

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ООО «Биопалитра»

/ В.Н. Окруль /

«14» *Апрель* 2021 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинского изделия для диагностики ин витро

«Набор реагентов для иммуноферментного выявления суммарных иммуноглобулинов классов

A, M, G к SARS-CoV-2 «Anti-SARS-CoV-2-SMART» по ТУ 21.20.23-013-69860259-2020

лот 020121, лот 030121, лот 040121, лот 050121, лот 060121, лот 070121»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1 Наименование изделия

Полное наименование медицинского изделия для диагностики in vitro: «Набор реагентов для иммуноферментного выявления суммарных иммуноглобулинов классов А, М, G к SARS-CoV-2 «Anti-SARS-CoV-2-SMART» по ТУ 21.20.23-013-69860259-2020 лот 020121, лот 030121, лот 040121, лот 050121, лот 060121, лот 070121».

В документации и при обращении набора могут использоваться следующие сокращенные наименования: набор реагентов «Anti-SARS-CoV-2-SMART», «Anti-SARS-CoV-2-SMART».

1.2 Назначение изделия

Набор реагентов «Anti-SARS-CoV-2-SMART» предназначен для качественного иммуноферментного выявления суммарных иммуноглобулинов (IgA, IgG, IgM) к коронавирусу SARS-CoV-2 в сыворотке и плазме крови человека. Совместно с клинической картиной и тестированием другими методами (ОТ-ПЦР, КТ) специфическое определение антител к вирусу SARS-CoV-2 при помощи набора реагентов «Anti-SARS-CoV-2-SMART» может быть использовано в постановке диагноза болезни COVID-19, а также для ретроспективной оценки эпидемического процесса новой коронавирусной инфекции в популяции.

Показания: для качественного иммуноферментного выявления суммарных иммуноглобулинов (IgA, IgG, IgM) к коронавирусу SARS-CoV-2 в сыворотке и плазме крови человека при мониторинге довакцинального иммунного статуса, мониторинге поствакцинального иммунитета, исследовании на наличие нейтрализующих антител к коронавирусу SARS-CoV-2

Противопоказания: не применимо для данного изделия.

Информация о потенциальных пользователях: предназначен для диагностики in vitro сотрудниками клинико-диагностических лабораторий.

1.3 Область применения изделия

Набор реагентов «Anti-SARS-CoV-2-SMART» используется для качественного иммуноферментного выявления суммарных иммуноглобулинов (IgA, IgG, IgM) к коронавирусу SARS-CoV-2 в сыворотке и плазме крови человека.

Диагностическая роль - клиническая лабораторная диагностика.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗДЕЛИЯ

2.1 Состав изделия

Таблица 1 – состав изделия и цветовая кодировка компонентов

№ п/п	Наименование компонента изделия		Количество, ед.изм.	Цветовая кодировка компонента
	полное	сокращенное		
1	2	3	4	5
1	Иммуносорбент - планшет разборный с сорбированным S антигеном SARS-CoV-2	ИС	5 пл.	-
2	Положительный контрольный образец из сыворотки или плазмы крови, содержащий антитела к SARS-CoV-2, инактивированный	К+	1 фл., 0,3 мл	Жидкость красного цвета
3	Отрицательный контрольный образец из сыворотки или плазмы крови, не содержащий антител к SARS-CoV-2, инактивированный	К-	1 фл., 0,6 мл	Жидкость желтого цвета
4	Концентрат конъюгата 1 - биотинилированный S антиген SARS-CoV-2	КГ-1	1 фл., восстановить 3 мл воды очищенной	Сухая аморфная масса в виде таблеток или порошка красного цвета
5	Раствор для разведения концентрата конъюгата 1	РПКГ-1	2 фл., по 30 мл	Мутная, слегка опалесцирующая жидкость

6	Концентрат конъюгата 2 – конъюгат стрептавидина с полимеризованной пероксидазой хрена	КГ-2	1 фл., 4 мл	Бесцветная прозрачная жидкость
7	Раствор для разведения концентрата конъюгата 2	РРКГ-2	2 фл., по 32 мл	Зеленая прозрачная жидкость
8	Концентрат ТМБ	ТМБ	1 фл., 4 мл	Бесцветная прозрачная жидкость <i>Примечание: допускается кристаллизация</i>
9	Субстратный буферный раствор с перекисью водорода для разведения концентрата ТМБ	СР	2 фл., по 32 мл	Бесцветная или розового цвета прозрачная жидкость
10	Концентрат промывочного раствора 25-кратный - фосфатно-солевой буферный раствор с добавлением твина	ФСБ-Т	1 фл., 250 мл	Бесцветная прозрачная жидкость <i>Примечание: Во флаконе допускается наличие кристаллического осадка и пены</i>
11	Стоп-реагент – 0,5М раствор серной кислоты	СТОП	1 фл., 30,0 мл	Бесцветная прозрачная жидкость
12	Ванночка для растворов одноразовая	Ванночка	15 шт.	-
13	Пленка для заклеивания лунок иммуносорбента одноразовая	Пленка	15 шт.	-
14	Инструкция по применению набора реагентов	Инструкция	1 шт.	-

Примечание:

- 1) Набор реагентов «Anti-SARS-CoV-2-SMART» комплектуется всеми необходимыми компонентами, кроме воды очищенной;
- 2) В комплект поставки партии продукции входят: набор/наборы реагентов, паспорт;

2.2 Число анализируемых проб

Набор реагентов «Anti-SARS-CoV-2-SMART» рассчитан на 480 определений, включая контрольные образцы. Для исследования малых партий образцов возможно проведение 10 постановок ИФА по 48 образцов, включая контрольные.

2.3 Принцип действия изделия

«Anti-SARS-CoV-2-SMART» представляет собой набор реагентов, в основе которого лежит «сэндвич» метод твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА). В лунках разборного полистиролового планшета сорбирован рекомбинантный S белок, аналогичный белку вируса SARS-CoV-2, полученный в клетках млекопитающих.

На первой стадии происходит одномоментное связывание иммуноглобулинов из исследуемых и контрольных образцов с иммуносорбентом и биотинилированным антигеном, содержащимся в конъюгате 1 (КГ1), с образованием иммунных комплексов «антиген-антитело-биотинилированный антиген».

На второй стадии анализа, после отмывки, образовавшиеся иммунные комплексы «антиген-антитело-биотинилированный антиген» выявляют добавлением конъюгата стрептавидина с полимеризованной пероксидазой хрена.

Визуализация результата происходит при добавлении в лунки рабочего раствора ТМБ. При добавлении в лунки рабочего раствора ТМБ развивается окрашивание раствора, интенсивность которого зависит от количества образовавшихся иммунных комплексов.

После измерения оптической плотности в лунках планшета, полученные значения исследуемых образцов сравнивают с ОП_{крит} и могут быть оценены как положительные или отрицательные.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИЗДЕЛИЯ

3.1 Диагностическая чувствительность

Чувствительность по рабочей панели предприятия «ПП-AT-SARS-CoV-2-SMART» из образцов, содержащих антитела к SARS-CoV-2 составляет 100%.

Диагностическую чувствительность определяли при исследовании 83 положительных образцов сыворотки и плазмы крови от пациентов с подтвержденным диагнозом коронавирусная инфекция COVID-19 методом ПЦР и ИФА.

Диагностическая чувствительность набора реагентов «Anti-SARS-CoV-2-SMART» составила 98,8% (95% ДИ 93,5-99,9%).

Дополнительно было проведено сравнительное исследование положительных образцов методом ИФА в наборе реагентов «Anti-SARS-CoV-2-SMART» и методом реакции нейтрализации вируса SARS-CoV2 (штамм 35 SARS-CoV-2 (GISAID IDEPI_ISL_428851)) антителами, присутствующими в образцах пациентов. Всего было исследовано 166 сывороток от 99 пациентов, из них 126 сывороток от 63 пациентов являлись парными сыворотками. Сыворотки были получены от больных в динамике лечения: первая сыворотка – на 1-2 сутки после госпитализации (Группа 1*), вторая сыворотка – через 4-9 суток после получения первой сыворотки (Группа 1**) (интервал между получением сывороток составил $6,11 \pm 0,10$). Диагноз «коронавирусная инфекция» был поставлен клинически на основе результатов КТ. У всех больных был положительный результат носоглоточных смывов при постановке полимеразной цепной реакции в реальном времени.

Группа 2: сыворотки крови от больных, полученные в разное время (от 4 суток до 4 недель) после получения положительного результата методом ОТ-ПЦР.

Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2 – результаты контроля

Группы сывороток	Количество сывороток	РН -/+	ИФА «Anti-SARS-CoV-2-SMART» -/+	Совпадений
Группа 1*	63	25/38	31/32	76%
Группа 1**	63	0/63	0/63	100%
Группа 2	37	3/37	3/37	100%

Из данных, представленных в таблице 3 можно сделать вывод о сопоставимости результатов ИФА с методом реакции нейтрализации.

3.2 Диагностическая специфичность

Специфичность по рабочей панели предприятия «ПП-AT-SARS-CoV-2-SMART» из образцов, не содержащих антитела к SARS-CoV-2 составляет 100%.

Диагностическую специфичность определяли при исследовании 165 отрицательных образцов сыворотки и плазмы крови, отобранных до сентября 2019 года

Диагностическая специфичность набора реагентов «Anti-SARS-CoV-2-SMART» составила 100% (95% ДИ 97,8-100%).

Дополнительно было проведено сравнительное исследование 30 сывороток, собранных в 2016 и 2017 гг. от лиц в возрасте 20-60 лет в рамках Национальной программы серологического мониторинга состояния коллективного иммунитета к инфекциям, управляемым средствами специфической профилактики, методом ИФА в наборе реагентов «Anti-SARS-CoV-2-SMART» и в реакции нейтрализации со штаммом вируса SARS-CoV2 (штамм 35 SARS-CoV-2 (GISAID IDEPI_ISL_428851)).

Результаты представлены в таблице 3.

Таблица 3 – результаты контроля

Количество сывороток	РН -/+	ИФА «Anti-SARS-CoV-2-SMART» -/+	Совпадений
30	30/0	30/0	100%

Из данных, представленных в таблице 4 можно сделать вывод о сопоставимости результатов ИФА и методом реакции нейтрализации.

3.3 Аналитическая специфичность

Антикоагулянты (гепарин, ЭДТА, цитрат натрия 3,2%) не влияют на результаты анализа.

3.4 Интерферирующие вещества

С достоверным результатом могут быть использованы образцы, содержащие до 50 мг/дл эквивалентов триглицеридов, до 1000 мг/дл гемоглобина (гемолизированные образцы), до 60 мг/дл билирубина.

3.5 Перекрестная реактивность

Исследование перекрестной реактивности проводилось на образцах из коллекций, отобранных до сентября 2019 г. (информация представлена в таблице 4).

Таблица 4 – результаты контроля

Фактор	Количество образцов	Количество реактивных образцов
1	2	3
Антитела к риновирусу	12	0
Антитела к аденовирусу	1	0
Антитела к метапневмовирусу	2	0
Антитела к парагриппу	2	0
Антитела к коронавирусам (E229; OC43)	3	0
Антитела к РСВ	3	0
Антитела к вирусам гриппа А (H1N1, H3N2) и В	10	0
Ревматоидный фактор	21	0
HBsAg вирус гепатита В	5	0
Антитела к вирусу гепатита С	5	0
Антитела к ВИЧ	5	0
Антитела к возбудителю сифилиса	5	0

3.6 Воспроизводимость

Воспроизводимость установлена исследованием коэффициента вариации оптических плотностей повторов положительного контрольного образца, разведенного в 2 раза. Коэффициент вариации не более 8%.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1 Потенциальный риск применения – 26 класс (Приказ Министерства здравоохранения РФ от 06.06.2012 г. № 4н «Об утверждении номенклатурной классификации медицинских изделий»).

4.2 Меры предосторожности при использовании по назначению – соблюдение требования ГОСТ Р 52905-2007 (ИСО 15190:2003) «Лаборатории медицинские. Требования безопасности», «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» (Утв. МЗ СССР 17 января 1991 г.) и СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

4.3 Хранить в недоступном для детей месте. Использовать для лечебно-профилактических и санитарно-профилактических учреждений в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21.

4.4 РРКГ-1, РРКГ-2 содержит в своем составе в качестве консерванта Проклин 300, который может абсорбироваться через кожу и является сенсибилизирующим агентом. Но в используемых концентрациях является нетоксичным. При попадании на кожу или в глаза, необходимо немедленно промыть водой эти участки тела.

4.5 Все реагенты набора, за исключением СТОП, являются нетоксичными. Серная кислота, входящая в состав СТОП, обладает раздражающим действием. При попадании СТОП на кожу и слизистые, промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.

4.6 При работе с исследуемыми и контрольными образцами рассматривать их как потенциально инфекционный материал и использовать средства индивидуальной защиты (халат, шапочку или косынку, кожаные тапочки, одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, защитные очки), не пипетировать растворы ртом.

4.7 Все использованные материалы, инструменты и оборудование, рабочее место дезинфицировать в соответствии с требованиями СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней» и МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

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

4.9 Для маркировки изделия и его компонентов использованы предупредительные символы. Их значение приведено в Приложении 1 к инструкции по применению.

4.10 В процессе использования набора реагентов и утилизации наборов реагентов с истекшим сроком годности токсичные отходы не образуются. Собранные в пластиковые закрывающиеся емкости использованные флаконы, наконечники, перчатки, ветошь для обработки поверхностей; так же как и наборы реагентов с истекшим сроком годности, вскрытые но не использованные наборы, использованные наборы, наборы с поврежденной упаковкой: утилизируют по классу Б, как эпидемиологически опасные отходы в соответствии с 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" и МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения». Для обеззараживания и/или обезвреживания отходов использовать зарегистрированные в РФ дезсредства и оборудование в соответствии с инструкциями по их применению. Отходы утилизировать через организации, имеющие лицензию.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

5.1 Рекомендуемое измерительное оборудование

- планшетный фотометр (ИФА анализатор), позволяющий проводить измерение оптической плотности растворов в лунках планшета иммуносорбента при длинах волн 450 и 620 - 700 нм.

5.2 Дозирующие устройства и лабораторная посуда

- цилиндр мерный стеклянный - второго класса точности вместимостью до 100 мл;
- цилиндр мерный стеклянный - второго класса точности вместимостью до 1000 мл;
- дозаторы пипеточные одноканальные - полуавтоматический, со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкостей от 10 до 1000 мкл;
- дозатор пипеточный многоканальный - полуавтоматический, со сменными наконечниками, позволяющий отбирать объемы жидкостей до 300 мкл;

5.3 Другое используемое оборудование

- шейкер термостат с частотой вращения до 800 об/мин, поддерживающий температуру $+(37\pm 1)^{\circ}\text{C}$;
- мойка для микропланшетов (устройство для промывки), зарегистрированное в качестве медицинского изделия;

5.4 Материалы и реагенты, не входящие в состав изделия

- вода очищенная;
- бумага фильтровальная лабораторная;

Примечание:

- 1) При отсутствии вышеперечисленного оборудования и материалов допускается использование других средств, имеющих требуемые характеристики;
- 2) По запросу может быть предоставлена Рабочая панель предприятия «ПП-AT-SARS-CoV-2-SMART» - панель лиофильно высушенных сывороток крови человека, содержащих и не содержащих антитела к SARS-CoV-2 ТУ 32.50.50-005-69860259-2020, серия 01, срок годности до 11.2025 г.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ПРОБЫ

6.1 Для ИФА использовать свежеприготовленные анализируемые образцы. Допустимо использование образцов, хранившихся не более семи суток при температуре от + 2 до + 8 °С, или не более шести месяцев при температуре минус 20 °С.

6.2 Подготовить анализируемые образцы, хранившиеся в холодильнике/морозильной камере, для анализа. Образцы, хранившиеся в морозильной камере, разморозить. Каждый анализируемый образец, хранившийся в холодильнике/морозильной камере, прогреть до температуры от + 15 до + 25 °С и тщательно перемешать.

6.3 Минимальный объем исследуемого образца сыворотки (плазмы) крови при осуществлении исследования составляет 20 мкл.

6.4 Антикоагулянты (гепарин, ЭДТА, цитрат натрия) не влияют на результаты анализа.

6.5 Для исключения ложноположительных результатов анализируемые образцы:

- готовить и хранить в условиях, исключающих возможность бактериального и грибкового пророста;
- осветлять анализируемые образцы, содержащие осадок и агрегаты, путем центрифугирования в течение 15 мин при частоте вращения 3000 об/мин;
- не использовать анализируемые образцы с выраженным гемолизом, гиперлипидемией и бактериемией;
- избегать повторных циклов замораживания-оттаивания анализируемых образцов.

7. ПОДГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ (АНАЛИЗА)

7.1 Подготовка компонентов

7.1.1 ИС:

Готов к использованию. Вскрыть упаковку, подготовить необходимое количество стрипов к работе. Оставшиеся стрипы вынуть из рамки и упаковать в пакет с влагопоглотителем, тщательно закрыв пластиковую застежку.

7.1.2 К+:

Готов к использованию.

7.1.3 К-:

Готов к использованию

7.1.4 КГ-1:

Восстановить лиофильно высушенный КГ-1 добавлением во флакон воды очищенной в количестве 3 мл. Выдержать в течение 10 мин при температуре от +15°С до +25°С. Перемешать, не допуская вспенивания.

7.1.5 РРКГ-1:

Готов к использованию для приготовления рабочего раствора КГ-1 (п.7.2.1).

7.1.6. КГ-2:

Готов к использованию.

7.1.7 РРКГ-2:

Готов к использованию для приготовления рабочего раствора КГ-2 (п.7.2.2).

7.1.8 ТМБ:

Готов к использованию для приготовления рабочего раствора ТМБ (п.7.2.3). При наличии кристаллов во флаконе с ТМБ необходимо прогреть раствор в термостате при температуре +(37±1) °С до полного растворения. Избегать попадания под прямые солнечные лучи.

7.1.9 СР:

Готов к использованию для приготовления рабочего раствора ТМБ (п.7.2.3).

7.1.10 ФСБ-Т:

Готов к использованию для приготовления промывочного раствора (п. 7.2.4). При выпадении осадка прогреть раствор в термостате при температуре $+(37\pm 1)^\circ\text{C}$ до полного его растворения.

7.1.11 СТОП:

Готов к применению. В соответствии с числом используемых стрипов отобрать в ванночку необходимое количество согласно таблице 5.

7.1.12 Ванночки:

Готовы к использованию. Вскрыть упаковку, подготовить необходимое количество ванночек к работе. Оставшиеся ванночки упаковать в пакет, тщательно застегнуть.

7.1.13 Пленка:

Готова к использованию.

7.2 Приготовление рабочих растворов (реагентов)

7.2.1 Приготовление рабочего раствора КГ-1:

Развести восстановленный раствор КГ-1 (п. 7.1.4) реагентом РРКГ-1 в соотношении 1:21. Для этого в ванночку отобрать необходимый объем РРКГ-1, в соответствии с числом используемых стрипов согласно таблице 5, и добавить к нему соответствующее количество восстановленного КГ-1.

7.2.2 Приготовление рабочего раствора КГ-2:

Развести КГ-2 реагентом РРКГ-2 в соотношении 1:21. Для этого в ванночку отобрать необходимый объем РРКГ-2, в соответствии с числом используемых стрипов согласно таблице 5, и добавить к нему соответствующее количество КГ-2.

7.2.3 Приготовление рабочего раствора ТМБ

Развести ТМБ реагентом СР в соотношении 1:21. Для этого в ванночку отобрать необходимый объем СР, в соответствии с числом используемых стрипов согласно таблице 5, и добавить к нему соответствующий объем ТМБ, тщательно перемешать.

7.2.4 Приготовление промывочного раствора (рабочего раствора ФСБ-Т):

Перемешать содержимое флакона с ФСБ-Т.

В соответствии с числом используемых стрипов отобрать необходимое количество ФСБ-Т, развести его водой очищенной согласно таблице 5 и тщательно перемешать. При использовании целого флакона ФСБ-Т развести его содержимое в 25 раз водой очищенной и тщательно перемешать.

8. ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ (АНАЛИЗА)

8.1 Обязательные требования к проведению анализа

Несоблюдение описанных ниже требований может привести к искажению результатов анализа:

8.1.1 Не использовать компоненты с истекшим сроком годности.

8.1.2 Для приготовления рабочего раствора ТМБ использовать одноразовые емкости и наконечники для дозаторов.

8.1.3 По окончании инкубации содержимое лунок иммуносорбента собрать в сосуд с дезинфицирующим раствором. Планшет промыть 5 раз. При использовании автоматического устройства рекомендуется использовать режим отмытки с объемом наполнения 380-400 мкл в лунку, время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 секунд. Необходимо настроить оборудование на минимальное время вакуума при аспирации во избежание высушивания лунок планшета. Не осуществлять режим придонной промывки (bottom wash). Остаточное содержание промывочного буфера в лунках планшета после завершения цикла промывки не должно превышать 5 мкл. Для настройки работы промывателя и удовлетворительной воспроизводимости результата, обращаться к уполномоченному сервисному инженеру. Не допускать вспенивания промывочного раствора ограничением скорости его потока при заполнении лунок.

8.1.4 Не допускать высыхания лунок иммуносорбента между отдельными операциями.

8.1.5 Не использовать повторно ванночки для внесения реагентов.

8.1.6 Необходимо следить за состоянием емкости для промывочного раствора и соединительных шлангов автоматического устройства для промывки планшетов иммуносорбентов: в них не должно быть признаков бактериального или грибкового роста. Для целей деконтаминации емкость для промывочного раствора и шланги магистрали промывать раствором 70 % этилового спирта и затем водой очищенной.

8.1.7 Пипетки и рабочие поверхности обрабатывать только раствором 70 % этилового спирта, не использовать во время проведения ИФА перекись водорода или хлорамин и другие вещества, содержащие активный кислород, активный хлор, ионы тяжелых металлов.

8.1.8 Для дезинфекции и утилизации отходов реагентов набора, вспомогательных материалов и исследуемых образцов, рекомендуется использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА (которые не содержат активные кислород и хлор, ионы тяжелых металлов). Рекомендуются использовать 70% растворы этилового или изопропилового спирта.

8.1.9 Пленка для заклеивания лунок иммуносорбента является одноразовой и повторному использованию после снятия не подлежит. При использовании части набора необходимо отрезать кусок пленки нужного размера для каждой стадии инкубации.

8.1.10 При проведении анализа не допускается использование компонентов из наборов разных серий, других фирм производителей.

8.2 Расход компонентов для приготовления рабочих растворов

Таблица 5 – Расход компонентов

Наименование компонента	Количество используемых стрипов											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Количество компонента для приготовления промывочного раствора, мл											
ФСБ-Т	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24
Вода очищенная	до 50	до 100	до 150	до 200	до 250	до 300	до 350	до 400	до 450	до 500	до 550	до 600
Количество компонента для приготовления рабочего раствора КГ-1, мл												
КГ-1, восстановленный	0,045	0,090	0,135	0,180	0,225	0,270	0,315	0,360	0,405	0,450	0,495	0,540
РРКГ-1	0,9	1,8	2,7	3,6	4,5	5,4	6,3	7,2	8,1	9,0	9,9	10,8
Количество компонента для приготовления рабочего раствора КГ-2, мл												
КГ-2, концентрат	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,35	0,4	0,45	0,5	0,55	0,6
РРКГ-2	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0
Количество компонента для приготовления рабочего раствора ТМБ, мл												
ТМБ	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,35	0,4	0,45	0,5	0,55	0,6
СР	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0
Готовый к применению компонент												
СТОП	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	5,5	6,0

8.3 Последовательность проведения этапов исследования (анализа)

Краткая схема последовательности проведения этапов анализа представлена в Приложении 2 настоящей инструкции.

8.3.1 Подготовить компоненты (п.7.1).

Перед постановкой реакции необходимо все компоненты набора выдержать не менее 30 мин при температуре от + 15 °С до + 25 °С;

8.3.2 Подготовить рабочие растворы (п.7.2).

8.3.3 Внести в лунки ИС по 20 мкл исследуемых и контрольных образцов:

- в одну лунку ИС внести 20 мкл К+;

- в две лунки ИС внести по 20 мкл К-;

- в остальные лунки внести по 20 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови.

8.3.4 Внести в лунки КГ-1:

- во все лунки планшета по 80 мкл КГ-1 в рабочем разведении.

- во избежание контаминации, при внесении КГ-1 нельзя допускать касания наконечниками лунок планшета и исследуемых образцов;

- все лунки иммуносорбента заклеить пленкой.

Время на выполнение процедуры 8.3.3-8.3.4 не должно превышать 20 мин.

8.3.5 Инкубировать иммуносорбент 30 мин при частоте шейкирования от 700 до 800 об/мин и температуре $+(37\pm 1)$ °С.

8.3.6 По окончании инкубации содержимое лунок иммуносорбента собрать в сосуд с дезинфицирующим раствором, промыть все лунки промывочным раствором 5 раз с 30 сек. выдерживанием между промывками и удалить влагу как описано в 8.1.3 и 8.1.4.

8.3.7 Во все лунки иммуносорбента внести по 100 мкл рабочего раствора КГ-2. Все лунки иммуносорбента заклеить пленкой.

8.3.8 Иммуносорбент инкубировать 10 мин при частоте шейкирования от 700 до 800 об/мин и температуре $+(37\pm 1)$ °С.

8.3.9 По окончании инкубации содержимое лунок иммуносорбента собрать в сосуд с дезинфицирующим раствором, промыть все лунки промывочным раствором 5 раз с 30 сек. выдерживанием между промывками и удалить влагу как описано в 8.1.3, не допуская высыхания лунок иммуносорбента между отдельными операциями.

8.3.10 Во все лунки иммуносорбента внести по 100 мкл рабочего раствора ТМБ. Учитывать требования, изложенные в пункте 8.1.2.

8.3.11 Защищенный от света иммуносорбент инкубировать 10 минут при температуре $+(37\pm 1)$ °С.

8.3.12 Реакцию остановить добавлением во все лунки иммуносорбента по 50 мкл СТОП. Время между остановкой реакции и регистрацией результатов не должно превышать 15 мин.

8.3.13 Приступить к регистрации результатов

8.4 Регистрация результатов

Результаты ИФА регистрировать с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность (ОП) в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, волна сравнения (референс-фильтр) – 620-700 нм.

Допустима регистрация результатов только с основным фильтром 450 нм. Выведение спектрофотометра на нулевой уровень («бланк») осуществлять по воздуху.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА (РАСЧЕТЫ)

9.1 Результаты анализа учитываются только при получении следующих значения оптической плотности (далее ОП) в лунках с:

в лунках с К+ более 0,500 ед. опт. Пл.

в лунках с К- менее 0,200 ед. опт. Пл.

9.2 Расчет среднего значения оптической плотности в лунках с К-

Расчет среднего значения оптической плотности в лунках с К- проводится по формуле:

$$ОП(К-)_{ср.} = \frac{(ОП(К-)_{1} + ОП(К-)_{2})}{2}$$

где $ОП(K-)_{ср.}$ – среднее значение ОП в лунках с K-;
 $ОП(K-)$ – значение оптической плотности в лунке с K-.

9.3 Расчет критического значения оптической плотности

Критическое значение оптической плотности проводится по формуле:

$$ОП_{крит.} = ОП(K-)_{ср.} + 0,150,$$

где $ОП_{крит.}$ – критическое значение оптической плотности;
0,150 – коэффициент, установленный методом статистической обработки на предприятии-изготовителе.

9.4 Интерпретация результатов:

Образец считать отрицательным, без необходимости дальнейшего исследования, если:

$ОП \text{ образца} < ОП_{крит.}$;

Образец считать положительным, если:

$ОП \text{ образца} \geq ОП_{крит.}$

9.5 Определение коэффициента позитивности

Определение КП имеет значение при наблюдении за динамикой инфекционного процесса.

Для исследуемых образцов дополнительно можно рассчитать коэффициент позитивности образца (далее $КП_{обр.}$) по формуле:

$$КП_{обр.} = ОП_{обр.} / ОП_{крит.},$$

где $КП_{обр.}$ – коэффициент позитивности образца,
 $ОП_{крит.}$ – критическое значение оптической плотности,
 $ОП_{обр.}$ – значение оптической плотности образца.

Для определения КП образцов, имеющих оптическую плотность выше предела детекции спектрофотометра, рекомендуется развести образцы в 2, 4, 8 или другое число раз промывочным раствором и исследовать как цельные.

КП определять с учетом фактора разведения образцов. Для получения большей точности рекомендуется использовать отдельные пробирки или планшеты для титрования. Для минимизации ошибок при пипетировании, рекомендуется использовать объемы от 20 мкл.

Определение КП в одном образце разными наборами может отличаться, поэтому рекомендуется использовать для определения динамики изменения КП наборы реагентов одного производителя, одной серии.

9.6 Используемые компьютерные программы

Для проведения расчетов критического значения оптической плотности используются программное обеспечение, входящее в комплект зарегистрированного в Российской Федерации в установленном порядке программно-аппаратного комплекса спектрофотометра, позволяющего проводить измерение оптической плотности растворов в лунках планшета иммуносорбента.

9.7 Ограничение метода анализа

Ни один из известных методов тестирования не может дать полной гарантии положительного и отрицательного результата анализа. ИФА, являясь высокочувствительным методом, имеющим в основе сложные химические реакции, может давать ложноположительные и ложноотрицательные результаты.

Несоблюдение процедур, описанных в пункте 8.1 настоящей инструкции, может значительно сказаться на результатах анализа, привести как к ложноположительным, так и к ложноотрицательным результатам.

На раннем этапе инфекции антитела присутствуют в очень низких концентрациях, соответственно, отрицательный результат может показывать, что тестируемый образец не содержит детектируемого набором реагентов количества антител. Образцы с КП в диапазоне от 0,8 до 1,2 могут содержать критически малое значение антител, на нижнем пороге их обнаружения, такие образцы подлежат наблюдению во временной динамике.

Диагноз инфекционного заболевания не должен быть установлен на основании результата однократного тестирования, а определен в совокупности с клиническими проявлениями, историей пациента и в сочетании с заключением специалиста.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ ИЗДЕЛИЯ

10.1 Условия хранения изделия

Набор реагентов «Anti-SARS-CoV-2-SMART» хранить при температуре от + 2 °С до + 8 °С.

10.2 Условия транспортирования изделия

Набор реагентов «Anti-SARS-CoV-2-SMART» транспортировать при температуре от + 2 °С до + 8 °С. Допускается транспортирование при температуре до + 27°С в течение суток.

Изделия, хранившиеся и транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

10.3 Срок годности изделия

Срок годности набора реагентов «Anti-SARS-CoV-2-SMART» составляет 12 месяцев.

10.4 Условия хранения и срок годности вскрытых компонентов изделия представлен в таблице 6.

Таблица 6 – Условия хранения и срок годности вскрытых компонентов

№ п/п	Сокращенное наименование неиспользованного компонента	Условия и срок годности
1	2	3
1	ИС	хранить в пакете с влагопоглотителем в течении срока годности набора при температуре от + 2 °С до + 8 °С
2	К+	хранить в закрытых флаконах в течение срока годности набора при температуре от + 2 °С до + 8 °С
3	К-	хранить в закрытых флаконах в течение срока годности набора при температуре от + 2 °С до + 8 °С
4	КГ-1	хранить в течение срока годности набора при температуре от + 2°С до + 8°С
5	РРКГ-1	хранить в течение срока годности набора при температуре от + 2°С до + 8°С
6	КГ-2	хранить в течение срока годности набора при температуре от + 2°С до + 8°С
7	РРКГ-2	хранить в течение срока годности набора при температуре от + 2°С до + 8°С
8	ТМБ	хранить в закрытых флаконах в течение срока годности набора при температуре от + 2°С до + 8°С
9	СР	хранить в закрытых флаконах в течение срока годности набора при температуре от + 2°С до + 8°С
10	ФСБ-Т	хранить в закрытом флаконе в течении срока годности набора при температуре от + 2 °С до + 8 °С.
11	СТОП	хранить в закрытых флаконах в течение срока годности набора при температуре от + 2 °С до + 8 °С

10.5 Условия хранения и срок годности рабочих растворов (реагентов) представлен в таблице 7.

Таблица 7 – Условия хранения и срок годности рабочих растворов (реагентов)

№ п/п	Наименование приготовленного реагента	Условия и срок годности
1	2	3
1	промывочный раствор	хранить в чистой плотно закрытой емкости не более 72 часов при температуре от + 15 °С до + 25 °С

2	восстановленный из сухого состояния КГ-1	хранить в закрытых флаконах при температуре от + 2 °С до + 8 °С не более 20 суток
3	рабочее разведение восстановленного КГ-1	хранению не подлежит; стабилен при комнатной температуре в течение 60 минут после приготовления
4	рабочее разведение КГ-2	хранению не подлежит; стабилен при комнатной температуре в течение 40 минут после приготовления
5	рабочий раствор ТМБ	хранить в плотно закрытом флаконе в защищённом от света месте не более 4 часов после приготовления при температуре от +15°С до +25°С

10.6 Условия эксплуатации изделия

10.6.1 Набор реагентов «Anti-SARS-CoV-2-SMART» не подлежит техническому обслуживанию и ремонту. К данному медицинскому изделию не применима калибровка, однако необходимо проводить калибровку лабораторного оборудования в соответствии с инструкцией производителя оборудования.

10.6.2 Побочных эффектов при использовании набора реагентов «Anti-SARS-CoV-2-SMART» не обнаружено. Не содержит в составе лекарственных средств.

10.6.3 Набор реагентов «Anti-SARS-CoV-2-SMART» является не стерильным медицинским изделием.

10.6.4 Производитель гарантирует соответствие качества набора реагентов «Anti-SARS-CoV-2-SMART» ТУ 21.20.23-013-69860259-2020 при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения, установленных настоящей инструкцией.

10.6.5 Набор реагентов «Anti-SARS-CoV-2-SMART» используется только для диагностики in vitro. Применяется для лечебно-профилактических и санитарно-профилактических учреждений.

11. Информация о производителе и дистрибьюторе

По вопросам качества набора реагентов «Anti-SARS-CoV-2-SMART» обращаться к производителю ООО «Биопалитра» и дистрибьютору ООО «Смарт Медикал Солюшнс» по адресам:

ООО «Биопалитра»

Россия, 197350, г. Санкт-Петербург,

дорога в Каменку, д.74, лит.А, ч.п. 1-н ком.305

тел: +7 (812) 425 64 59

E-mail: info@biopalitra.com, obtk@biopalitra.com

ООО «Смарт Медикал Солюшнс»

Россия, 199226, Санкт-Петербург г.,

Морская наб., дом № 15, литера А, пом. 27-Н, оф. 143

E-mail: info@smartmed.org

**Предупредительные символы, использованные при маркировке набора реагентов
«Anti-SARS-CoV-2-SMART»**

Символ	Наименование символа	Символ	Наименование символа
ГОСТ Р ИСО 15223-1-2013			
	Использовать до		Запрет на повторное применение
	Дата изготовления		Обратитесь к инструкции по применению
	Код партии		Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению
	Номер по каталогу		Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Не допускать воздействия солнечного света		Не использовать при повреждении упаковки
	Беречь от влаги		Содержимого достаточно для проведения n количества тестов
	Температурный диапазон		Биологический риск
Европейская Директива 67/548/ЕЕС			
	Xn Вредный R22		
Регламент (ЕС) № 1272/2008			
	H290: Может вызывать коррозию металлов		

Инструкция разработана в соответствии с ТУ-21.20.23-013-69860259-2020

Краткая схема последовательности проведения этапов анализа с использованием набора реагентов «Anti-SARS-CoV-2-SMART»

№ п/п	Этап схемы постановки	Описание этапа	Примечание
1	2	3	
1	Подготовка компонентов	1. выдержать компоненты и исследуемые образцы при комнатной температуре. 2. подготовить компоненты	-
2	Приготовление рабочих растворов (реагентов)	1. приготовить рабочие растворы КГ-1, КГ-2, раствор ТМБ, промывочный раствор	-
3	Внесение образцов и контролей	внести: 1. в одну лунку ИС внести 20 мкл К+; 2. в две лунки ИС внести по 20 мкл К-; 3. в остальные лунки внести по 20 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови.	время выполнения п.3,4 не должно превышать 20 минут
4	Внесение рабочего раствора КГ-1	1. по 80 мкл рабочего разведения КГ-1 во все лунки. 2. заклеить пленкой Примечание: при внесении КГ-1 нельзя допускать касания наконечниками лунок планшета и исследуемых образцов.	
5	Инкубация	режим: температура + (37±1)°C; время 30 минут; частота шейкирования от 700 до 800 об/мин	-
6	Промывка промывочным раствором	5 раз с 30 секундным выдерживанием между промывками	-
7	Внесение рабочего раствора КГ-2	по 100 мкл во все лунки	-
8	Инкубация	режим: температура + (37±1)°C; время 10 минут; частота шейкирования от 700 до 800 об/мин	-
9	Промывка промывочным раствором	5 раз с 30 секундным выдерживанием между промывками	-
10	Внесение рабочего раствора ТМБ	по 100 мкл во все лунки	-
11	Инкубация	режим: температура + (37±1)°C; время 10 минут; в защищенном от света месте (темноте)	
12	Остановка реакции	по 50 мкл СТОП во все лунки	время между остановкой реакции и регистрацией результатов не должно превышать 15 мин
13	Регистрация результатов	Измерение ОП в двухволновом режиме: основной фильтр - 450 нм, волна-сравнение (референс-фильтр) – от 620 до 700 нм	допустима регистрация результатов только с основным фильтром 450 нм.

Прошито, пронумеровано

15



04 20/2/г.