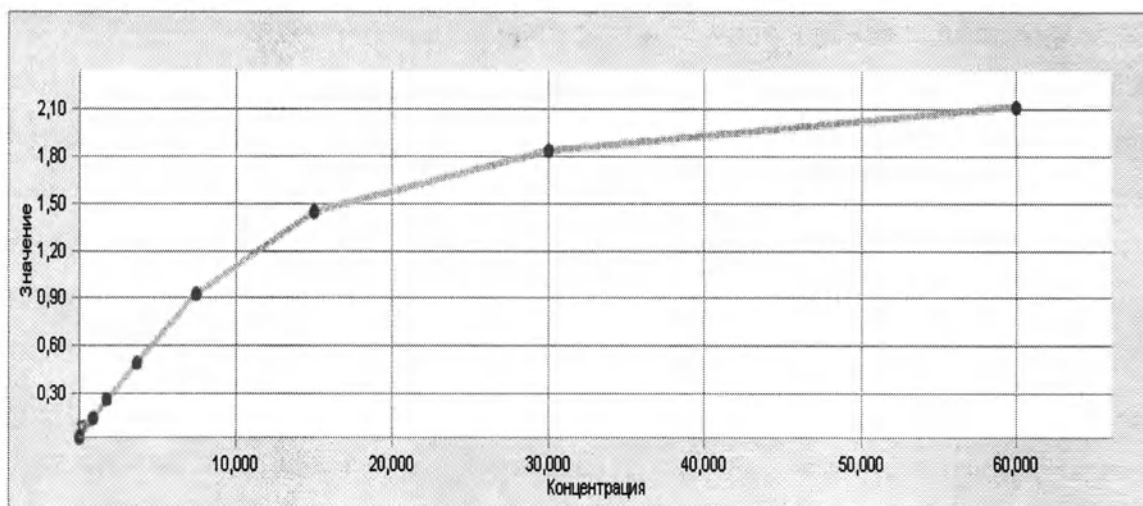


Рисунок 1. Линейный график

Примечание: по оси ординат – ОП (о.е.); по оси абсцисс – концентрация антител (у.е./мл)

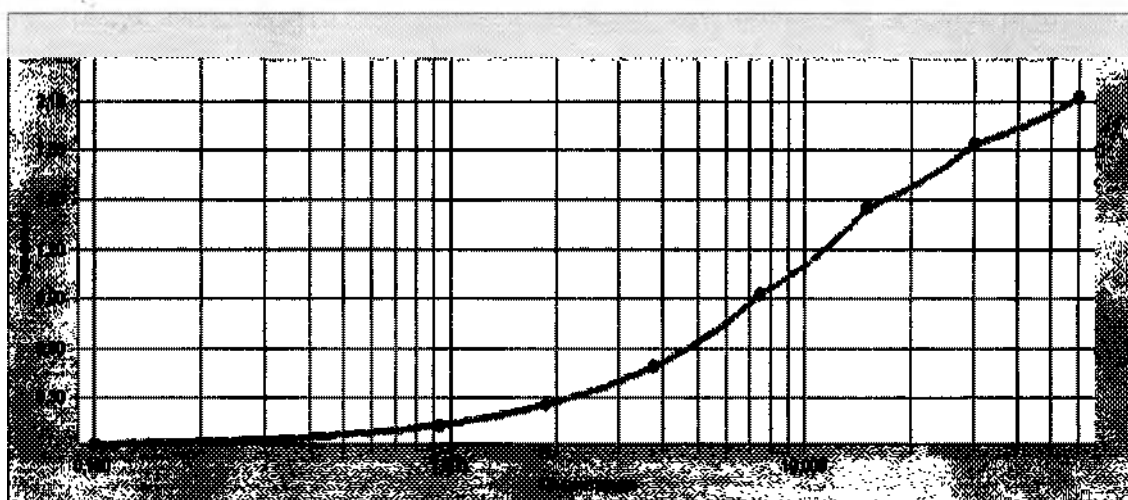


Рисунок 2. Полулогарифмический график

Примечание: по оси ординат – ОП (о.е.); по оси абсцисс – log концентрации антител (у.е./мл)

8.2 Интерпретация результатов

Концентрации специфических IgG-антител к N-белку SARS-CoV-2 в исследуемых образцах оцениваются следующим образом. Образцы, у которых рассчитанная концентрация ниже 100 у.е./мл (предел количественного определения), считаются отрицательными, образцы, у которых рассчитанная концентрация выше 100 у.е./мл оценивается как положительные. При этом концентрация > 3000 у.е./мл оценивается как очень высокий уровень наличия специфических IgG-антител, концентрация в диапазоне

3000 - 1501 у.е./мл оценивается как высокий уровень, концентрация в диапазоне 1500 - 751 у.е./мл оценивается как средний уровень, концентрация в диапазоне 750 - 187 у.е./мл оценивается как низкий уровень, концентрация в диапазоне 186 - 100 у.е./мл оценивается как очень низкий уровень. Положительный результат ИФА, то есть, выявление антител к N-белку SARS-CoV-2, может свидетельствовать как о текущем заболевании COVID-19, так и об инфицированности в прошлом.

9. Особые указания

9.1 При работе с компонентами Набора реагентов необходимо обращать внимание на тщательность перемешивания реагентов, постоянно контролировать точность дозировки и следить за рабочим состоянием пипеток.

9.2 Образцы сыворотки или плазмы, содержащие агрегаты и осадок, необходимо осветлять центрифугированием в течение 10 мин при 6000 об/мин. Не допускается использование исследуемого материала, прошедшего термообработку, консервированного азидом натрия, с выраженным гемолизом, гиперлипидемией и бактериальным проростом.

9.3 При работе нельзя допускать подсыхания лунок во время их промывки, избегать попадания прямых солнечных лучей на используемые компоненты.

9.4. Набор реагентов предназначен для выявления антител класса IgG к N-белку коронавируса SARS-CoV-2 в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Набор реагентов не предназначен для определения антител в слюне, мокроте и других образцах биологического материала.

9.5 Неправильное обращение с образцами и изменение процедуры теста могут повлиять на результаты.

9.6 Набор не предназначен для тестирования образцов сыворотки или плазмы крови новорожденных.

10. Утилизация

Отходы, образующиеся после использования набора реагентов, относятся к классу Б, и утилизируются в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 с помощью специализированных организаций.

После завершения работы исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови, находившиеся с ними в контакте реагенты и инструменты дезинфицируют растворами 6 % перекиси водорода, 70% этилового спирта или 3 % хлорамина Б в соответствии с СП 1.3.2322-08.

После обеззараживания инструменты не одноразового использования подвергают мойке (в зависимости от типа материала). Инструменты и материалы для одноразового использования собираются в одноразовую упаковку (в зависимости от морфологического состава отходов) желтого цвета или имеющие желтую маркировку. При окончательной упаковке отходов для удаления их из подразделения (организации) одноразовые емкости (пакеты, баки) с отходами маркируются соответствующим образом.

Далее емкости перемещают на участок по обращению с отходами или в помещение для временного хранения медицинских отходов класса Б до последующего вывоза транспортом специализированных организаций к месту обеззараживания/обезвреживания.

11. Условия транспортирования, хранения и эксплуатации

11.1 Требование к транспортированию

Транспортирование Набора реагентов может проводиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с требованиями и правилами, установленными на данном виде транспорта при температуре 2–8 °С.

11.2 Хранение

Набор реагентов N-Cov-2-IgG PS следует хранить в упаковке предприятия-изготовителя при температуре 2-8 °С в течение всего срока годности.

Набор реагентов, хранившийся и транспортированный с нарушением температурного режима, использованию не подлежит.

11.3 Срок годности набора реагентов

Гарантийный срок годности составляет 12 месяцев с даты утверждения ОБТК и указан на этикетке Набора реагентов. По истечении срока годности Набор реагентов использованию не подлежит.

По вопросам, касающимся качества Набора реагентов для иммуноферментного количественного определения антител класса IgG человека к N-белку SARS-CoV-2 (N-CoV-2-IgG PS), серия 001 следует обращаться к предприятию-изготовителю: Федеральное бюджетное учреждение науки «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера (ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера) по адресу: 197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14, тел/факс: (812) 233 17 03, телефон: (812) 313 69 89, e-mail: pasteurdnt@yandex.ru, <http://www.dntpasteur.ru>.

**Прошито, пронумеровано и
скреплено печатью**

18 листов

Директор ФБУН НИИ эпидемиологии
и микробиологии имени Пастера


А.А.Тотолян

