СОГЛАСОВАНО
Проректор по научной работе
ФГБОУ ВО «ПИМУ»
Минздрава России
д.мн. А. С. Благонравова
«29» июля 2021 г.

ИНСТРУКЦИЯ
по применению

«Набор реагентов
для качественного и количественного определения антител класса G
к SARS-CoV-2 методом иммуноферментного анализа»
(«ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G-количественный»)

ЭЛЕКТРОННАЯ КОПИЯ ОФОРМЛЕНА ЦЕНТРОМ ИСПЫТАНИЙ И РЕГИСТРАЦИИ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ

НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННОЕ ОБЪЕДИНЕНИЕ
ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель генерального директора
ООО «НПО «Диагностические системы»

_____ **О.Н. Шлюндин**

«19» 07 2021 г.

REF Σ 96

ИНСТРУКЦИЯ
по применению

«Набор реагентов
для качественного и количественного определения антител класса G
к SARS-CoV-2 методом иммуноферментного анализа»
(«ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G-количественный»)

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

СОДЕРЖАНИЕ

I. НАЗНАЧЕНИЕ 3
II. ПРИНЦИП ТЕСТА 3
III. СОСТАВ НАБОРА РЕАГЕНТОВ 3
IV. ЭФФЕКТИВНОСТЬ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ 5
V. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ 7
VI. УТИЛИЗАЦИЯ И УНИЧТОЖЕНИЕ 8
VII. НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ, НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ С НАБОРОМ РЕАГЕНТОВ 8
VIII. ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ 8
IX. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ 9
X. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА 9
XI. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ 10
XII. ОГРАНИЧЕНИЯ ТЕСТА 11
XIII. СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ 11
XIV. ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ И РЕМОНТ 12
XV. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА 12
XVI. ОБЪЯСНЕНИЕ ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СИМВОЛОВ 12
Приложение 14

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Набор реагентов рассчитан на проведение 96 определений (один разборный планшет), включая контрольные.

I. НАЗНАЧЕНИЕ

«Набор реагентов для качественного и количественного определения антител класса G к SARS-CoV-2 методом иммуноферментного анализа» («ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G-количественный») предназначен для качественного и количественного определения антител класса G к рецептор - связывающему домену (RBD) spike-белка SARS-CoV-2 в сыворотке или плазме крови человека методом иммуноферментного анализа (ИФА).

Набор реагентов может быть использован в качестве вспомогательного диагностического средства для лабораторной диагностики текущей инфекции в комплексе с другими исследованиями, а также для оценки иммунного ответа на перенесенную SARS-CoV-2 инфекцию и количественного определения специфических антител класса G к RBD spike-белка SARS-CoV-2. Например, при проведении исследований среди населения с целью изучения популяционного иммунитета и/или в группах повышенного риска инфицирования, для обследования реконвалесцентов – потенциальных доноров гипериммунной плазмы.

Предназначен для профессионального использования специально обученным персоналом.

Область применения – клиническая лабораторная диагностика.

Заболевание COVID-19 вызывается коронавирусом SARS-CoV-2. Данный вирус является седьмым коронавирусом, способным заражать человека, и третьим коронавирусом, возникшим за последние два десятилетия, вызвавшим вспышки с высокой тяжестью заболевания и значительной смертностью на территории разных стран. Симптомы COVID-19 не имеют отличительных признаков и совпадают с симптомами других тяжелых респираторных инфекций MERS-CoV и SARS-CoV.

Выявлены четыре значимых для жизненного цикла SARS-CoV-2 структурных белка. Гомотримеры S-белков формируют «шипы» на поверхности вирусных частиц, что позволяет обеспечить прикрепление вируса к рецептору «хозяина». M-белок имеет три трансмембранных домена, способствует формированию вирионов. E-белок участвует в сборке и высвобождении вируса. N-белок содержит два домена, которые могут связываться с вирусной РНК.

S-белок состоит из двух функциональных субъединиц: S1 (содержащая RBD-домен) обеспечивает связывание с рецептором клетки-мишени (ACE2), S2 способствует слиянию вируса и клеточной мембраны. Антитела к RBD могут блокировать связывание с рецептором ACE2, препятствуя проникновению и размножению SARS-CoV-2 в организме.

II. ПРИНЦИП ТЕСТА

Метод определения основан на непрямом двухстадийном иммуноферментном анализе. В лунках полистиролового планшета иммобилизован рекомбинантный антиген с последовательностью RBD spike-белка SARS-CoV-2. При наличии в исследуемых образцах специфических антител класса G к RBD spike-белка SARS-CoV-2 образуется иммунный комплекс антиген-антитело (стадия 1), который детектируется конъюгатом – антитела к IgG человека, меченные пероксидазой хрена (стадия 2).

При добавлении ТМБ-Субстратного раствора в лунки планшета происходит окрашивание раствора в синий цвет. Реакцию останавливают добавлением в раствор стоп-реагента. При этом синий цвет раствора меняется на жёлтый. Интенсивность окрашивания прямо пропорциональна концентрации антител к RBD spike-белка SARS-CoV-2 в образце. Учет результатов можно проводить при длине волны 450/620-680 нм и 405/620-680 нм или 450 нм и 405 нм.

Затем на основании калибровочного графика рассчитывается концентрация антител класса G к RBD spike-белка SARS-CoV-2 в сЕд/мл в исследуемых образцах.

сЕд/мл – единицы связывающих антител в мл, эквивалентны единицам BAU/ml (binding antibody units in ml) “First WHO International Standard for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin (human)”, NIBSC code: 20/136.

III. СОСТАВ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

Характеристики реагентов		Форма выпуска
		Σ 96
Иммуносорбент	Планшет полистироловый 96-луночный разборный до стрипов (или до лунок), в лунках которого сорбирован рекомбинантный антиген с последовательностью RBD spike-белка SARS-CoV-2. Готов к применению.	1 планшет

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Конъюгат	Антитела к IgG человека, меченные пероксидазой хрена. Готов к применению. Прозрачная или слегка опалесцирующая жёлтого цвета жидкость. Содержит 0,10% ProClin 300*.	1 фл. 12,0 мл
Калибратор 0	Калибратор 0, не содержащий антитела класса G к SARS-CoV-2. Готов к применению. Прозрачная или опалесцирующая бесцветная или светло-жёлтого цвета жидкость.	1 фл 1,2 мл
Калибратор 1	Калибратор 1, содержащий антитела класса G к SARS-CoV-2 в концентрации 10 сЕд/мл**, инактивированный. Готов к применению. Прозрачная или опалесцирующая бесцветная или светло-жёлтого цвета жидкость.	1 фл. 1,2 мл
Калибратор 2	Калибратор 2, содержащий антитела класса G к SARS-CoV-2 в концентрации 100 сЕд/мл**, инактивированный. Готов к применению. Прозрачная или опалесцирующая бесцветная или светло-жёлтого цвета жидкость.	1 фл. 1,2 мл
Калибратор 3	Калибратор 3, содержащий антитела класса G к SARS-CoV-2 в концентрации 400 сЕд/мл**, инактивированный. Готов к применению. Прозрачная или опалесцирующая бесцветная или светло-жёлтого цвета жидкость.	1 фл. 1,2 мл
БР	Блок-раствор для разведения сывороток. Готов к применению. Прозрачная или слегка опалесцирующая розового цвета жидкость, допустимо образование осадка.	1 фл. 12,5 мл
РРС	Раствор для предварительного разведения сывороток. Готов к применению. Прозрачная или слегка опалесцирующая фиолетово-синего цвета жидкость.	1 фл. 12,5 мл
ПР	Промывочный раствор. Концентрат (×25) фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т). Прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная или светло-жёлтого цвета жидкость, допустимо образование осадка, полностью растворяющегося при температуре от 35 до 39 °С и встряхивании.	1 фл. 50,0 мл
Стоп-реагент	Раствор серной кислоты (0,2М)*. Готов к применению. Прозрачная бесцветная жидкость.	1 фл. 25,0 мл
ТМБ-Субстратный раствор	Готов к применению. Прозрачная бесцветная жидкость, возможно наличие окраски.	1 фл. 14,0 мл
Планшет для предварительного разведения сывороток	Планшет полистироловый с бесцветными лунками.	1 планшет
Плёнка защитная для ИФА-планшетов		2 шт.
Наконечники одноразовые		16 шт.
Ванночка пластиковая для жидких реагентов		2 шт.
Пакет полиэтиленовый с замком Zip-Lock		1 шт.
Бланк для построения калибровочного графика		1 шт.
Инструкция по применению		1 шт.

* Указано содержание вредных веществ в опасных концентрациях для реагентов, обозначенных символом «Внимание».

** Калибраторы аттестованы относительно "First WHO International Standard for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin (human)", NIBSC code: 20/136. Значения концентраций антител класса G к SARS-CoV-2 в Калибраторах указаны на этикетках флаконов и в паспорте на серию набора реагентов.

Набор комплектуется готовыми реагентами и концентрированными растворами. Имеется маркировка посредством штрих-кодов.

Набор реагентов упакован в потребительскую упаковку (коробку картонную). Паспорт на серию входит в комплект сопроводительной документации на продукцию.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

V. ЭФФЕКТИВНОСТЬ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

4.1. Эквивалентность образцов сыворотки и плазмы крови человека

Оценка эквивалентности образцов сыворотки и плазмы крови человека проведена в соответствии с ГОСТ Р 51352-2013 Медицинские изделия для диагностики ин витро. Методы испытаний.

Исследованием положительных (n=25) и отрицательных (n=25) на анти-RBD IgG парных образцов сыворотки и плазмы крови человека, содержащей различные антикоагулянты (ЭДТА, гепарин, цитрат натрия), была показана их эквивалентность, что позволяет отнести показатели диагностической чувствительности и специфичности к обоим видам исследуемых образцов.

4.2. Воспроизводимость и повторяемость

Исследование воспроизводимости проведено в соответствии с ГОСТ Р 51352-2013 Медицинские изделия для диагностики ин витро. Методы испытаний.

Коэффициент вариации тестирования положительных образцов внутри планшета (повторяемость), между планшетами одной серии и между сериями набора реагентов «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G-количественный» не превышает 8%.

4.3. Аналитическая чувствительность и пределы измерения

Исследование аналитической чувствительности проведено в соответствии с ГОСТ Р 51352-2013 Медицинские изделия для диагностики ин витро. Методы испытаний.

Аналитическая чувствительность не превышает 0,5 сЕд/мл.

Исследование пределов измерения проведено в соответствии с CLSI EP17-A2 Evaluation of detection capability for clinical laboratory measurement procedures

- LoB (предел холостой пробы) – 0,8 сЕд/мл;
- LoD (предел обнаружения)– 1,7 сЕд/мл;
- LoQ (предел измерения) – 4,17 сЕд/мл.

4.4. Диапазон измерения

Интервал измерения находится в пределах 4,17 сЕд/мл – 400 сЕд/мл.

4.5. Линейность

Исследование линейности проведено в соответствии с CLSI EP6-A Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures: a statistical approach

Линейный диапазон от 3 сЕд/мл до 400 сЕд/мл.

4.6. Открытие

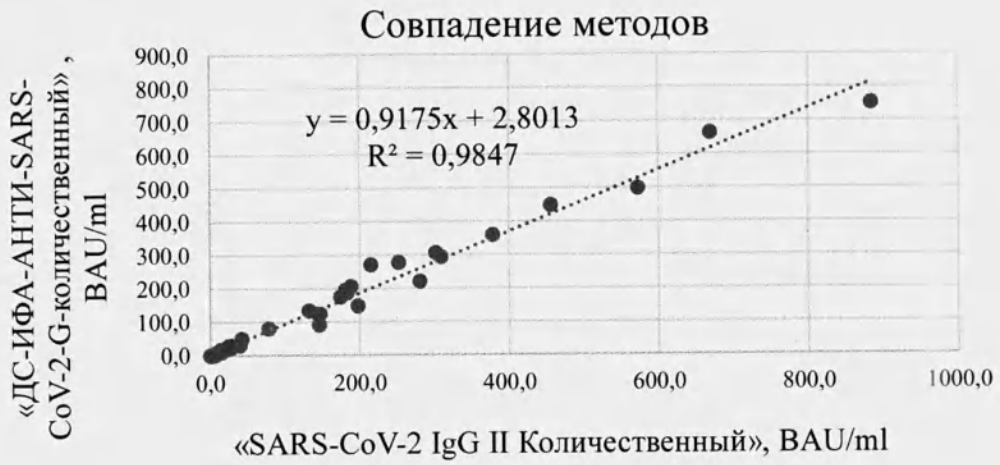
Исследование открытия проведено в соответствии с ГОСТ Р 51352-2013 Медицинские изделия для диагностики ин витро. Методы испытаний.

Значение «открытия» находится в пределах от 90% до 110%.

4.7. Сравнение методов

Было проведено сравнение «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G-количественный» с хемилюминесцентным иммуноанализом на микрочастицах (CMIA) для качественного и количественного определения IgG к RBD SARS-CoV-2 «SARS-CoV-2 IgG II Количественный», «Эбботт Ирландия Диагностическое подразделение», Ирландия. Коэффициент детерминации составил 0,9834, наклон составил 0,9175. Качественное совпадение с тестом сравнения составило 100,00% (95% CI: 93,24-100,00%).

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU



4.8. Аналитическая специфичность

• Влияние интерферирующих веществ

- Влияние потенциально интерферирующих веществ оценено при исследовании 55 образцов сыворотки/плазмы крови человека, содержащих различные концентрации интерферирующих веществ из коммерческих панелей "Panel of interfering Substances" и "Analytical Specificity Panel for SARS-CoV-2", In.vent Diagnostica GMBH, Германия. Определено, что беременность, наличие в образцах сыворотки крови антител к *Escherichia coli*, НАМА, а также ревматоидного фактора до 77,4 Ед/мл, образцов с липидемией, содержащих до 204 мг/дл (2,04 мг/мл) холестерина, не влияет на специфичность «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G-количественный».

Определено, что наличие в образцах сыворотки крови гемоглобина в концентрации до 500 мг/дл, билирубина до 60 мг/дл, триглицеридов до 100 мг/дл не влияет на эффективность набора реагентов «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G-количественный».

• Перекрестная реактивность

– Не обнаружено перекрестной реактивности при исследовании 99 образцов сыворотки крови человека, содержащих антитела к возбудителям инфекционных заболеваний: Coronavirus 229E (0/12), Coronavirus OC43 (0/11), Coronavirus HKU1 (0/18), Coronavirus NL63 (0/5), Influenza A (0/7), Influenza B (0/6), Respiratory syncytial virus (0/5), Haemophilus influenzae (0/5), HBV (0/5), HCV (0/5), HIV-1,2 (0/5), EBV (0/5), Chlamydia pneumoniae (0/5), Mycoplasma pneumoniae (0/5).

4.9. Диагностическая чувствительность

• Коммерческие панели образцов

Диагностическая чувствительность набора реагентов «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G-количественный» при тестировании образцов панелей "AccuSet™ SARS-CoV-2 Performance Panel", SeraCare (n=11), США, и "First WHO Reference Panel for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin", NIBSC code: 20/268 (n=5), Великобритания, составила 100%.

• Образцы сыворотки крови от пациентов с подтвержденным COVID-19

Для определения диагностической чувствительности были исследованы 44 клинических образца сыворотки крови пациентов с подтвержденным диагнозом COVID-19 (положительные результаты ПЦР-тестирования и КТ грудной клетки). Все образцы были отобраны не ранее чем через две с половиной недели от начала появления симптомов заболевания. Диагностическая чувствительность набора реагентов составила 100% (95% CI: 91,97%-100,0%).

Была оценена частота выявления антител в разные сроки развития заболевания, исследованы 215 образцов сыворотки крови от 152 пациентов с подтвержденным клиническим и лабораторным диагнозом COVID-19 (Таблица 1).

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Таблица 1

Распределение результатов серологического тестирования в группе пациентов с клиническим и лабораторным диагнозом COVID-19

№	Группа	Количество образцов	% положительных результатов	Ожидаемый уровень сероконверсии*, %
1	0-7 дней от появления первых симптомов	96	42,7	3,6-50,0
2	8-14 дней	62	79,0	48,7- 97,4
3	15-47 дней	57	100,0	ND

* данные приведены из обзора Flodgren GM, Immunity after SARS-CoV-2 infection. Rapid review 2020. Oslo: Norwegian Institute of Public Health, 2020.

• **Образцы сыворотки крови от пациентов в реконвалесцентном периоде COVID-19 и после выздоровления**

Протестировано 159 образцов сыворотки крови от 55 пациентов с клиническим и лабораторным диагнозом COVID-19, полученных в реконвалесцентный период заболевания и после выздоровления (59-289 день после возникновения симптомов). Процент положительных результатов составил 100,00% (95% CI: 97,64% - 100,00%).

• **Образцы сыворотки крови от вакцинированных пациентов**

Протестировано 55 образцов сыворотки крови от пациентов, вакцинированных препаратом «Гам-КОВИД-Вак» (торговое название «Спутник V»). Образцы сыворотки крови были забраны после первой дозы вакцины, через месяц после второй дозы и через два месяца после второй дозы. Процент положительных результатов составил 100,00% (95% CI: 93,47% - 100,00%).

4.10. Диагностическая специфичность

Диагностическая специфичность набора реагентов «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G-количественный» была оценена при исследовании:

– 352 образцов сыворотки крови случайной выборки доноров, забранных до ноября 2019 года. Специфичность составила 100,00% (95% CI: 98,92% - 100,00%);

– 90 образцов сыворотки крови госпитальных пациентов с неинфекционными заболеваниями, забранных до ноября 2019 года. Специфичность составила 100,00% (95% CI: 95,91% - 100,00%);

– 99 образцов сыворотки крови пациентов, забранных до ноября 2019 года, содержащих антитела к возбудителям инфекционных заболеваний: Coronavirus 229E, Coronavirus OC43, Coronavirus HKU1, Coronavirus NL63, Influenza A, Influenza B, Respiratory syncytial virus, Haemophilus influenzae, HBV, HCV, HIV-1,2, EBV, Chlamydia pneumoniae, Mycoplasma pneumoniae. Диагностическая специфичность составила 100,00% (95% CI: 96,26% - 100,00%);

Общая диагностическая специфичность набора реагентов «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G-количественный» составила 100,00% (95% CI: 99,29%-100,00%).

V. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

5.1. Нестерильное медицинское изделие для диагностики *in vitro*. Потенциальный риск применения набора – класс 2б (Приказ Минздрава России от 06.06.2012 г. N 4н).

5.2. Набор предназначен для профессионального использования в клинической лабораторной диагностике специально обученным персоналом. При работе с набором реагентов следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования к безопасности».

5.3. Реагенты набора не горючие. Внешняя упаковка не является самовоспламеняемой, взрывоопасной.

5.4. Реагенты набора не содержат вредных веществ в опасных концентрациях, за исключением реагентов, обозначенных символом «Внимание». При использовании по назначению вероятность негативного воздействия на организм человека незначительна. Растворы в представленных объёмах и концентрациях не опасны при вдыхании.

Меры первой помощи (при необходимости): При попадании на кожу/в глаза – промыть большим количеством воды. Загрязненную одежду снять. При необходимости обратиться за медицинской помощью.

5.5. Калибратор 1, Калибратор 2, Калибратор 3 приготовлены с использованием инактивированной сыворотки крови человека, не содержащей HBsAg, антиген p24 ВИЧ-1, антитела к ВИЧ-1, 2 и HCV.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

5.6. При работе с реагентами набора (Калибратор 1, Калибратор 2, Калибратор 3) и исследуемыми образцами нужно обращаться как с потенциально опасными материалами, т.к. ни один метод тестирования не может гарантировать отсутствие инфекционных агентов.

5.7. Отдельные реагенты набора приготовлены с использованием биологического материала животного происхождения.

5.8. Паспорт безопасности для набора реагентов может быть представлен по запросу клиента.

5.9. Для получения надежных результатов необходимо:
- обеспечить установленные условия хранения набора;
- строго соблюдать требования Инструкции по применению набора реагентов.

5.10. Не использовать МИ:
- при повреждении целостности упаковки реагентов;
- при несоответствии внешнего вида реагентов (см. п. III Состав набора реагентов);
- при повреждении маркировки.

VI. УТИЛИЗАЦИЯ И УНИЧТОЖЕНИЕ

6.1. Изделия в процессе хранения и транспортирования не выделяют вредных веществ, загрязняющих окружающую среду. Отходы, образующиеся в результате применения набора реагентов по назначению, установленному производителем, а также не использованные изделия (истекший срок годности, поврежденная потребительская упаковка/маркировка, поврежденная упаковка/маркировка реагентов и т.д.) относятся к медицинским отходам класса «А», «Б» и «Г» в соответствии со ст. 49 Федерального закона от 21.11.2011 г. N 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации».

6.2. Медицинские отходы подлежат сбору, обезвреживанию, размещению, хранению, транспортировке, учету и утилизации в соответствии с действующими правилами и нормативами (СанПиН 2.1.3684-21, СП 1.3.2322-08, МУ 287-113).

VII. НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ, НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ С НАБОРОМ РЕАГЕНТОВ

- Вода дистиллированная (деионизированная);
- Дозаторы пипеточные переменного объёма для отбора жидкостей;
- Наконечники одноразовые для дозаторов пипеточных;
- Инкубатор микропланшетный (термостат) (37,0 ± 1,0) °С;
- Устройство для промывания планшетов (вошер);
- Планшетный спектрофотометр (ИФА-ридер) с фильтрами 450 нм, 405 нм и 620-680 нм;
- Бумага фильтровальная лабораторная;
- Средства измерения времени (часы, таймер);
- ИФА-анализатор открытого типа с фильтрами 450 нм, 405 нм и 620-680нм (для постановки ИФА в автоматическом режиме).

VIII. ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Сбор образцов крови человека проводить в соответствии с текущей практикой методом венепункции. Для анализа использовать только нативные (неразведенные) образцы сыворотки крови человека или плазмы крови человека с различными антикоагулянтами (ЭДТА, гепарин, цитрат натрия).

При использовании плазмы с жидким антикоагулянтом (цитрат натрия) полученное значение концентрации необходимо умножить на фактор разведения.

Фактор разведения = (Объем антикоагулянта в пробирке + Общий объем крови в пробирке) / Общий объем крови в пробирке.

Во избежание гемолиза необходимо как можно быстрее отделить плазму от эритроцитов или сыворотку от сгустка. Образцы, содержащие агрегаты или осадок, осветлять центрифугированием. Для исследования могут быть использованы образцы сыворотки/плазмы крови человека, прошедшие термоинактивацию в течение 30 минут при 56 °С.

Образцы с выраженным гемолизом, гиперлипидемией и бактериальным ростом анализу не подлежат!

Образцы хранить/транспортировать в соответствии с требованиями существующих нормативных документов. Допустимо двукратное замораживание/оттаивание образцов.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

X. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

9.1. Общие требования и рекомендации:

- Нельзя использовать реагенты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме:
  - **ПР**, который взаимозаменяем во всех наборах реагентов производства ООО «НПО «Диагностические системы»;
  - **Стоп-реагента**, который может быть взаимозаменяемым в зависимости от молярности раствора;
  - другие реагенты также могут быть взаимозаменяемыми для постановки в большинстве наборов реагентов ООО «НПО «Диагностические системы»;

за более детальной информацией относительно других реагентов обратитесь в службу поддержки пользователей по телефону бесплатной линии 8-800-555-0300 (доб. 7626, 7655) или по E-mail: info@npods.ru; help-ds@npods.ru.

- Рабочие растворы готовить осторожно, исключая какое-либо загрязнение. Использовать одноразовую или химически чистую лабораторную посуду для приготовления реагентов. Не допускать контакта металлических предметов с реагентами.
- Каждая лунка Иммуносорбента предназначена для однократного использования.
- Не подвергать реагенты и рабочие растворы воздействию высоких температур или прямого солнечного света.
- Перед использованием флаконы с жидкими реагентами перемешать, не допуская вспенивания.

9.2. Реагенты, готовые к использованию:

- **Иммуносорбент.** Планшет, состоящий из 12 стрипов и рамки, упакован в фольгированный пакет. Вскрыть фольгированный пакет, отступив 1 см от края пакета, и взять необходимое количество стрипов.
- **Калибратор 0, Калибратор 1, Калибратор 2, Калибратор 3, Конъюгат, БР, РРС, ТМБ-Субстратный раствор, Стоп-реагент (0,2М).**

9.3. Реагенты, требующие предварительного приготовления:

- **Рабочий ПР:** Необходимый объём концентрата ПР (×25) развести в 25 раз соответствующим объёмом воды дистиллированной (деионизированной) и тщательно перемешать.

Расход ПР в зависимости от количества используемых стрипов

Количество используемых стрипов		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Рабочий ПР	ПР (×25), мл	3,0	6,0	9,0	12,0	15,0	18,0	21,0	24,0	27,0	30,0	33,0	40,0
	Вода, мл	72,0	144,0	216,0	288,0	360,0	432,0	504,0	576,0	648,0	720,0	792,0	960,0

X. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

10.1. Общие требования и рекомендации:

- Использовать валидированные дозаторы и оборудование.
- Использовать новый наконечник для каждого образца.
- Перед использованием набор реагентов выдержать не менее 30 мин при комнатной температуре.
- Перед использованием ванночки пластиковые для жидких реагентов ополоснуть водой дистиллированной (деионизированной).
- Не использовать одну и ту же ванночку пластиковую для внесения Конъюгата и ТМБ-Субстратного раствора.
- Избегать расплескивания образцов или растворов, содержащих образцы.
- Не допускать высыхания лунок Иммуносорбента между отдельными операциями.
- Соблюдать требования к промывке (рекомендованное количество циклов, объём раствора при наполнении, временные интервалы, эффективность отсасывания).
- Плёнки защитные для ИФА-планшетов являются одноразовыми и повторному использованию после снятия не подлежат.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

10.2. Проведение ИФА:

Этап	Процедура постановки
1	В лунки планшета для предварительного разведения сывороток внести по 90 мкл РРС и по 10 мкл исследуемых образцов, тщательно перемешивая пипетированием. При этом фиолетово-синий цвет должен измениться на голубовато-зелёный.
2	Внести в лунки Иммуносорбента по 100 мкл Калибраторов: в 2 лунки Калибратор 0, в 2 лунки Калибратор 1, в 2 лунки Калибратор 2, в 2 лунки Калибратор 3.
3	В остальные лунки Иммуносорбента внести по 90 мкл БР и по 10 мкл предварительно разведённых исследуемых образцов (конечное разведение исследуемых образцов 1:100), тщательно перемешивая пипетированием.
4	Планшет накрыть защитной плёнкой и выдержать в термостате **30 мин** при температуре (37,0 ± 1,0) °С.
5	С помощью промывочного устройства удалить содержимое лунок в ёмкость с дезинфицирующим раствором и промыть планшет **4 раза** рабочим раствором ПР. Для этого осторожно внести рабочий ПР в лунки планшета до краёв (не менее 350 мкл в лунку), затем удалить в ёмкость с дезинфицирующим раствором. При необходимости удалить остатки влаги путем отстукивания по сложенной в несколько слоёв фильтровальной бумаге. *Рекомендуется использовать автоматический микропланшетный вошер. Недостаточная промывка может неблагоприятно повлиять на точность анализа.*
6	Во все лунки планшета внести по 100 мкл Конъюгата.
7	Планшет накрыть защитной плёнкой и выдержать в термостате в течение **30 мин** при температуре (37,0 ± 1,0) °С.
8	С помощью промывочного устройства удалить содержимое лунок и промыть планшет **4 раза** рабочим ПР, как описано в п 5.
9	Во все лунки планшета внести по 100 мкл ТМБ-Субстратного раствора.
10	Планшет выдержать **20 мин** в защищённом от света месте при комнатной температуре: (18-25) °С.
11	Реакцию остановить добавлением во все лунки по 150 мкл Стоп-реагента, встряхнуть стрипы в течение 5-10 секунд и провести учет результатов при длине волны 450/620-680 нм или 405/620-680 нм. Допустимо измерять ОП при 450 нм или 405 нм. Время между остановкой реакции и измерением ОП не должно превышать 20 мин. *При отсутствии фильтра 405 нм, измерение результатов анализа проводить при длине волны 450 нм.*

Схема проведения ИФА приведена в Приложении.

По вопросам постановки на автоматических ИФА-анализаторах открытого типа обращаться в адрес производителя набора реагентов.

XI. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Реакцию учитывать, если при всех рекомендуемых режимах измерения среднее значение оптической плотности (ОПср.) в лунках с Калибратором 0 – не более 0,150, с Калибратором 3 – не менее 1,500.

По результатам измерений вычислить средние арифметические значения ОП для дубликатов калибраторов. В линейных координатах построить калибровочный график: ось абсцисс X – концентрация антител (сЕд/мл), ось ординат Y – значения средней ОП калибраторов. Для построения графика при учете при 450/620-680 нм использовать ОП калибраторов 0-2. Для построения графика при учете при 405/620-680 нм использовать ОП калибраторов 0-3.

По калибровочному графику определить концентрацию антител в исследуемых образцах.

Если ОП исследуемого образца, измеренная при 450/620-680 нм, выше, чем ОП Калибратора 2, выдается результат: «больше 100 сЕд/мл», или этот образец должен быть протестирован в большем разведении.

Если ОП исследуемого образца, измеренная при 405/620-680 нм, выше, чем ОП Калибратора 3, выдается результат: «больше 400 сЕд/мл», или этот образец должен быть протестирован в большем разведении.

Для дополнительного разведения образца использовать РРС и полученную концентрацию антител умножить на фактор разведения.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Методы математической обработки результатов.

При учете результатов с помощью встроенного или внешнего программного обеспечения спектрофотометра рекомендуется использовать следующие методы математической обработки результатов:

Марка спектрофотометра	Рекомендуемые методы математической обработки
Statfax 2100, 3200	Point-to-point
Tecan Sunrise	Point-to-point
Bio-Rad 680, iMark	4 PL-Cook-Wilkenson, Point-to-point
Multiscan EX, FC	Point-to-point

Интерпретация результатов:

Исследуемые образцы расценивать как положительные: если концентрация антител ≥ 5 сЕд/мл.

Исследуемые образцы расценивать как отрицательные: если концентрация антител < 5 сЕд/мл.

XII. ОГРАНИЧЕНИЯ ТЕСТА

- Результаты, полученные в этом или любом другом диагностическом тесте, должны быть использованы и интерпретированы только в контексте всей клинической картины.
- Диагностика инфекции COVID-19 возможна только при наличии клинических проявлений и комплекса лабораторных исследований (выявление увеличения уровня антител к SARS-CoV-2, положительный результат ПЦР).
- Отрицательный результат теста не исключает возможности наличия коронавирусной инфекции COVID-19, т.к. забор крови может быть осуществлен в период серонегативного окна.
- Положительные результаты могут быть связаны с прошлой или настоящей инфекцией коронавирусами не-SARS-CoV-2.
- При иммунодефицитных состояниях может наблюдаться задержка образования антител к SARS-CoV-2.
- Согласно инструкции по применению “First WHO International Standard for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin (human)”, NIBSC code: 20/136, при сравнении результатов тестирования одного и того же образца, выраженных в сЕд/мл (BAU/ml), необходимо учитывать класс антител и их специфичность (например, анти-RBD IgG, анти-spike IgG, анти-N IgM и др.). Результаты одного и того же образца, протестированного в тест-системах разных производителей, могут различаться. Это связано с разнообразием используемого сырья и/или формата теста.

XIII. СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

13.1	**Срок годности набора реагентов 12 месяцев*. Наборы с истекшим сроком годности использованию не подлежат.**		
13.2	**Условия хранения набора реагентов**		
	Хранить наборы при температуре от 2 до 8 °С в сухом, защищенном от света месте с использованием оборудования и помещений, обеспечивающих заданные условия, в соответствии с установленными правилами. Замораживание не допускается. Наборы, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, использованию не подлежат.		
13.3	**Условия транспортирования набора реагентов**		
	Транспортировать наборы следует крытым транспортом, с соблюдением температурного режима, установленного изготовителем, в соответствии с установленными правилами перевозок. Наборы, транспортированные с нарушением температурного режима, использованию не подлежат.		
	Наборы реагентов транспортировать при температуре от 2 до 8 °С.		
	Допускается транспортирование: при температуре от 9 до 25 °С		не более 10 сут
13.4	**Условия и сроки хранения рабочих растворов** *(хранить в чистых флаконах в защищённом от света месте)*		
	Рабочий ПР	при температуре от 2 до 8 °С	не более 28 сут
		при температуре от 18 до 25 °С	не более 14 сут

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

13.5	**Условия и сроки хранения неиспользованных реагентов набора после вскрытия**		
	Хранить в сухом, защищённом от света месте при температуре от 2 до 8 °С. Замораживание не допускается.		
	Иммуносорбент	После вскрытия неиспользованные стрипы без рамки поместить в фольгированный пакет (не удаляя силикагель!) и тщательно герметизировать. Для этого край пакета следует свернуть 2-3 раза и поместить фольгированный пакет со стрипами в полиэтиленовый пакет с замком Zip-Lock.	в течение 6 месяцев*
	БР, РРС, ПР, Стоп-реагент	Флаконы плотно закрыть винтовыми крышками и хранить в упаковке производителя	в течение срока годности набора реагентов*
	Конъюгат, Калибраторы, ТМБ-Субстратный раствор	Флаконы плотно закрыть винтовыми крышками и хранить в упаковке производителя.	в течение 2 месяцев*

* Не верифицировано данными исследования в реальном времени.

XIV. ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ И РЕМОНТ

Набор реагентов «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G-количественный» техническому обслуживанию и ремонту не подлежит.

XV. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

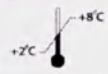
- Производитель (изготовитель): Общество с ограниченной ответственностью «Научно-производственное объединение «Диагностические системы» (ООО «НПО «Диагностические системы»), 603157, Россия, г. Нижний Новгород, ул. Коминтерна, 47. Почтовый адрес: 603093, Россия, г. Нижний Новгород, ул. Яблоневая, 22.
- Производитель гарантирует соответствие выпускаемого продукта требованиям нормативной и технической документации.
  Безопасность и качество набора реагентов гарантируются в течение всего установленного срока годности.
- Гарантии производителя не распространяются при нарушении условий хранения и транспортирования, а также в случае несоблюдения инструкции по применению.
- Рекламации на специфические и физические свойства набора направлять в адрес производителя:

ООО «НПО «Диагностические системы»
603093, Россия, г. Нижний Новгород, ул. Яблоневая, 22
Тел./факс: (831) 434-86-83, 8-800-555-0300
E-mail: info@npods.ru, www.npods.ru.

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

1) рекламационного набора;
2) всех образцов кроводач пациента;
3) протоколов исследований с использованием других тест-систем с указанием производителя, серии, сроков годности.

XVI. ОБЪЯСНЕНИЕ ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СИМВОЛОВ

IVD	Медицинское изделие для диагностики *in vitro*		
	Изготовитель		Обратитесь к инструкции по применению
REF	Номер по каталогу		Температурный диапазон

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

	Содержимого достаточно для проведения *n*-количества тестов (количество определений)		Не допускать воздействия солнечного света
	Код партии (номер серии)		Беречь от влаги
	Дата изготовления (YYYY-MM)		Внимание
	Срок годности (дата истечения срока годности в формате YYYY-MM-DD)		Верх
	Не использовать при повреждении упаковки		Хрупкое, обращаться осторожно

Директор по производству
ООО «НПО «Диагностические системы», к.б.н. **В.К. Пименов**

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Приложение

Краткая схема

(допускается использование как формы записи)

REF:	Серия:
Годен до:	Дата проведения:

Этапы проведения анализа			Отметка о выполнении
Выдержать набор реагентов		не менее 30 мин, (18-25) °С	☐
Приготовить Рабочий ПР		1 часть ПР (х25) + 24 части H_2O	☐
Манипуляции на планшете для предварительного разведения сывороток			
Внести РРС, Исследуемые образцы		внести в лунки планшета по 90 мкл по 10 мкл	☐
Внести Калибраторы		в лунки Иммуносорбента по 100 мкл: в 2 лунки-Калибратор 0, в 2 лунки-Калибратор 1, в 2 лунки-Калибратор 2, в 2 лунки-Калибратор 3.	☐
Внести БР Предварительно разведённые исследуемые образцы		в остальные лунки Иммуносорбента: по 90 мкл по 10 мкл	☐
Инкубировать		накрыть плёнкой, (37,0±1,0) °С, 30 мин	☐
Промыть Рабочим ПР		по 350 мкл 4 раза в каждую лунку	☐
Внести Конъюгат		по 100 мкл в каждую лунку	☐
Инкубировать		накрыть плёнкой, (37,0±1,0) °С, 30 мин	☐
Промыть Рабочим ПР		по 350 мкл 4 раза в каждую лунку	☐
Внести ТМБ-Субстратный раствор		по 100 мкл в каждую лунку	☐
Инкубировать		(18-25) °С, в темноте, 20 мин	☐
Внести Стоп-реагент		по 150 мкл в каждую лунку	☐
Измерить ОП		при 450/620-680 нм или 450 нм, или при 405/620-680 нм или 405 нм	☐
Построить график		f=X(Y)	☐
Провести оценку результатов			☐

Выполнил *(ФИО)*		*(подпись)*
Проверил *(ФИО)*		*(подпись)*

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Прошнуровано, пронумеровано и скреплено печатью

15 (пятнадцать) листов(а)

цифрами *прописью*

Проректор по научной работе

ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России, д.м.н. Благонравова А.С.

личная подпись

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU