

УТВЕРЖДАЮ



Генеральный директор
ООО «ИМБИАН ЛАБ»

В.В. Осипова

2021 г.

Инструкция по применению медицинского изделия для диагностики in vitro

**Набор реагентов для определения иммуноглобулинов класса М (IgM) к коронавирусу SARS-CoV-2, вызывающему COVID-19, в сыворотке (плазме) крови человека методом «захвата» иммуноферментного анализа «SARS-CoV-2 IgM Screen-ИМБИАН»,
ТУ 21.20.23-004-41390295-2020,
Серия №210303, Серия №210315**

КАТАЛОЖНЫЙ НОМЕР

REF KE-001



Для 96 определений



Для диагностики in vitro



ООО "Имбиан Лаб"
630559 Новосибирская обл.,
р.п. Кольцово, ул. Садовая, 2/7
+7 (383) 209-34-54
8-800-600-90-77
info@imbian.ru
www.imbian.ru

1. Назначение набора

Набор реагентов для определения иммуноглобулинов класса М (IgM) к коронавирусу SARS-CoV-2, вызывающему COVID-19, в сыворотке (плазме) крови человека методом «захвата» иммуноферментного анализа «SARS-CoV-2 IgM Screen-ИМБИАН», ТУ 21.20.23-004-41390295-2020, Серия №210303, Серия №210315

1.1. предназначен для качественного выявления антител класса М (IgM) к коронавирусу SARS-CoV-2, вызывающему заболевание «COVID-19», в сыворотке (плазме) крови человека методом «захвата» иммуноферментного анализа (ИФА).

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

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

1.2. Область применения - клиническая лабораторная диагностика.

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

2. Необходимость применения медицинского изделия

Коронавирус (CoV) относится к подсемейству *Orthocoronavirinae*, входящий в семейство *Coronaviridae*, отряда *Nidovirales*, и подразделяется на α , β , δ и γ , среди этих четырех коронавирусов альфа и бета связаны с проблемами здоровья человека. CoV в основном передается через прямой контакт с выделениями или через аэрозоли и капли. Есть также доказательства того, что он может передаваться фекально-оральным путем.

Существует 7 типов коронавируса человека (HCoV), которые вызывают респираторное заболевание человека: HCoV-229E, HCoV-OC43, SARS-CoV, HCoV-NL63, HCoV-HKU1, MERS-CoV и SARS-CoV2, которые являются важными патогенами респираторных инфекций человека. SARS-CoV2 может вызвать появление COVID-19, который впервые появился в Ухань, Китай, в ноябре 2019 года.

Возбудителем коронавирусной инфекции COVID-19 является вирус SARS-CoV-2. После 2-14 дней инкубационного периода могут наблюдаться следующие симптомы: лихорадка, кашель (сухой или с небольшим количеством мокроты), одышка, миалгии и утомляемость, отсутствие обоняния, ощущение заложенности в грудной клетке.

Наборы реагентов, основанные на иммунологических методах, в отличие от методов, выявляющих РНК SARS-CoV-2, определяют наличие антител различных классов к антигенам возбудителя COVID-19 в сыворотке (плазме) крови человека.

На основании результатов исследований, изучающих возникновение иммунитета после COVID-19, установлено следующее.

Тесты, выявляющие антитела к SARS-CoV-2, уступают по чувствительности молекулярным методам только в первые дни инфицирования.

Специфические антитела IgM к вирусу SARS-CoV-2 появляются на 5-6 день с момента заболевания, в ряде случаев - уже в конце инкубационного периода.

На основании этих данных было разработано медицинское изделие для диагностики *in vitro* Набор реагентов для определения иммуноглобулинов класса М (IgM) к коронавирусу

SARS-CoV-2, вызывающему COVID-19, в сыворотке (плазме) крови человека методом «захвата» иммуноферментного анализа «SARS-CoV-2 IgM Screen-ИМБИАН», ТУ 21.20.23-004-41390295-2020, Серия №210303, Серия №210315.

3. Характеристика изделия

3.1. Состав набора реагентов «SARS-CoV-2 IgM Screen-ИМБИАН» представлен в таблице 1.

Название компонента	Описание компонента	Количество
Иммуно-сорбент	Запаянный в фольгированный пакет 96-луночный разборный полистироловый планшет для иммунологических реакций с плоским дном (12 стрипов по 8 лунок) с сорбированными моноклональными антителами к IgM человека	1 шт.
К(+)	Инактивированный положительный контрольный образец на основе сыворотки крови человека, содержащий IgM антитела к вирусу SARS-CoV-2. Готов к применению Прозрачная жидкость желтого цвета	1 флакон (1 мл)
К(-)	Инактивированный отрицательный контрольный образец на основе сыворотки крови человека, не содержащий антитела к вирусу SARS-CoV-2. Готов к применению. Прозрачная жидкость синего цвета	1 флакон (2 мл)
ФСБ-Т(x26)	Концентрат промывочного раствора, 26-кратный. Фосфатно-солевой буферный раствор с твином. Слегка опалесцирующая, бесцветная жидкость, возможно выпадение осадка. Требуется разведение	1 флакон (30 мл)
РРО	Раствор для разведения образцов. Опалесцирующая бесцветная жидкость. Готов к использованию	1 флакон (12 мл)
РПРО	Раствор для предварительного разведения образцов. Опалесцирующая жидкость синего цвета. Готов к использованию	1 флакон (12 мл)
РК	Раствор конъюгата. Конъюгат рекомбинантного антигена SARS-CoV-2 с пероксидазой хрена. Прозрачная жидкость зеленого цвета. Готов к использованию	1 флакон (13 мл)
ТМБ	Раствор ТМБ. Прозрачная бесцветная жидкость. Готов к использованию	1 флакон (13 мл)
Стоп-реагент	Прозрачная бесцветная жидкость. Готов к использованию	1 флакон (13 мл)
Планшет для предварительного разведения образцов		1 шт.
Наконечники для дозаторов		16 шт.
Ванночки для реагентов		2 шт.
Пленка для заклеивания планшета		2 шт.
Инструкция по использованию набора реагентов		1 шт.

3.2. Число анализируемых проб

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

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

3.3. Принцип метода

Принцип действия набора реагентов основан на методе «захвата» иммуноферментного анализа. На поверхности лунок полистиролового планшета сорбированы моноклональные антитела к IgM антителам человека (вторичные антитела). В лунки вносятся контрольные и анализируемые образцы. При наличии в образцах специфических IgM антител к вирусу SARS-CoV-2 образуется комплекс (вторичные антитела-антитело), выявляемый посредством последующей инкубации с раствором конъюгата **РК** (рекомбинантный антиген SARS-CoV2, меченные пероксидазой хрена). При добавлении раствора **ТМБ** в результате ферментативной реакции содержимое лунок планшета окрашивается. Ферментативная реакция останавливается внесением **Стоп-реагента**. Интенсивность окрашивания (оптическая плотность), пропорциональная количеству IgM к антигенам вируса SARS-CoV-2 в анализируемом образце, регистрируется с помощью спектрофотометра.

4. Аналитические характеристики

4.1. Чувствительность набора реагентов

Чувствительность набора реагентов при исследовании на контрольной панели сывороток «Анти-SARS-CoV-2 рабочая панель» (производитель ФИЦ ФТМ) составляет 100 % без ложноотрицательных результатов.

4.2. Специфичность набора реагентов

Специфичность набора реагентов при исследовании на контрольной панели сывороток «Анти-SARS-CoV-2 рабочая панель» (производитель ФИЦ ФТМ) составляет 100 % без ложноположительных результатов.

4.3. Воспроизводимость

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

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

4.4. Перекрестная реактивность

В рамках внутренних клинических испытаний перекрестную реактивность набора реагентов изучали на 100 заведомо отрицательных сыворотках крови человека из хранилища крови ФИЦ ФТМ (забор крови был осуществлен в период до 09.2019 гг.), не содержащих антитела к вирусу SARS-CoV-2 и содержащие антитела к различным инфекционным агентам – гриппу типа А, гриппу типа В, риновирусу, парагриппу, аденовирусу, респираторно-синцитиальному вирусу человека, метапневмовирусу человека (hMPV), *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*.

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

4.5. Интерферирующие вещества

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

3.6. Диагностическая чувствительность

В ходе клинико-лабораторных испытаний диагностическую чувствительность определения антител IgM к коронавирусу SARS-CoV-2 определяли на 159 положительных образцах, показана 100 % чувствительность (интервал (98,71-100,0) %, с доверительной вероятностью 95%).

3.7. Диагностическая специфичность

В ходе клинико-лабораторных испытаний диагностическую специфичность определения антител IgM к коронавирусу SARS-CoV-2 определяли на 198 отрицательном образце, показана 100 % специфичность (интервал (98,43-100,0) %, с доверительной вероятностью 95%).

5. Меры предосторожности

5.1. Потенциальный риск применения набора реагентов по Номенклатурной классификации медицинских изделий, утвержденной Приказом Минздрава Российской Федерации № 4н от 6 июня 2012 года (в редакции Приказа Минздрава России от 25.09.2014 N 557н) – класс 2б.

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

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

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

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

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

5.7. В состав компонентов **K(+)**, **K(-)**, **РРО**, **РПРО**, **РРК**, **ТМБ**, **ФСБ-Т(x26)** входят консерванты в концентрациях, являющихся нетоксичными. **K(+)** содержит 0,1% Проклина 300, **K(-)** – 0,1% Проклина 300; **РРО** – 0,1% Проклина 300; **РПРО** – 0,1% Проклина 300; **РК** – 0,1% фенола; **ТМБ** – 0,03% бензоата натрия; **ФСБ-Т(x26)** – 0,2% бензоата натрия. Все реактивы, входящие в состав компонентов набора реагентов в используемых концентрациях, являются нетоксичными.

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

5.9. Нельзя пипетировать растворы ртом.

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

5.11. 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».

5.12. 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.

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

6. Обеспечение качества исследований

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

6.2. Не использовать реагенты с истекшим сроком годности.

6.3. Не использовать реагенты других производителей.

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

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

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

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

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

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

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

6.11. Использовать чистую, тщательно промытую лабораторную посуду.

6.12. Использовать прошедшие валидацию дозаторы и оборудование.

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

6.14. Исключить контакт металлических предметов с раствором конъюгата **РК** и раствором **ТМБ**.

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

6.16. Не использовать одну и ту же емкость, в том числе и многоразовую, после промывки, для раствора конъюгата **РК** и раствора **ТМБ**.

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

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

7. Оборудование и материалы

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

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

7.3. ванночки для разведения компонентов;

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

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

7.6. устройство для промывания планшета (вошер);

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

7.8. анализатор автоматический иммуноферментный открытого типа;

7.9. холодильная или морозильная камера;

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

7.11. емкость с крышкой для жидкого дез.средства;

7.12. вода дистиллированная или деионизированная;

7.13. бумага фильтровальная;

- 7.14. таймер;
- 7.15. одноразовые нестерильные медицинские перчатки;
- 7.16. лабораторная посуда.

8. Анализируемые пробы

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

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

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

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

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

Внимание!

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

9. Подготовка компонентов для исследования

9.1. Предварительные манипуляции

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

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

Внимание!

K(+), K(-), РРО, РПРО, РК, ТМБ и Стоп-реагент готовы к использованию и не требуют дополнительного разведения.

Неиспользованные компоненты набора реагентов хранить в упаковке производителя при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности набора.

Компоненты **ФСБ-Т(x26)** представлены в виде концентрата. Требуют разведения.

9.2. Подготовка образцов.

Исследуемые образцы необходимо развести в 10 раз в РПРО. Для этого внести в лунки планшета для предварительного разведения исследуемых образцов по 90 мкл РПРО и добавить по 10 мкл исследуемых образцов. Тщательно перемешать исследуемые образцы пятикратным пипетированием.

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

9.3. Подготовка Иммуносорбента

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

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

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

Иммуносорбент (стрипы) использовать однократно!

9.4. Приготовление рабочего промывочного раствора ФСБ-Т

Внимание! В процессе хранения и транспортировки концентрата промывочного раствора (**ФСБ-Т(x26)**) возможно выпадение осадка солей.

При наличии осадка во флаконе с **ФСБ-Т(x26)** выдержать при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$ до полного растворения солей.

Содержимое флакона с **ФСБ-Т(x26)** перелить в мерный цилиндр вместимостью 1000 мл и довести объем раствора до 750 мл водой дистиллированной (деионизированной).

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

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

Неиспользованный концентрат промывочного раствора (**ФСБ-Т(x26)**) хранить в упаковке производителя при температуре от 2 до 8°C до истечения срока годности набора.

Таблица 2. Сводная таблица приготовления рабочих растворов

Количество используемых стрипов, шт.	Рабочий промывочный раствор ФСБ-Т	
	ФСБ-Т(x26), мл	Вода*, мл
1	2,0	до 50
2	4,0	до 100
3	8,0	до 150
4	10,0	до 200
5	12,0	до 250
6	14,0	до 300
7	18,0	до 450
8	20,0	до 500
9	22,0	до 550
10	24,0	до 600
11	26,0	до 650
12	30,0	до 750

Примечание: * вода дистиллированная или деионизированная

10. Проведение анализа

Вариант №1 (использование термощейкера)

Этап анализа	Процедура этапа анализа	Примечание
--------------	-------------------------	------------

1	Установить необходимое количество стрипов в рамку планшета	
2	Внести в одну лунку 100 мкл K(+) . Внести в две лунки по 100 мкл K(-) . Выбор лунок для расположения контролей произвольный. Например, лунка A1- K(+) , лунки B1 и C1 – K(-)	При использовании 1 стрипа допускается внесение K(-) в 1 лунку
3	В остальные лунки Иммуносорбента внести по 90 мкл РРО , а затем по 10 мкл 10-тикратно разведенных образцов. Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой.	Время внесения образцов при использовании всего планшета не должно превышать 10 мин. Неправильное соотношение в лунке объемов анализируемого образца и РРО может привести к искажению результата исследования. При ошибке внесения анализируемого образца лунка бракуется. Запрещается удаление раствора из лунки с последующим внесением в нее нового образца
4	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 30 мин. Для инкубации использовать орбитальный термошейкер. Скорость вращения платформы шейкера: 700 об/мин.; температура инкубации: $37 \pm 1^\circ\text{C}$	
5	С помощью промывателя для планшетов удалить содержимое лунок. Пять раз промыть планшет рабочим раствором ФСБ-Т , внося в лунки 400 мкл раствора . Экспозиция между этапами отмывки – 30 секунд. По окончании промывки при необходимости удалить влагу из лунок, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге	<u>Внимание!</u> Недостаточная аспирация жидкости в лунке может привести к искажению результата исследования. Производитель рекомендует использовать режим отмывки с перекрестной придонной аспирацией. <u>Внимание!</u> Не допускать высыхания лунок Иммуносорбента в перерыве между завершением промывок и внесением реагентов.
6	Во все лунки Иммуносорбента внести по 100 мкл раствора конъюгата . Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой	Время внесения рабочего раствора КГ при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты. <u>Внимание!</u> Остатки рабочего раствора КГ из ванночек утилизировать – повторное использование запрещено!
7	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 30 мин. Для инкубации использовать орбитальный термошейкер. Скорость вращения платформы шейкера: 700 об/мин.; температура инкубации: $37 \pm 1^\circ\text{C}$	
8	С помощью промывателя для планшетов удалить содержимое лунок. Пять раз промыть планшет рабочим раствором ФСБ-Т , внося в лунки 400 мкл раствора . Экспозиция между этапами отмывки – 30 секунд. По окончании промывки при необходимости удалить влагу из лунок, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге	<u>Внимание!</u> Недостаточная аспирация жидкости в лунке может привести к искажению результата исследования. Производитель рекомендует использовать режим отмывки с перекрестной придонной аспирацией. <u>Внимание!</u> Не допускать высыхания лунок планшета в перерыве между завершением промывок и внесением реагентов.
9	Во все лунки планшета внести по 100 мкл раствора ТМБ	Время внесения рабочего раствора ТМБ при использовании полного

		планшета не должно превышать 3 минуты. <u>Внимание!</u> Остатки рабочего раствора ТМБ из ванночек утилизировать – повторное использование запрещено.
10	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 15 мин. Для инкубации использовать орбитальный термощейкер (без вращения). температура инкубации: $37 \pm 1^\circ\text{C}$	<u>Внимание!</u> Инкубацию проводить в защищенном от света месте
11	Реакцию остановить внесением в каждую лунку Иммуносорбента по 100 мкл Стоп-реагента.	Время внесения Стоп-реагента при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты
12	Измерить оптическую плотность содержимого лунок с помощью спектрофотометра при длине волны 450 нм или используя два фильтра: основной - 450 нм референсный – 620-680 нм.	<u>Внимание!</u> Учет реакции необходимо произвести не позднее, чем через 5 мин. после остановки реакции

Вариант №2 (использование термостата).

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

Этап анализа	Процедура этапа анализа	Примечание
1	Установить необходимое количество стрипов в рамку планшета.	
2	Внести в 1 лунку планшета 100 мкл К(+). Внести в 2 лунки планшета по 100 мкл К(-). Выбор лунок для расположения контролей произвольный. Например, лунка A1- К(+), лунки B1 и C1 – К(-).	При использовании 1 стрипа допускается внесение К(-) в 1 лунку
3	В остальные лунки планшета внести по 90 мкл РРО, а затем по 10 мкл 10-тикратно разведенных образцов. Раствор тщательно и аккуратно перемешать пять раз пипетированием. Заклеить лунки планшета (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой.	Время внесения образцов при использовании всего планшета не должно превышать 10 мин. Неправильное соотношение в лунке объемов анализируемого образца и РРО может привести к искажению результата исследования. При ошибке внесения анализируемого образца лунка бракуется. Запрещается удаление раствора из лунки с последующим внесением в нее нового образца.
4	Инкубировать планшет (стрипы) в течение 45 мин. Для инкубации использовать термостат. Температура инкубации: $37 \pm 1^\circ\text{C}$	
5	С помощью промывателя для планшетов удалить содержимое лунок. Пять раз промыть планшет рабочим раствором ФСБ-Т, внося в лунки 400 мкл раствора. Экспозиция между этапами отмывки – 30 секунд. По окончании промывки при необходимости удалить влагу из лунок, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге	<u>Внимание!</u> Недостаточная аспирация жидкости в лунке может привести к искажению результата исследования. Производитель рекомендует использовать режим отмывки с перекрестной придонной аспирацией. <u>Внимание!</u> Не допускать высыхания лунок планшета в перерыве между

		завершением промывок и внесением реагентов.
6	Во все лунки Иммуносорбента внести по 100 мкл раствора конъюгата. Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой.	Время внесения рабочего раствора конъюгата при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты . <u>Внимание!</u> Остатки рабочего раствора конъюгата из ванночек утилизировать – повторное использование запрещено.
7	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 45 мин. Для инкубации использовать термостат. Температура инкубации: 37± 1°C	
8	С помощью промывателя для планшетов удалить содержимое лунок. Пять раз промыть Иммуносорбент рабочим раствором ФСБ-Т, внося в лунки 400 мкл раствора . Экспозиция между этапами отмывки – 30 секунд . По окончании промывки при необходимости удалить влагу из лунок, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге.	<u>Внимание!</u> Недостаточная аспирация жидкости в лунке может привести к искажению результата исследования. Производитель рекомендует использовать режим отмывки с перекрестной придонной аспирацией. <u>Внимание!</u> Не допускать высыхание лунок планшета в перерыве между завершением промывок и внесением реагентов.
9	Во все лунки Иммуносорбента внести по 100 мкл раствора ТМБ.	Время внесения рабочего раствора ТМБ при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты . <u>Внимание!</u> Остатки рабочего раствора ТМБ из ванночек утилизировать – повторное использование запрещено.
10	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 15 мин. Для инкубации использовать термостат. температура инкубации: 37± 1°C	<u>Внимание!</u> Инкубацию проводить в защищенном от света месте
11	Реакцию остановить внесением в каждую лунку Иммуносорбента по 100 мкл Стоп-реагента .	Время внесения Стоп-реагента при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты .
12	Измерить оптическую плотность содержимого лунок с помощью спектрофотометра при длине волны 450 нм или используя два фильтра: основной - 450 нм референсный – 620-680 нм.	<u>Внимание!</u> Учет реакции необходимо произвести не позднее, чем через 5 мин. после остановки реакции.

Использование ИФА-анализаторов

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

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

11. Расчеты

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

Нулевой уровень («бланк») задают по воздуху.

11.1. Критерии правильности теста

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

Рассчитать ОП К(-) среднее:

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

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

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

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

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

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

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

$$\text{ОП крит.} = \text{ОП К(-) среднее} + 0,200^*$$

При использовании одного стрипа: ОП крит. = ОП К(-) + 0,200*

*0,200 – коэффициент, определенный методом статистической обработки результатов исследований на предприятии-изготовителе.

Вычислить коэффициент позитивности (КП) по формуле:

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

Где ОП обр. - значение ОП в лунке с анализируемым образцом.

11.2. Интерпретация результатов

Если КП тестируемого образца меньше (<) 0,8 (или $\text{ОП} < 0,8 * \text{ОП крит.}$), результат исследования образца считают отрицательным: IgM антитела к SARS-CoV-2 не обнаружены.

Если КП тестируемого образца больше или равно ($\geq$) 1,1 (или $\text{ОП} \geq 1,1 * \text{ОП крит.}$), результат исследования образца считают положительным: IgM антитела к SARS-CoV-2 обнаружены.

Если КП тестируемого образца больше или равно 0,8 и меньше 1,1 (или $0,8 * \text{ОП крит.} \leq \text{ОП} < 1,1 * \text{ОП крит.}$), результат исследования образца считают пограничным.

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

При определении титра в выявленных положительных образцах за титр IgM к SARS-CoV2 принимается последнее разведение исследуемого образца, при котором в соответствующей лунке значение КП $\geq 1,1$.

12. Утилизация отходов

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 «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», 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 следует утилизировать, как отходы класса А.

12.6. Неиспользованные положительные и отрицательные контроли набора, раствор конъюгата и иммуносорбент следует обеззараживать и утилизировать, как медицинские отходы класса Б.

12.7. Неиспользованные раствор ТМБ и стоп-реагент следует утилизировать, как отходы класса Г.

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

13. Ограничение теста

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

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

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

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

Постановка диагноза COVID-19 и определение SARS-CoV-2-статуса возможны только при проведении всего спектра специфических исследований, с обязательным выполнением молекулярных и иммунологических тестов. Кроме того, следует не ограничиваться

однократным обследованием пациента, а выполнять лабораторные исследования в динамике, забирая материал на разных стадиях инфекционного процесса.

14. Срок годности, условия транспортировки и хранения

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

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

Параметр	Период	Условия
Срок годности набора реагентов	18 месяцев*	хранить в упаковке производителя в сухом, защищенном от света месте, при температуре от 2 до 8°C. Внимание! Замораживание не допускается
Транспортировка	в течение срока годности	при температуре от 2 до 8° С
	7 суток	при температуре от 9 до 28°C
Вскрытые компоненты: К(+), К(-), ФСБ-Т(х26), ТМБ, РК, РПРО, РРО, Стоп-реагент, Иммуносорбент	в течение срока годности набора реагентов	хранить в упаковке производи-теля в сухом, защищенном от света месте, при температуре от 2 до 8° С
Рабочий промывочный раствор ФСБ-Т	не более 3 дней	при температуре от 18 до 28°C
	не более 30 дней	при температуре от 2 до 8°C

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

15. Гарантийные обязательства

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

Рекламации на специфические и физические свойства набора реагентов направлять в адрес предприятия-изготовителя: ООО «ИМБИАН ЛАБ», 630559, Новосибирская область, г.о. рабочий поселок Кольцово, р.п. Кольцово, ул. Садовая, дом 2/7, этаж 2, помещение 2

Тел. +7(383)209-34-54, info@imbian.ru, www.imbian.ru.

16. Форма подачи рекламаций

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

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

Символы маркировки

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

Штрих-код Набора реагентов для определения иммуноглобулинов класса М (IgM) к коронавирусу SARS-CoV-2, вызывающему COVID-19, в сыворотке (плазме) крови человека методом «захвата» иммуноферментного анализа «SARS-CoV-2 IgM Screen-ИМБИАН», ТУ 21.20.23-004-41390295-2020: **4 620102 800436**

Краткая схема анализа набора реагентов «SARS-CoV-2 IgM Screen-ИМБИАН» с использованием термошейкера

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

Краткая схема анализа набора реагентов «SARS-CoV-2 IgM Screen-ИМБИАН» с использованием термостата

Этап анализа	Процедура этапа анализа.
1	Установить необходимое количество стрипов в рамку планшета
2	Внести в одну лунку Иммуносорбента 100 мкл K(+) , внести в две лунки планшета по 100 мкл K(-)
3	В остальные лунки Иммуносорбента внести по 90 мкл РРО , а затем по 10 мкл 10-тикратно разведённых образцов
4	Инкубировать в течение 45 мин в термостате при температуре 37±1 °С
5	Пять раз промыть Иммуносорбент рабочим раствором ФСБ-Т , внося в лунки 400 мкл раствора Экспозиция между этапами отмывки – 30секунд
6	Во все лунки Иммуносорбента внести по 100 мкл раствора конъюгата
7	Инкубировать в течение 45 мин в термостате при температуре 37±1 °С
8	Пять раз промыть Иммуносорбент рабочим раствором ФСБ-Т , внося в лунки 400 мкл раствора. Экспозиция между этапами отмывки – 30секунд.
9	Во все лунки Иммуносорбента внести по 100 мкл рабочего раствора ТМБ
10	Инкубировать в защищенном от света месте в течение 15 мин при температуре 37±1 °С
11	Внести в каждую лунку Иммуносорбента по 100 мкл Стоп-реагента
12	Измерить оптическую плотность содержимого лунок с помощью спектрофотометра при длине волны 450 нм, или используя два фильтра: основной (450 нм) и референсный (620-680 нм)

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

18 лист el

Генеральный директор
ООО «ИМБИАН ЛАБ»

В.В.Осинова

"15" июня 2021 г.

