

ООО «МЕДИПАЛТЕХ»
Россия, Московская область, г. Дубна



УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ООО «МЕДИПАЛТЕХ»
Мануйлов В. А.

«23» декабря 2020 г.
дата подписи

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для качественного иммуноферментного
определения антител класса G к коронавирусу SARS-CoV-2 и индекса их
авидности в сыворотке или плазме крови человека

«SARS-CoV-2-ИФА-IgG плюс»

по ТУ 21.20.23-006-28597318-2020

(Набор реагентов «SARS-CoV-2-ИФА-IgG плюс»)

партия (Лот) №: 0002

Регистрационное удостоверение № _____

Набор реагентов для качественного иммуноферментного определения антител класса G к
коронавирусу SARS-CoV-2 и индекса их авидности в сыворотке или плазме крови человека
«SARS-CoV-2-ИФА-IgG плюс» по ТУ 21.20.23-006-28597318-2020 (Набор реагентов «SARS-
CoV-2-ИФА-IgG плюс») выпускается в одном варианте исполнения:

Кат. № МТ-И-С1-03.192

Набор реагентов для качественного иммуноферментного определения антител класса G к
коронавирусу SARS-CoV-2 и индекса их авидности в сыворотке или плазме крови человека
«SARS-CoV-2-ИФА-IgG плюс», партия (Лот) №: 0002, 192 определения

ВНИМАНИЕ! Изучите инструкцию перед началом работы.

СОДЕРЖАНИЕ

1. НАЗНАЧЕНИЕ	3
2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА	6
3. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА	8
4. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	8
5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	11
6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ	13
7. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ, ИХ ПОДГОТОВКА И ХРАНЕНИЕ	14
8. ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ	15
9. КАЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИТЕЛ КЛАССА G К КОРОНАВИРУСУ SARS-COV-2	16
10. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИНДЕКСА АВИДНОСТИ АНТИТЕЛ КЛАССА G К SARS-COV-2	18
11. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВКИ, ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА	20
12. УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ	21
13. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ	21
14. СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА	22
16. ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ	22
17. АДРЕС ДЛЯ ОБРАЩЕНИЯ	23
18. СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	24

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для качественного иммуноферментного определения антител класса G к коронавирусу SARS-CoV-2 и индекса их авидности в сыворотке или плазме крови человека

«SARS-CoV-2-ИФА-IgG плюс»

по ТУ 21.20.23-006-28597318-2020

(Набор реагентов «SARS-CoV-2-ИФА-IgG плюс»)

(кат. № МТ-И-С1-03.192, партия (Лот) №: 0002)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для качественного иммуноферментного определения антител класса G к коронавирусу SARS-CoV-2 и индекса их авидности в сыворотке или плазме крови человека «SARS-CoV-2-ИФА-IgG плюс» по ТУ 21.20.23-006-28597318-2020, партия (Лот) №: 0002 (далее – «Набор реагентов «SARS-CoV-2-ИФА-IgG плюс»») предназначен для качественного выявления иммуноглобулинов класса G к коронавирусу SARS-CoV-2 человека и определения индекса авидности (далее - ИА) данных иммуноглобулинов в сыворотке или плазме крови методом твердофазного иммуноферментного анализа (далее – ИФА).

1.2 Научное обоснование

Авидность антител описывает силу кооперативных аффинных взаимодействий антител с антигеном. Согласно классическим иммунологическим представлениям [1], авидность увеличивается со временем. Этот процесс формирования устойчивого иммунитета, называемый матuration (созреванием) антител класса G, приводит к повышению авидности антител, а соответствующих им В-клеток – к состоянию так называемых «клеток иммунологической памяти», которые при повторной инфекции сразу начинают экспрессию высокоавидных антител, не проходя заново все стадии созревания.

В клинической практике авидность используется в качестве показателя недавнего первичного инфицирования. Определение низкоавидных антител для этих целей регламентируется отечественными и международными клиническими рекомендациями в части диагностики краснухи [2], цитомегаловирусной инфекции [3–7], вирусных энцефалитов [8], токсоплазмоза [9,10] и ряда других [11–14].

В лаборатории (*in vitro*) обычно определяют показатель индекса авидности (ИА) методом твердофазного ИФА [27,28,30-32]. При этом исследуемые на антитела образцы (сыворотка, плазма крови) тестируют одновременно в двух лунках иммунологического микропланшета с сорбированным в нем антигеном. Одну лунку оставляют интактной (добавляют физиологически-нейтральный фосфатный буфер, «ФБ-лунка»), а вторую обрабатывают денатурирующим агентом (мочевинной, «ДР-лунка»), который вызывает диссоциацию комплексов антител с антигеном. Степень диссоциации зависит от авидности антител в исследуемом образце. После проявления вторичными антителами с пероксидазой хрена и цветным субстратом определяют отношение оптических плотностей сигналов в ФБ- и ДР-луках, которое и называется индексом авидности и выражается в процентах потери сигнала после обработки мочевиной (ИА%, также см. разд. 2.1 настоящей Инструкции).

Важно, что связь индекса avidности и протективного иммунитета, приобретенного в результате вакцинации или реконвалесценции, была показана в многочисленных исследованиях для самых различных инфекций. Повышенный риск инфицирования для людей и животных, продуцирующих низкоавидные антитела (по сравнению с носителями высокоавидных антител) был достоверно подтвержден в работах, посвященных, как минимум, ветряной оспе [15,16], ЦМВ-инфекции [17–20], кори [21,22], лихорадке Денге [23], респираторно-синцитиальному вирусу [24] и *in vivo* исследованиям вируса иммунодефицита обезьян [25,26].

В области диагностики COVID-19 определение avidности решает те же задачи, что и для других вирусных инфекций: определения сроков предшествующей иммунизации (сюда же относится дифференциация первичного и повторных заражений) и эффективности приобретенного иммунитета.

Динамика нарастания avidности антител к коронавирусу SARS-CoV-2 исследована в ряде работ, при этом установлена четкая тенденция к увеличению avidности со временем [27–32]. Однако в связи с тем, что константы связывания антител к RBD в силу их конформационных особенностей ниже, чем для ряда других (неродственных, но хорошо изученных) вирусов, для разграничения условно высоко- и низкоавидных антител к SARS-CoV-2 достаточны более низкие концентрации денатурирующего агента. Вместо традиционно используемой в тестах на avidность 7-8М мочевины используется 4-5М [27,28,31,32]. С учетом данных, приведенных в научных публикациях, и после сопутствующего исследования по валидации для набора реагентов «SARS-CoV-2-ИФА-IgG-плюс» в качестве денатурирующего агента была выбрана 4М мочевина.

Иницирующей стадией инфицирования вирусом SARS-CoV-2 клетки человека, как известно, является связывание вирусного рецептора RBD с человеческим ACE2 [33,34]. Чем выше avidность вируснейтрализующих антител к RBD, тем более эффективно они будут конкурировать с ним за связывание с ACE2 и препятствовать инфицированию клеток [35].

Этот факт может найти практическое применение для отбора плазмы доноров, переболевших COVID-19, и собираемой в целях терапии. Показано, что титры образцов конвалесцентной плазмы, полученные в классической вирусологической реакции нейтрализации, достоверно коррелируют не только с титром IgG к Spike, но и с их avidностью [31,32].

Таким образом, в случае антител класса G к RBD коронавируса SARS-CoV-2, определение индекса их avidности имеет значение в качестве показателя развития устойчивого и протективного иммунитета. Последнее особенно важно в свете повсеместно разворачивающихся сейчас программ вакцинации населения, в ходе реализации которых (а также в целях определения статуса иммунной защиты отдельных людей) необходимо контролировать эффективность такой вакцинации и долговременность формируемого иммунного ответа.

Исследование на avidность также может способствовать установлению сроков предшествующего инфицирования; разграничения случаев первичной и вторичной вирусной инфекции.

Рекомендуемая интерпретация результатов теста на avidность в наборе реагентов «SARS-CoV-2-ИФА-IgG-плюс» представлена в таблице 1:

Таблица 1 – Интерпретация результатов теста на авидность антител класса G к RBD SARS-CoV-2.

п.	Определяемый показатель	Значение
1	Обнаружение «низкоавидных» IgG (ИА $\leq$ 40%) (совместно с IgM или без)	Первичное инфицирование SARS-CoV-2 в срок, не превышающий 2 мес. до момента забора образца, либо см. пп. 3
2	Обнаружение «высокоавидных» IgG (ИА $\geq$ 50%) при положительном результате на IgM	Вторичное инфицирование SARS-CoV-2. Следует учитывать, что антитела IgM к SARS-CoV-2 могут выявляться в течение нескольких месяцев после перенесённой инфекции.
3	При известном сроке иммунизации (перенесённом заболевании или вакцинации) более 3 мес. назад: обнаружение «низкоавидных» IgG (ИА $\leq$ 40%)	Отрицательный прогностический фактор: на момент забора образца не произошло эффективного формирования иммунитета, рекомендуется ревакцинация.
4	При наличии факта иммунизации в анамнезе (на любом сроке): обнаружение «высокоавидных» IgG (ИА $\geq$ 50%).	Положительный прогностический фактор: сформирован устойчивый иммунитет.

1.3. Диагностическая роль набора реагентов.

Набор реагентов «SARS-CoV-2-ИФА-IgG плюс» в клинической лабораторной практике рекомендуется использовать:

- в качестве вспомогательного средства для диагностики COVID-19.

1.4. Показания и противопоказания к применению набора реагентов.

Только для профессионального использования.

Набор реагентов «SARS-CoV-2-ИФА-IgG плюс» предназначен только для однократного применения по назначению.

Только для диагностики *in vitro*.

Противопоказаний и побочных эффектов при работе с набором реагентов «SARS-CoV-2-ИФА-IgG плюс» не выявлено.

1.5. Область применения: клиническая лабораторная диагностика.

1.6. Потенциальный пользователь.

Персонал клиничко-диагностических лабораторий медицинских учреждений, имеющих лицензию на вид медицинской деятельности: клиническая лабораторная диагностика.

Специалисты с высшим и средним медицинским образованием, высшим биологическим образованием и квалификацией, соответствующей специальностям «Клиническая лабораторная диагностика», «Вирусология», «Лабораторная диагностика», «Лабораторное дело», «Специалист в области клинической лабораторной диагностики», окончившие соответствующие курсы специальной подготовки с освоением методов безопасной работы с патогенными биологическими агентами (ПБА) III-IV групп патогенности.

1.7. Условия эксплуатации.

Анализы проводятся в условиях медицинских и клиничко-диагностических лабораторий (ГОСТ Р 53079.2-2008).

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Для качественного определения специфических к SARS-CoV-2 антител используют метод прямого твердофазного ИФА. На внутренней поверхности лунок иммуносорбента иммобилизован рекомбинантный антиген RBD (рецептор-связывающий домен Spike-белка) коронавируса SARS-CoV-2. При внесении в лунки исследуемых образцов, антитела, специфические к SARS-CoV-2, в случае их наличия связываются с рекомбинантными антигенами на твердой фазе, образуя комплексы антиген-антитело. Во время второй инкубации образовавшиеся комплексы выявляют при помощи конъюгата моноклональных антител к IgG человека с пероксидазой хрена. После отмывания несвязанных компонентов в лунки добавляют раствор субстрата пероксидазы с хромогеном. Пероксидазную реакцию останавливают, добавляя стоп-реагент, и измеряют оптическую плотность смеси в лунках иммуносорбента при длине волны 450/620-700 нм, которая пропорциональна содержанию специфических к SARS-CoV-2 антител в исследуемых образцах.

Для определения индекса avidности антител IgG каждый образец сыворотки или плазмы крови человека исследуют методом ИФА в двух параллельных лунках того же планшета с иммобилизованным рекомбинантным антигеном коронавируса SARS-CoV-2. При этом антитела, специфические к SARS-CoV-2, связываются с рекомбинантными антигенами на твердой фазе, образуя комплексы антиген-антитело. После однократной отмывки несвязавшихся антител в контрольные лунки (ФБ-лунки) - вносят фосфатный буфер, в опытные (ДР-лунки) - денатурирующий раствор, который вызывает диссоциацию комплексов антител с антигеном. Степень диссоциации зависит от avidности антител в исследуемом образце. После отмывки в лунки добавляют конъюгат моноклональных антител к IgG человека с пероксидазой хрена, - который взаимодействует с комплексом антиген-антитело. После отмывания несвязанных компонентов в лунки добавляют раствор субстрата пероксидазы с хромогеном. Пероксидазную реакцию останавливают, добавляя стоп-реагент, и измеряют оптическую плотность смеси в лунках иммуносорбента при длине волны 450/620-700 нм. Avidность антител в исследуемом образце коррелирует со снижением оптического поглощения в лунке, обработанной денатурирующим раствором, в сравнении с контрольной лункой.

2.2. Состав набора

Набор реагентов для качественного иммуноферментного определения антител класса G к коронавирусу SARS-CoV-2 и индекса их avidности в сыворотке или плазме крови человека «SARS-CoV-2-ИФА-IgG плюс» по ТУ 21.20.23-006-28597318-2020 (Набор реагентов «SARS-CoV-2-ИФА-IgG плюс») выпускается в одном варианте исполнения:

Кат. № МТ-И-С1-03.192. Набор реагентов для качественного иммуноферментного определения антител класса G к коронавирусу SARS-CoV-2 и их индекса avidности в сыворотке или плазме крови человека «SARS-CoV-2-ИФА-IgG плюс», партия (Лот) №: 0002, 192 определений.

Набор рассчитан на проведение анализа:

при качественном определении антител класса G к коронавирусу SARS-CoV-2 в сыворотке или плазме крови человека – на 192 определения, включая постановки контрольных образцов;

при определении индекса avidности антител класса G к коронавирусу SARS-CoV-2 в сыворотке или плазме крови человека – на 96 определенных образцов, предоставляемых в двух параллельных лунках, включая контрольные.

В целях экономии реагентов производитель рекомендует использовать вариант анализа на определение индекса avidности только для образцов, уже определенных как положительные на содержание антител класса G к коронавирусу SARS-CoV-2 в качественном ИФА-анализе с использованием того же набора реагентов «SARS-CoV-2-ИФА-IgG плюс», поскольку для отрицательных на содержание антител образцов индекс avidности не определяется.

Состав набора представлен в таблице 2:

Таблица 2 – Состав набора реагентов «SARS-CoV-2-ИФА-IgG плюс».

Код	Наименование компонента	Кол-во
P1	Иммуносорбент – 96-луночный разборный планшет с иммобилизованным рекомбинантным белком SARS-CoV-2 - включает 12 восьмилуночных стрипов в рамке с иммобилизованным на внутренней поверхности рекомбинантным структурным белком SARS-CoV-2	2 шт.
P2-1	Положительный контрольный образец № 1 (K1+) - инактивированный, содержит IgG к SARS-CoV-2 с ИА $\geq 50\%$	1x 3 мл
P2-2	Положительный контрольный образец № 2 (K2+) - инактивированный, содержит IgG к SARS-CoV-2 с ИА $\leq 40\%$	1x 3 мл
P3	Отрицательный контрольный образец (K-) - инактивированный, не содержит IgG к SARS-CoV-2	2x2,5 мл
P4-1	Раствор для предварительного разведения образцов	1x25 мл
P4-2	Раствор для разведения образцов	1x25 мл
P5	Конъюгат - конъюгат моноклональных антител к IgG человека с пероксидазой хрена.	1x25 мл
P6-1	Хромоген - содержит 3,3',5,5'-тетраметилбензидин	1x2,5 мл
P6-2	Раствор для разведения хромогена - цитратный буферный раствор с перекисью водорода	1x25 мл
P7	Концентрат промывочного раствора, 25-кратный - концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с Твин-20	2x50 мл
P8	Стоп-реагент - содержит серную кислоту	1x25 мл
P9	Денатурирующий раствор - содержит мочевины	1x17 мл
P10	Фосфатный буфер	1x17 мл
	Планшет для предварительного разведения образцов	2 шт.
	Клейкая пленка для заклеивания иммуносорбента	4 шт.
	Одноразовые ванночки для реагентов	4 шт.
	Одноразовые наконечники к дозаторам (до 300 мкл)	32 шт.
	Инструкция по применению набора реагентов	1 шт.
	Паспорт	1 шт.

2.3. Время проведения качественного определения антител к коронавирусу SARS-CoV-2 – 1 час 15 мин.

Время проведения определения индекса avidности антител к коронавирусу SARS-CoV-2 – 1 час 25 мин.

3. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для оценки качества получаемых результатов каждая группа анализируемых образцов и каждая индивидуальная постановка ИФА с использованием набора реагентов «SARS-CoV-2-ИФА-IgG плюс» должны включать контрольные образцы:

- отрицательный контрольный образец (P3) – не содержит IgG к SARS-CoV-2;
- положительный контрольный образец № 1 (P2-1) - содержит IgG к SARS-CoV-2 с ИА $\geq 50\%$;
- положительный контрольный образец № 2 (P2-2) - содержит IgG к SARS-CoV-2 с ИА $\leq 40\%$.

Результаты для контролей должны соответствовать заданным критериям валидности, приведенным в разделе 10 настоящей инструкции. В случае получения невалидных результатов для контролей не может быть гарантировано соответствие полученных результатов выявления заявленным аналитическим характеристикам, результаты для всех образцов в постановке считаются недостоверными, требуется повторить исследование всех исследуемых образцов и контролей.

4. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

4.1. Диагностическая чувствительность

Диагностическая чувствительность выявления IgG к SARS-CoV-2: клинические испытания, проведенные на положительных образцах сыворотки крови, полученных от 25 пациентов показали 92% чувствительность (интервал 80,9–103%, с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическую чувствительность определяли при исследовании 25 образцов сыворотки крови, имеющих положительный результат на IgG к SARS-CoV-2 в тесте с МИ сравнения: набор реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса G к SARS-CoV-2 (SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ) по ТУ 21.20.23-107-23548172-2020, РУ № РЗН 2020/10388 от 18.05.2020 г., срок действия – бессрочно.

Доверительный интервал (ДИ) = 95 %

Диагностическая чувствительность набора реагентов составила 100% (25/25; ДИ 95% 86,28–100%).

4.2. Диагностическая специфичность.

Диагностическая специфичность выявления IgG к SARS-CoV-2: клинические испытания, проведенные на отрицательных образцах сыворотки крови, полученных от 50 пациентов показали специфичность 100% (интервал 92,89–100%, с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическую специфичность определяли при исследовании 50 образцов сыворотки крови, имеющих отрицательный результат на IgG к SARS-CoV-2 в тесте с МИ сравнения: набор реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса G к SARS-CoV-2 (SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ) по ТУ 21.20.23-107-23548172-2020, РУ № РЗН 2020/10388 от 18.05.2020 г., срок действия – бессрочно.

Доверительный интервал (ДИ) = 95 %

Диагностическая специфичность набора реагентов составила 100% (50/50; ДИ 95% 92,89–100%).

4.3. Аналитическая специфичность (перекрёстная реактивность)

Для оценки аналитической специфичности (перекрестной реактивности) использовали 32 образца сыворотки крови пациентов, вакцинированных против сезонного гриппа, перенесших ОРВИ за 14-90 дней до начала исследования, беременных женщин, а также содержащих специфические антитела и антигены: положительные результаты на антитела классов антитела класса IgG к раннему антигену вируса Эпштейна-Барр, IgG и IgM к вирусу краснухи, антитела класса IgG к HCV, HBsAg, антитела IgM к ядерному антигену гепатита В (HBc). Перекрестно реагирующих образцов обнаружено не было.

4.4. Аналитическая чувствительность (предел обнаружения).

Аналитическая чувствительность набора реагентов «SARS-CoV-2-ИФА-IgG плюс» (предел обнаружения антител класса G к SARS-CoV-2), определенная производителем на последовательных разведениях стандартного образца ВОЗ (NIBSC code: 20/136) [36] составила 10 ME (BAU¹)/мл. При этом наблюдается выраженная линейность измерений в диапазоне концентрации антител от 0 до 100 BAU/мл; коэффициент корреляции составил R²=0,997 (Рис. 1):

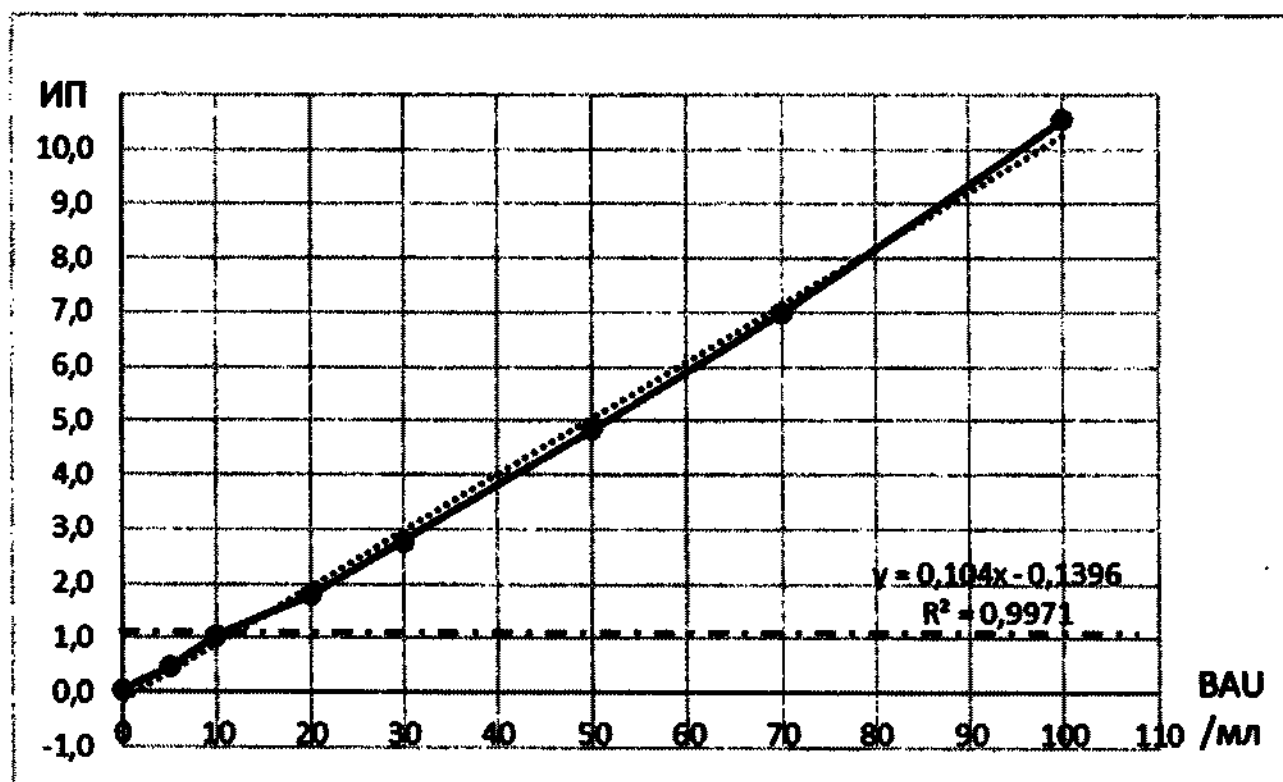


Рисунок 1 – Кривая титрования стандарта ВОЗ (NIBSC code: 20/136) в наборе реагентов «SARS-CoV-ИФА-IgG плюс». Приведена линия тренда, его уравнение (линейное) и коэффициент корреляции, а также граница уровня позитивности ИП (1,1, см. разд. 10).

¹ BAU/мл – binding antibody unit, международная концентрационная единица связывания антител в ИФА и аналогичных методах, в которой номинирован использованный стандарт ВОЗ (NIBSC code: 20/136) [36].

4.5. Интерферирующие вещества.

Максимально патологические концентрации гемоглобина (2 г/л), общего билирубина (500 мкМ) и триглицеридов (10 мМ) в клинических образцах не влияют на результат анализа.

4.6. Воспроизводимость

Внутрисерийный коэффициент вариации результатов выявления антител класса G к SARS-CoV-2 в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием набора реагентов «SARS-CoV-2-ИФА-IgG плюс» не превышает 15,0% (8% для положительных контрольных образцов).

Внутрисерийный коэффициент вариации результатов измерения индекса avidности антител класса G к SARS-CoV-2 в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием набора реагентов «SARS-CoV-2-ИФА-IgG плюс» не превышает 15,0% (8% для положительных контрольных образцов).

4.7. Валидация типа пробы (плазма, КЗ-ЭДТА)

Было проведено сравнение результатов определения антител к SARS-CoV-2 IgG, полученных в 50 образцах сыворотки и плазмы крови (антикоагулянт: КЗ-ЭДТА), взятой одновременно у одних и тех же доноров.

Было получено 25 отрицательных результатов на наличие и 25 положительных результатов, и рассчитана чувствительность и специфичность по формулам:

1) Чувствительность (плазма)

Чувствительность % = (Положительные результаты плазма / Положительные результаты сыворотка) x 100% = (25/25; ДИ 95% 86,28– 100%); 100%

2) Специфичность (плазма).

Специфичность % = (отрицательные результаты плазма / отрицательные результаты сыворотка) x 100 (25/25; ДИ 95% 86,28– 100%); 100%.

По полученным данным можно сделать вывод об эквивалентности определения антител IgG к SARS-CoV-2 в сыворотке и плазме.

Также было проведена оценка процентной согласованности результатов по определению «низкоавидных» (ИА≤40%) и «высокоавидных» (ИА≥50%) антител класса G к SARS-CoV-2 в 50 образцах сыворотки и плазмы крови, полученных одновременно от одних и тех же доноров. Согласованность результатов, полученных в наборе реагентов «SARS-CoV-2-ИФА-IgG плюс» на сыворотке и плазме крови составила 100% (ДИ 95% 86,28– 100%), то есть для всех 25 добровольцев с «высокоавидными» антителами класса G в сыворотке такой же результат был получен и для плазмы, при этом не было зафиксировано ложноположительных и ложноотрицательных образцов. Аналогично все результаты, полученные для 25 сывороток с «низкоавидными» антителами, были подтверждены и для плазмы.

4.8 Правильность определения индекса avidности

Лабораторное исследование 83 образцов сывороток крови, полученных от добровольцев с известным сроком иммунизации (перенесенным заболеванием или вакцинацией против COVID-19 вакциной «Спутник V» производства ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России), показало высокую степень корреляции между сроком иммунизации и определяемым индексом avidности антител (см. таблицу 1). Так, средний ИА в группе добровольцев, иммунизированных не более 2 мес. до момента забора образца,

составил $33,2 \pm 5,6\%$, а в группе иммунизированных более 3 месяцев назад – $57,7 \pm 5,1\%$ (различия достоверны, $p < 0,05$) (таблица 3). Процентная согласованность между результатом определения «низкоавидных» ($IA \leq 40\%$) антител и сроком иммунизации до 2 мес. включительно составила $88 \pm 11,5\%$ ($p < 0,05$). Процентная согласованность между результатом определения «высокоавидных» ($IA \geq 50\%$) антител и сроком иммунизации 4 и более мес. составила $91 \pm 10,1\%$ ($p < 0,05$). Полученные данные подтверждаются Отчетом о выполнении НИР № МТ-И-С1-03-05 от «26» февраля 2021 г., предоставляемым производителем.

Таблица 3 - Средние значения индексов авидности в группах с различным сроком иммунизации по результатам оригинальных лабораторных исследований.

Срок, мес	Среднее значение ИА, %	Доверительный интервал, % (t- критерий, $p < 0,05$)	Кол-во образцов, n (N=83)
В разрезе месяцев			
1 мес.	30,2	$\pm 8,9$	18
2 мес.	36,4	$\pm 7,0$	17
3 мес.	44,0	$\pm 13,1$	10
4 мес.	59,8	$\pm 11,3$	4
5 мес.	53,3	$\pm 8,3$	17
6 мес.	63,0	$\pm 5,7$	8
7 мес. и более	71,1	$\pm 12,0$	9
В укрупненных группах			
до 2 мес. включит.	33,2	$\pm 5,6$	35
3 мес.	44,0	$\pm 13,1$	10
4 мес и более	57,7	$\pm 5,1$	38

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

5.1. Потенциальный риск применения набора реагентов «SARS-CoV-2-ИФА-IgG плюс» по ГОСТ 31508–2012 «Изделия медицинские. Классификация в зависимости от потенциального риска применения. Общие требования» и Номенклатурной классификации медицинских изделий, утв. Приказом Минздрава Российской Федерации от № 4н от 6 июня 2012 года (в ред. Приказа Минздрава России от 25.09.2014 N 557н) – класс 26.

Общие требования безопасности к наборам реагентов для *in vitro* диагностики в соответствии с ГОСТ ISO 14971-2011.

5.2. Набор реагентов «SARS-CoV-2-ИФА-IgG плюс» предназначен только для профессионального использования. Работу следует проводить в специально оборудованном помещении лаборатории, отвечающей требованиям СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV группы патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней». При работе с Набором требуется соблюдать «Инструкцию по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинично-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утв. Минздравом СССР 17 января 1991 года; ГОСТ Р 52905–2007 (ИСО 15190:2003) «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

- рассматривать исследуемые образцы биологического материала как инфекционно-опасные;

- инактивировать исследуемые образцы биологического материала в соответствии с санитарными правилами СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней»;

- применять набор реагентов строго по назначению;

- допускать к работе с набором реагентов только специально обученный персонал с высшим и средним медицинским или биологическим образованием, соответствующий квалификационным требованиям, перечисленным в п. 1.5 настоящей Инструкции и окончивший соответствующие курсы специальной подготовки с освоением методов безопасной работы с патогенными биологическими агентами (ПБА) III-IV групп патогенности.

5.3. Не допускается использовать набор реагентов:

- при нарушении условий транспортирования и хранения;

- при несоответствии внешнего вида реагентов;

- при нарушении внутренней упаковки компонентов набора;

- по истечению срока годности.

5.4. Все компоненты набора реагентов «SARS-CoV-2-ИФА-IgG плюс», за исключением стоп-реагента (P8) являются нетоксичными. Стоп-реагент (P8, содержит серную кислоту) классифицируется как опасный. Необходимо избегать контакта стоп-реагента с кожей и слизистыми оболочками. В случае попадания промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.

Следующие реагенты: положительный контрольный образец №1 (P2-1, K1+), положительный контрольный образец №2 (P2-2, K2+), отрицательный контрольный образец (P3, K-) не классифицируются, как опасные, однако содержат в своем составе инактивированные компоненты крови человека, что необходимо учитывать при работе в соответствии с п. 3.2 настоящего раздела.

Во всех компонентах набора реагентов отсутствуют антитела к *Treponema pallidum*, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, антиген р24 ВИЧ-1, поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg).

5.5. Все компоненты, входящие в состав набора реагентов «SARS-CoV-2-ИФА-IgG плюс», предназначены для диагностики «in vitro».

5.6. При работе с набором реагентов «SARS-CoV-2-ИФА-IgG плюс» необходимо использовать индивидуальные средства защиты: халат, головной убор, резиновые или пластиковые перчатки, специальную обувь, защитные очки или щиток), так как исследуемые образцы крови следует рассматривать как потенциально инфицированный биоматериал.

5.7. Нельзя пипетировать растворы ртом.

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

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

5.10. Все твердые отходы следует собирать в специальный контейнер, обеззараживать 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, атмосферному воздуху, почвам, жилым

помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий".

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

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

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

6.1. При проведении ИФА с использованием набора реагентов «SARS-CoV-2- ИФА-IgG» требуется следующее оборудование:

- термостатируемый шейкер, поддерживающий температуру ($37 \pm 2^\circ\text{C}$);
- аппарат для промывания планшетов (вошер);
- планшетный фотометр, позволяющий проводить измерения оптической плотности в лунках планшета при длине волны 450 нм и 620-700 нм;
- центрифуга настольная на $(3-10) \times 10^3$ об/мин для получения и осветления образцов сыворотки/плазмы крови;
- дистиллятор;
- холодильник, обеспечивающий температуру хранения в диапазоне $2^\circ\text{C} - 8^\circ\text{C}$;
- дозаторы пипеточные одноканальные, позволяющие работать с объемами в диапазоне 5-1000 мкл и сменные наконечники к ним;
- дозатор пипеточный многоканальный, позволяющий работать с объемами в диапазоне 10-300 мкл и сменные наконечники к ней;
- таймер электронный;
- прибор (комбинированный термометр), позволяющий измерять температуру воздуха в диапазоне $0-25^\circ\text{C} \pm 0,2^\circ\text{C}$, относительную влажность – 20-90%.

Оборудование должно быть поверено или аттестовано в установленном порядке в соответствии с предъявляемыми требованиями.

6.2. При проведении ИФА с использованием набора реагентов «SARS-CoV-2-ИФА-IgG плюс» требуются следующие расходные материалы, не входящие в состав набора:

- вода дистиллированная;
- бумага фильтровальная;
- мерный стакан или цилиндр (1000 мл);
- пробирки центрифужные полипропиленовые вместимостью (1,5-2,2) мл для осветления, хранения образцов сыворотки/плазмы (типа «Eppendorf», Германия, кат. № 0030 120.167, 0030 110.005);
- перчатки резиновые хирургические по ГОСТ 3-88;
- дезинфицирующие растворы, соответствующие санитарным требованиям;
- контейнер для твердых загрязненных отходов;
- контейнер для загрязненных жидкостей.

7. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ, ИХ ПОДГОТОВКА И ХРАНЕНИЕ

Для исследования используют биологический материал – сыворотку или плазму (КЗ-ЭДТА) крови человека.

7.1. Все работы по отбору проб от больных, транспортировке и все этапы лабораторного исследования проводить в строгом соответствии с требованиями СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней», СП 1.2.036-95 «Порядок учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I-IV групп патогенности».

7.2. Допустимо использование образцов сывороток крови и плазмы крови с антикоагулянтом КЗ-ЭДТА.

7.3. Образцы сывороток или плазмы крови хранить при температуре 2-8°C не более 120 часов.

7.4. Образцы сывороток (плазмы), содержащие агрегаты и осадок, осветлять с помощью центрифугирования. Центрифугировать при 3000 об/мин 10-15 мин. при температуре 18° - 25°C.

7.5. Допустимо однократное замораживание образцов для более длительного хранения (до температуры минус 20°C и ниже).

7.6. Образцы сывороток (плазмы), подвергнутые замораживанию, перед проведением исследования, следует тщательно перемешать и осветлить с помощью центрифугирования.

7.7. Не рекомендуется использовать образцы сывороток (плазмы) крови с выраженным гемолизом, гиперлипидемией или бактериальным обсеменением (повышенной мутностью).

8. ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

8.1. Компоненты набора и анализируемые образцы должны быть выдержаны при комнатной температуре (18-25)°C не менее 60 минут до начала проведения анализа. После вскрытия набора компоненты набора следует хранить при температуре 2-8° C.

8.2. Жидкие реагенты, готовые к использованию:

- положительные контрольные образцы (P2-1 и P2-2);
- отрицательный контрольный образец (P3);
- конъюгат (P5);
- стоп-реагент (P8);
- денатурирующий раствор (P9);
- фосфатный буфер (P10).

8.3. Унифицированные неспецифические реагенты (взаимозаменяемые реагенты для наборов разных серий набора реагентов):

- концентрат промывочного раствора, 25-кратный (P7);
- стоп-реагент (P8).

8.4. Приготовление иммуносорбента (P1).

Вскройте пакет и извлеките иммуносорбент. Установите на рамку планшета необходимое количество стрипов. Оставшиеся стрипы уберите обратно в пакет, герметично закройте и храните их при температуре 2-8°C в течение всего срока годности.

Хранение: неиспользованные стрипы храните в плотно закрытом пакете с влагопоглотителем при температуре 2-8°C в течение всего срока годности.

8.5. Приготовление промывочного раствора.

Перенесите необходимое количество концентрата промывочного раствора (P7) из флакона в мерный стакан и разведите его в 25 раз дистиллированной водой, тщательно перемешайте (см. таблицу 4).

Хранение: неиспользованный вскрытый концентрат промывочного раствора (P7) хранить при температуре 2-8°C в течение всего срока годности, приготовленный промывочный раствор храните при комнатной температуре +18-25°C не более 15 дней или при температуре +2-8°C не более 30 дней.

8.6. Приготовление индикаторного раствора.

За 5-10 мин до окончания реакции с конъюгатом приготовьте индикаторный раствор. Для этого отберите необходимый объем хромогена (P6-1), поместите в чистую емкость и разведите его в 11 раз раствором для разведения хромогена (P6-2) (см. таблицу 4).

Тщательно перемешайте.

Перед использованием индикаторный раствор должен быть бесцветным.

Раствор необходимо предохранять от попадания света и контакта с металлами или ионами металлов. Посуду, применяемую для его приготовления, отмывают без применения синтетических моющих средств.

Хранение: Готовый индикаторный раствор хранению не подлежит.

Таблица 4 – Таблица расхода реагентов.

Реагенты	КОЛИЧЕСТВО ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СТРИПОВ											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
ПРИГОТОВЛЕНИЕ ПРОМЫВОЧНОГО РАСТВОРА												
Р7, мл	4	8	12	16	20	24	28	32	36	40	44	48
Дист. вода, мл, до	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000	1100	1200
ПРИГОТОВЛЕНИЕ ИНДИКАТОРНОГО РАСТВОРА												
Р6-1, мл	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1.0	1.1	1.2
Р6-2, мл	1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0	10	11	12

ВАЖНО: необходимо учитывать, что вариант постановки анализа для определения индекса авидности антител предусматривает постановку каждого образца, включая контрольные, в двух лунках (см. разд. 10). Поэтому в данном варианте постановки количество используемых стрипов будет в два раза больше, чем в варианте качественного определения IgG, что нужно планировать при приготовлении выбранных объемов реагентов.

8.7. Подготовка исследуемых образцов.

Исследуемые образцы развести в 10 раз раствором для предварительного разведения образцов (Р4-1). Для этого внести в лунки планшета для предварительного разведения образцов по 90 мкл раствора для предварительного разведения образцов и по 10 мкл образцов сыворотки (плазмы), тщательно перемешать пипетированием.

Хранение: разведённые в 10 раз образцы хранить не более 3-х часов при температуре (18-22)°С.

9. КАЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИТЕЛ КЛАССА G К КОРОНАВИРУСУ SARS-COV-2

9.1. Проведение анализа

9.1.1. В любые две лунки, например, А-1 и В-1, внесите по 100 мкл отрицательного контрольного образца (Р3), в одну лунку, например, С1 – 100 мкл положительного контрольного образца К1+ (Р2-1).

9.1.2. В остальные лунки внесите по 90 мкл раствора для разведения образцов (Р4-2) и по 10 мкл предварительно разведённых исследуемых образцов (п. 8.7.)

Время внесения контролей и исследуемых образцов не должно превышать 10 минут.

Заклейте планшет клейкой пленкой или накройте крышкой и инкубируйте при температуре (37±2) °С и постоянном встряхивании (700 об/мин) в течение 30 минут.

9.1.3. По окончании инкубации промойте лунки планшета 5-кратно (5 последовательных циклов наполнения дистиллированной водой и аспирации).

ВНИМАНИЕ! Промывку иммуносорбента рекомендуется проводить с использованием автоматического планшетного промывателя. Допускается промывка лунок многоканальной пипеткой.

Требования к качеству промывки:

- заполните лунки промывочным раствором в объеме не менее 350 мкл в лунку;
- не допускайте переполнения и перетекания жидкости в соседние лунки;
- выдержите промывочный раствор в лунках иммуносорбента не менее 30 секунд;
- полностью удалите содержимое лунок;
- по окончании промывки удалите остатки жидкости в лунках, перевернув иммуносорбент и постукивая им по фильтровальной бумаге.
- не допускайте высыхания лунок используемого иммуносорбента между отдельными стадиями.

Некачественное промывание иммуносорбента может привести к получению некорректных результатов.

9.1.4. Внесите в лунки по 100 мкл конъюгата (P5).

Заклейте планшет клейкой пленкой или накройте крышкой и инкубируйте в термостате при температуре $(37 \pm 2)^\circ\text{C}$ и постоянном встряхивании (700 об/мин) в течение 30 минут.

9.1.5. По окончании инкубации промойте лунки планшета 5-кратно (см. 9.1.3.)

9.1.6. Внесите в лунки по 100 мкл индикаторного раствора(п.).

Выдержите при комнатной температуре в темном месте в течение 15 минут.

9.7. Внесите в лунки по 100 мкл стоп-реагента (P8) для остановки реакции (в той же последовательности внесения, что и индикаторный раствор).

Не более чем через 5 минут после остановки цветной реакции измерьте оптическую плотность в лунках в двухволновом режиме (450 нм относительно 620-700 нм).

9.2. Учет результатов

9.2.1. Результаты анализа следует учитывать только при соблюдении следующих условий:

- значения оптических плотностей в лунках с отрицательным контролем (ОПК-) должны быть не выше 0,15 оптических единиц (ОЕ);
- значения оптических плотностей в лунках с положительным контролем (ОПК1+) должны быть не ниже 0,8 ОЕ.

9.2.2. Рассчитайте среднее значение оптической плотности в лунках с отрицательным контролем (ОПК-ср).

9.2.3. Вычислите граничное значение оптической плотности (ГЗ) по формуле:

$$\text{ГЗ} = \text{ОПК-ср} + 0,2$$

Для каждого исследуемого образца вычислите индекс позитивности (ИП) по формуле:

$$\text{ИП} = \text{ОПобр} / \text{ГЗ}$$

9.3. Интерпретация результатов

Результат качественного анализа на определения антител класса G считается положительным, если $\text{ИПобр} \geq 1,1$.

Результат качественного анализа на определения антител класса G считается отрицательным, если $\text{ИПобр} < 0,9$.

Результат качественного анализа на определения антител класса G считается неопределённым, если $0,9 \leq \text{ИПобр} < 1,1$.

При получении неопределённого результата рекомендуется повторно исследовать образцы данных пациентов, полученные через 7-10 суток.

10. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИНДЕКСА АВИДНОСТИ АНТИТЕЛ КЛАССА G K SARS-COV-2

10.1. Проведение анализа

10.1.1. Все образцы исследовать в двух параллельных лунках: ФБ-лунке и ДР-лунке.

Внести по 100 мкл К- (P3), K1+ (P2-1), K2+ (P2-2) в две соседние лунки 2-х вертикальных рядов планшета в соответствии со схемой, представленной на Рис. 2.

10.1.2. В остальные лунки внесите по 90 мкл раствора для разведения образцов (P4-2) и по 10 мкл предварительно разведённых исследуемых образцов (п. 8.7.) в каждые две соседние лунки 2-х вертикальных рядов планшета в соответствии со схемой, представленной на рис.1.

Время внесения контролей и исследуемых образцов не должно превышать 10 минут.

Заклейте планшет клейкой пленкой или накройте крышкой и инкубируйте при температуре $(37 \pm 2)^\circ\text{C}$ и постоянном встряхивании (700 об/мин) в течение 30 минут.

Рисунок 2 – Схема внесения контрольных и испытуемых образцов сывороток.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	K-	K-	№6	№6	№14	№14	№22	№22	№30	№30	№38	№38
B	K1+	K1+	№7	№7	№15	№15	№23	№23	№31	№31	№39	№39
C	K2+	K2+	№8	№8	№16	№16	№24	№24	№32	№32	№40	№40
D	№1	№1	№9	№9	№17	№17	№25	№25	№33	№33	№41	№41
E	№2	№2	№10	№10	№18	№18	№26	№26	№34	№34	№42	№42
F	№3	№3	№11	№11	№19	№19	№27	№27	№35	№35	№43	№43
G	№4	№4	№12	№12	№20	№20	№28	№28	№36	№36	№44	№44
H	№5	№5	№13	№13	№21	№21	№29	№29	№37	№37	№45	№45
	ФБ- лунки	ДР - лунки	ФБ - лунки	ДР - лунки	ФБ - лунки	ДР - лунки	ФБ - лунки	ДР - лунки	ФБ - лунки	ДР - лунки	ФБ- лунки	ДР - лунки

10.1.3. По окончании инкубации промойте лунки планшета **1 раз** (см. 9.1.3.)

10.1.4. Во все ФБ-лунки (ряды планшета №№ 1, 3, 5, 7, 9, 11) внести по 150 мкл фосфатного буфера, во все ДР-лунки (ряды планшета №№ 2, 4, 6, 8, 10, 12) - по 150 мкл денатурирующего раствора. Выдержать в течение 10 мин при температуре от 18°C до 25°C .

10.1.5. По окончании инкубации промойте лунки планшета 5-кратно (см. 9.1.3.)

10.1.6. Внесите в лунки по 100 мкл конъюгата (P5).

Заклейте планшет клейкой пленкой или накройте крышкой и инкубируйте в термостате при температуре $(37 \pm 2)^\circ\text{C}$ и постоянном встряхивании (700 об/мин) в течение 30 минут.

10.1.7. По окончании инкубации промойте лунки планшета 5-кратно (см. 9.1.3.)

10.1.8. Внесите в лунки по 100 мкл индикаторного раствора(п.).

Выдержите при комнатной температуре в темном месте в течение 15 минут.

10.1.9. Внесите в лунки по 100 мкл стоп-реагента (Р8) для остановки реакции (в той же последовательности внесения, что и индикаторный раствор).

Не более чем через 5 минут после остановки цветной реакции измерьте оптическую плотность в лунках в двухволновом режиме (450 нм относительно 620-700 нм).

10.2. Учет результатов

10.2.2. Результаты анализа следует учитывать только при соблюдении следующих условий:

ОП в ФБ-лунке с К- не более 0,15 о.е.;

ОП в ФБ-лунке с К1+ не менее 0,80 о.е.;

ОП в ФБ-лунке с К2+ не менее 0,80 о.е.

В том случае, если ОП испытуемого образца в контрольной (ФБ) лунке выше 1,9 о.е., провести повторное исследование образца крови в более высоком разведении.

В случае, если ОП испытуемого образца в ФБ-лунке ниже 0,5 о.е., провести исследование образца крови, повторно взятого у пациента через 7-14 суток.

10.2.3. Вычислить индекс avidности (ИА) для контрольных образцов К1+ и К2+ и испытуемых образцов по формуле:

$$\text{ИА} = (\text{ОП}_{\text{ДР-лунка}} / \text{ОП}_{\text{ФБ-лунка}}) \times 100 \% \quad (1)$$

где: ОП_{ДР-лунка} - ОП образца, обработанного денатурирующим раствором

ОП_{ФБ-лунка} - ОП образца в ФБ-лунке

ИА К1+ должен быть не менее 50 %

ИА К2+ должен быть не более 40 %

При получении иных показателей исследование повторить.

Для исследуемых образцов вычислить ИА по приведенной формуле (1).

10.3. Интерпретация результатов

Антитела класса G к SARS-CoV-2 считаются «низкоавидными», если ИА исследуемого образца не превышает 40%.

Антитела класса G к SARS-CoV-2 считаются «высокоавидными», если ИА исследуемого образца не менее 50%.

Результат определения индекса avidности считается неопределенным, если $40\% < \text{ИА} < 50\%$.

При получении неопределённого результата рекомендуется повторно исследовать образцы данных пациентов, полученные через 7-10 суток.

Предполагаемая интерпретация результатов определения ИА представлена в таблице 1 (раздел 1.2).

11. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВКИ, ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

11.1. Транспортирование наборов должно производиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с требованиями и правилами, установленными на данном виде транспорта, при температуре (2-8)°C.

11.3. Набор реагентов «SARS-CoV-2-ИФА-IgG плюс» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре (2-8)°C в течение всего срока годности (12 мес.).

11.3. Допускается хранение и транспортирование при температуре до 30°C в течение десяти суток. Замораживание не допускается.

11.4 Компоненты набора являются свето- (хромоген, раствор для разведения хромогена) и влагочувствительными (иммуносорбент). Хранить в условиях отсутствия прямого воздействия солнечного света и при влажности не более 80%. Избегать намокания.

11.5. Для получения достоверных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

11.6. В случае дробного использования набора компоненты следует хранить следующим образом:

- оставшиеся неиспользованными стрипы иммуносорбента тщательно заклеить клейкой пленкой для заклеивания иммуносорбента и хранить в упаковке для планшета при температуре +2-8°C в течение всего срока годности набора;

- конъюгат (P5), раствор для предварительного разведения образцов (P4-1), раствор для разведения образцов (P4-2), стоп-реагент (P8), хромоген (P6-1), раствор для разведения хромогена (P6-2), концентрат промывочного раствора (P7), денатурирующий раствор (P9), фосфатный буфер (P10) после вскрытия флаконов хранить при температуре +2-8°C в течение всего срока годности набора.

11.7. Условия хранения рабочих растворов компонентов описаны в разделе 8 настоящей инструкции.

11.8. При использовании набора необходимо придерживаться следующих правил:

- строго придерживаться указаний инструкции по применению;
- не использовать набор после окончания срока годности;
- не смешивать компоненты наборов разных серий, кроме унифицированных неспецифических реагентов (концентрат промывочного раствора (P7), стоп-реагента (P8);
- тщательно перемешивать реагенты при подготовке и проведении анализа;
- использовать для приготовления реагентов химически чистую посуду, обработанную дистиллированной водой;
- использовать только оборудование, прошедшее метрологическую поверку;
- использовать только одноразовые наконечники для дозаторов;
- исключить прямое воздействие солнечных лучей на планшет во время проведения исследования;
- не допускать присутствие паров перекиси водорода и хлора в помещении при проведении ИФА.

11.9. Условия применения набора реагентов:

- температура окружающей среды (15 – 35) °C;
- относительная влажность воздуха (не более 80) %;
- атмосферное давление (84,0 – 106,7) кПа / (630 – 800) мм. рт. ст.

11.10. Срок годности набора - 12 мес. от даты изготовления.

11.11. Наборы с истекшим сроком годности использованию не подлежат.

12. УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ

12.1. Уничтожение и утилизацию наборов реагентов следует проводить 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, 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».

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

12.3. Все твердые отходы, собранные в специальный контейнер, обеззараженные в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21, следует утилизировать как отходы класса В.

12.4. Неиспользованные наборы реагентов с истекшим сроком годности перед утилизацией следует разукomплектовать.

12.5. Неиспользованный концентрат промывочного раствора 25-кратный (P7), раствор для предварительного разведения образцов (P4-1), раствор для разведения хромогена (P6-2), денатурирующий раствор (P9), фосфатный буфер (P10) следует утилизировать, как отходы класса А.

12.6. Неиспользованные положительный (P2) и отрицательный (P3) контрольные образцы, конъюгат (P5), раствор для разведения образцов (P4-2) и иммуносорбент (P1) следует обеззараживать и утилизировать, как медицинские отходы класса Б.

12.7. Неиспользованный стоп-реагент (P8) следует утилизировать как отходы класса Г.

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

13. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

13.1. Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора требованиям технических условий при соблюдении условий транспортирования, хранения и эксплуатации, установленных техническими условиями.

13.2. Срок годности набора – 12 месяцев при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации. Сроки годности вскрытых компонентов набора реагентов – в течение срока годности набора реагентов. Указанный срок хранения был определен методом «ускоренного старения» в соответствии с ГОСТ Р ИСО 23640-2015 «Изделия медицинские для диагностики in vitro. Исследование стабильности набора реагентов в реальном времени продолжается».

Набор реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит.

14. СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА

	Только для in vitro диагностики
	Температурный диапазон
	Годен до
	Код партии
	Дата производства
	Содержит инструкцию по применению
	Каталожный номер
	Адрес производителя
	Достаточно для проведения n-количества тестов
	Не допускается воздействие солнечного света
	Беречь от влаги
	Внимание! Обратитесь к инструкции
	Хрупкое, обращаться осторожно
	«Восклицательный знак», «Жидкости, выливающиеся из двух пробирок и поражающие металл и руку» Сигнальное слово: «Осторожно» При попадании на кожу и в глаза может вызывать раздражение. Обратитесь к инструкции.

15. РЕМОНТ И ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ

Набор реагентов предназначен для одноразового использования и не подлежит техническому обслуживанию и текущему ремонту.

16. ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ

ГОСТ ISO 14971-2011 Изделия медицинские. Применение менеджмента риска к медицинским изделиям.

ГОСТ Р 51088-2013 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Реагенты, наборы реагентов, тест-системы, контрольные материалы, питательные среды. Требования к изделиям и поддерживающей документации.

ГОСТ Р 51352-2013 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Методы испытаний.

ГОСТ Р 53022.3-2008 Требования к качеству клинических лабораторных исследований. Ч.3. Правила оценки клинической информативности лабораторных тестов диагностики in vitro.

ГОСТ Р ИСО 18113-1-2015 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования.

ГОСТ Р ИСО 18113-2-2015 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 2. Реагенты для диагностики in vitro для профессионального применения.

ГОСТ Р ИСО 23640-2015 Изделия медицинские для диагностики in vitro. Оценка стабильности реагентов для диагностики in vitro.

ГОСТ Р ИСО 15223-1-2014 Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации. Ч.1. Основные требования.

ГОСТ Р 52905-2007 (ИСО 15190:2003) Лаборатории медицинские. Требования безопасности.

Примечание: Указанные выше стандарты были действующими на момент утверждения инструкции по применению. В дальнейшем, при пользовании документом, целесообразно проверить действие ссылочных нормативных документов на текущий момент. Если ссылочный документ заменён или изменён, то при применении настоящего документа следует пользоваться заменённым (изменённым) документом.

17. АДРЕС ДЛЯ ОБРАЩЕНИЯ

Производитель: Общество с ограниченной ответственностью «МедипалТех»

Адрес для переписки: 141981, Московская обл. г Дубна, ул. Большеволжская, д. 15, помещение 106.

Телефон для обращений: +7 (499) 300-14-05

Адрес электронной почты: info@medipaltech.ru

18. СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bauer G. The variability of the serological response to SARS-corona virus-2: Potential resolution of ambiguity through determination of avidity (functional affinity) // *J. Med. Virol.* 2021. Vol. 93, № 1. P. 311–322.
2. Клинические рекомендации (протокол лечения) оказания медицинской помощи детям больным краснухой. Разработаны ФГБУ НИИДИ ФМБА России, утверждены и введены в действие «09» октября 2015 г. – 27 С.
3. Клинические рекомендации Цитомегаловирусная болезнь у взрослых // Разработаны Некоммерческой корпоративной организацией «Международная ассоциация специалистов в области инфекций», утверждены в 2016 г. – 58 С.
4. Клинические рекомендации. Болезнь, вызванная ВИЧ, с проявлениями цитомегаловирусного заболевания. // Разработаны ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический университет» МЗ РФ, введены в действие в 2015 г. – 52 С.
5. Leruez-Ville M., Ville Y. Is it time for routine prenatal serological screening for congenital cytomegalovirus? // *Prenat. Diagn.* 2020. Vol. 40, № 13. P. 1671–1680.
6. Abdullahi Nasir I., Babayo A., Shehu M.S. Clinical Significance of IgG Avidity Testing and Other Considerations in the Diagnosis of Congenital Cytomegalovirus Infection: A Review Update // *Med. Sci. Basel Switz.* 2016. Vol. 4, № 1.
7. Revello M.G. et al. Diagnosis and outcome of preconceptional and periconceptional primary human cytomegalovirus infections // *J. Infect. Dis.* 2002. Vol. 186, № 4. P. 553–557.
8. Иванова Г.П., Скрипченко Н.В. Федеральные клинические рекомендации (протоколы) по диагностике и лечению вирусных энцефалитов у детей. // Утверждены на заседании профильной комиссии в рамках Всероссийского ежегодного конгресса «Инфекционные болезни у детей: диагностика, лечения и профилактика» 8-9 октября 2013 г. – 45 С.
9. Garnaud C. et al. Toxoplasma gondii-specific IgG avidity testing in pregnant women // *Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2020. Vol. 26, № 9. P. 1155–1160.
10. Teimouri A. et al. Role of Toxoplasma gondii IgG Avidity Testing in Discriminating between Acute and Chronic Toxoplasmosis in Pregnancy // *J. Clin. Microbiol.* 2020. Vol. 58, № 9.
11. Suligoi B. et al. Precision and accuracy of a procedure for detecting recent human immunodeficiency virus infections by calculating the antibody avidity index by an automated immunoassay-based method // *J. Clin. Microbiol.* 2002. Vol. 40, № 11. P. 4015–4020.
12. Каталог продукции АО «Вектор-Бест». [Электронный ресурс. URL: <https://vector-best.ru/upload/catalog.pdf?1618293579>].
13. Dörner T., Radbruch A. Antibodies and B cell memory in viral immunity // *Immunity.* 2007. Vol. 27, № 3. P. 384–392.
14. De Paschale M., Clerici P. Serological diagnosis of Epstein-Barr virus infection: Problems and solutions // *World J. Virol.* 2012. Vol. 1, № 1. P. 31–43.
15. Junker A.K., Tilley P. Varicella-zoster virus antibody avidity and IgG-subclass patterns in children with recurrent chickenpox // *J. Med. Virol.* 1994. Vol. 43, № 2. P. 119–124.
16. Martin K.A. et al. Occurrence of chickenpox during pregnancy in women seropositive for varicella-zoster virus // *J. Infect. Dis.* 1994. Vol. 170, № 4. P. 991–995.
17. Boppana S.B., Britt W.J. Antiviral antibody responses and intrauterine transmission after primary maternal cytomegalovirus infection // *J. Infect. Dis.* 1995. Vol. 171, № 5. P. 1115–1121.
18. Lazzarotto T. et al. Maternal IgG avidity and IgM detected by blot as diagnostic tools to identify pregnant women at risk of transmitting cytomegalovirus // *Viral Immunol.* 2000. Vol. 13, № 1. P. 137–141.
19. Seo S., Cho Y., Park J. Serologic screening of pregnant Korean women for primary human cytomegalovirus infection using IgG avidity test // *Korean J. Lab. Med.* 2009. Vol. 29, № 6. P. 557–562.

20. Kaneko M. et al. Maternal immunoglobulin G avidity as a diagnostic tool to identify pregnant women at risk of congenital cytomegalovirus infection // *J. Infect. Chemother. Off. J. Jpn. Soc. Chemother.* 2017. Vol. 23, № 3. P. 173–176.
21. Kontio M. et al. Waning antibody levels and avidity: implications for MMR vaccine-induced protection // *J. Infect. Dis.* 2012. Vol. 206, № 10. P. 1542–1548.
22. Paunio M. et al. IgG avidity to distinguish secondary from primary measles vaccination failures: prospects for a more effective global measles elimination strategy // *Expert Opin. Pharmacother.* 2003. Vol. 4, № 8. P. 1215–1225.
23. Puschnik A. et al. Correlation between dengue-specific neutralizing antibodies and serum avidity in primary and secondary dengue virus 3 natural infections in humans // *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2013. Vol. 7, № 6. P. e2274.
24. Delgado M.F. et al. Lack of antibody affinity maturation due to poor Toll-like receptor stimulation leads to enhanced respiratory syncytial virus disease // *Nat. Med.* 2009. Vol. 15, № 1. P. 34–41.
25. Lai L. et al. GM-CSF DNA: an adjuvant for higher avidity IgG, rectal IgA, and increased protection against the acute phase of a SHIV-89.6P challenge by a DNA/MVA immunodeficiency virus vaccine // *Virology.* 2007. Vol. 369, № 1. P. 153–167.
26. Pegu P. et al. Antibodies with high avidity to the gp120 envelope protein in protection from simian immunodeficiency virus SIV(mac251) acquisition in an immunization regimen that mimics the RV-144 Thai trial // *J. Virol.* 2013. Vol. 87, № 3. P. 1708–1719.
27. Chan K.H. et al. Use of antibody avidity assays for diagnosis of severe acute respiratory syndrome coronavirus infection // *Clin. Vaccine Immunol. CVI.* 2007. Vol. 14, № 11. P. 1433–1436.
28. Chan P.K.S. et al. Antibody avidity maturation during severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus infection // *J. Infect. Dis.* 2005. Vol. 192, № 1. P. 166–169.
29. Liu T. et al. Quantification of antibody avidities and accurate detection of SARS-CoV-2 antibodies in serum and saliva on plasmonic substrates // *Nat. Biomed. Eng.* 2020. Vol. 4, № 12. P. 1188–1196.
30. Luo Y.R. et al. Kinetics of SARS-CoV-2 Antibody Avidity Maturation and Association with Disease Severity // *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.* 2020.
31. Benner S.E. et al. SARS-CoV-2 Antibody Avidity Responses in COVID-19 Patients and Convalescent Plasma Donors // *J. Infect. Dis.* 2020. Vol. 222, № 12. P. 1974–1984.
32. Klein S.L. et al. Sex, age, and hospitalization drive antibody responses in a COVID-19 convalescent plasma donor population // *J. Clin. Invest.* 2020. Vol. 130, № 11. P. 6141–6150.
33. Barnes C.O. et al. SARS-CoV-2 neutralizing antibody structures inform therapeutic strategies // *Nature.* 2020. Vol. 588, № 7839. P. 682–687.
34. Barnes C.O. et al. Structures of Human Antibodies Bound to SARS-CoV-2 Spike Reveal Common Epitopes and Recurrent Features of Antibodies // *Cell.* 2020. Vol. 182, № 4. P. 828–842.e16.
35. Bauer G. The potential significance of high avidity immunoglobulin G (IgG) for protective immunity towards SARS-CoV-2 // *Int. J. Infect. Dis. IJID Off. Publ. Int. Soc. Infect. Dis.* 2021. Vol. 106. P. 61–64.
36. Mattiuzzo et al. Establishment of the WHO International Standard and Reference Panel for anti-SARS-CoV-2 antibody: Expert Committee on Biological Standardization. Geneva, 9-10 December 2020. WHO/BS/2020.2403E

