



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ Медицинского изделия для диагностики *in vitro*

**Набор реагентов для количественного иммуноферментного
выявления иммуноглобулинов класса G к рецептор-
связывающему домену поверхностного гликопротеина S (Spike)
коронавируса SARS-CoV-2 (анти-RBD) «SARS-CoV-2ИФА-анти-
RBD-количественный», серия E001**

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для количественного иммунофермент-ного выявления иммуноглобулинов класса G к рецептор-связывающему домену поверхностного гликопротеина S (Spike) коронавируса SARS-CoV-2 (анти-RBD) «SARS-CoV-2ИФА-анти-RBD-количественный», серия E001, предназначен для количественного иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса G к рецептор-связывающему домену поверхностного гликопротеина S (Spike) коронавируса SARS-CoV-2 (далее SARS-CoV-2) в сыворотке и плазме крови (цитрат натрия 3,2%, литиевая соль гепарина, натриевая соль гепарина, калиевая соль ЭДТА (K_2 ЭДТА, K_3 ЭДТА)) человека.

Функциональное назначение набора «SARS-CoV-2ИФА-анти-RBD-количественный», серия E001 – вспомогательное средство в диагностике. Применяется для оценки иммунного ответа, сформированного к рецептор-связывающему домену (RBD) S-белка SARS-CoV-2 на текущую или перенесенную инфекцию, вызванную коронавирусом SARS-CoV-2, в том числе для оценки рековалесцентов - потенциальных доноров антиковидной плазмы и определения уровня поствакционного иммунитета.

Коронавирусы (*Coronaviridae*) – семейство РНК-содержащих вирусов, способных инфицировать как животных (их естественных хозяев), так и человека.

У людей коронавирусы могут вызвать целый ряд заболеваний – от легких форм острой респираторной инфекции (ОРВИ) до тяжелого острого респираторного синдрома (ТОРС).

SARS-CoV-2 – вирус с одноцепочечной РНК позитивной полярности, относящийся к роду *Betacoronavirus*.

Официальное название инфекции, вызванной SARS-CoV-2, – COVID-19 (Coronavirus disease 2019).

Длительность инкубационного периода COVID-19 может колебаться от 2 до 14 суток, однако в среднем составляет 5-7 суток.

К основным методам диагностики заражения SARS-CoV-2 относятся методы амплификации нуклеиновых кислот. Выявление антител к SARS-CoV-2 имеет вспомогательное значение для диагностики текущей инфекции и основное для оценки иммунного ответа на текущую или перенесенную инфекцию. Антитела класса А (IgA) начинают формироваться и доступны для детекции примерно со 2 дня от начала заболевания, достигают пика через 2 недели и сохраняются длительное время. Антитела класса М начинают выявляться примерно на 7-е сутки от начала заражения, достигают пика через неделю и могут сохраняться в течение 2-х месяцев и более. Примерно с 3-й недели или ранее определяются антитела класса G к SARS-CoV-2.

Выявлены четыре значимых для жизненного цикла SARS-CoV-2 структурных белка: S-белок, М-белок, N-белок, М-белок.

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.

Оценка антиковидной плазмы. С целью лечения тяжелых случаев COVID-19, рекомендуется пассивная иммунизация, а точнее применение плазмы от доноров реконвалесцентов (с

подтвержденным диагнозом COVID-19, находящихся в стадии выздоровления). Установлено, что чем выше титр IgG антител к S1 домену вируса SARS-CoV-2 в антиковидной плазме, тем выше эффективность от ее трансфузии.

Обследование вакцинированных. Определение IgG к SARS-CoV-2 через 4 недели после вакцинации позволяет подтвердить наличие поствакцинального (защитного) иммунитета. Установлено, что большая часть нейтрализующих вирус SARS-CoV-2 антител направлена именно к рецептор-связывающему домену (RBD) белка S, по этой причине рекомендуется определять антитела к RBD при оценке напряженности поствакцинального иммунитета.

1.2. Набор «SARS-CoV-2ИФА-анти-RBD-количественный», серия E001 предназначен для однократного применения.

1.3. Набор «SARS-CoV-2ИФА-анти-RBD-количественный», серия E001 предназначен для диагностики *in vitro* сотрудниками клинко-диагностических лабораторий.

1.4. Набор «SARS-CoV-2ИФА-анти-RBD-количественный», серия E001 предназначен для обследования всех групп населения без градации по демографическому или популяционному признаку.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

В наборе «SARS-CoV-2ИФА-анти-RBD-количественный», серия E001 использован вариант непрямого, двустадийного твердофазного иммуноферментного анализа. Для реализации этого варианта рекомбинантный белок SARS-CoV-2 (Spike RBD) иммобилизован на твердой фазе (внутренняя поверхность лунок). Если в образце присутствуют специфические иммуноглобулины к SARS-CoV-2, то во время первой инкубации происходит их связывание с антигеном твердой фазы. Несвязавшиеся компоненты удаляются промывкой. Во время второй инкубации антитела к иммуноглобулинам G человека, конъюгированные с пероксидазой хрена, связываются с иммунокомплексом, образовавшимся на первой стадии. Несвязавшиеся компоненты удаляются промывкой (Рисунок 1).

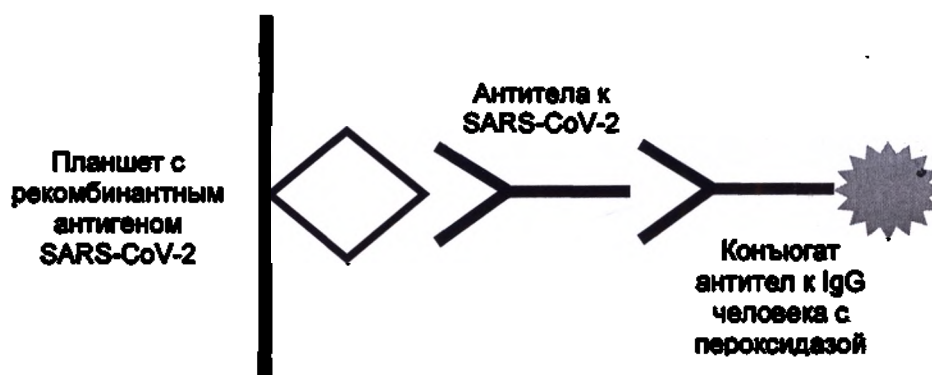


Рисунок 1. Схема анализа

Во время инкубации с раствором ТМБ происходит окрашивание раствора в лунках. Степень окраски прямо пропорциональна концентрации иммуноглобулинов G в исследуемых пробах.

2.2. Состав и комплектации набора

Набор «SARS-CoV-2ИФА-анти-RBD-количественный», серия E001 выпускается в одной комплектации на 96 определений при проведении анализа вручную при использовании всего комплекта стрипов одновременно (кат. № 200-85).

Обратите внимание, при каждой постановке анализа обязательно нужно определять оптические плотности (ОП) калибровочных проб и концентрацию контрольной пробы в соответствии со схемой маркировки лунок (п.7.2.1.1.).

Примечание:

В случае дробного применения набор может быть использован только в течение одного месяца после вскрытия компонентов набора.

В состав набора входят следующие компоненты:

- комплект из двенадцати 8-луночных стрипов в рамке с иммобилизованным на внутренней поверхности лунок рекомбинантным антигеном SARS-CoV-2, маркирован «Стрипы с рекомбинантным антигеном SARS-CoV-2» – 1 упаковка;

- калибровочные пробы на основе водно-солевого раствора, содержащие известные количества антител IgG к SARS-CoV-2, маркированы «Калибровочная проба №1», «Калибровочная проба №2», «Калибровочная проба №3», «Калибровочная проба №4», «Калибровочная проба №5», «Калибровочная проба №6» – 6 флаконов (по 1,8 мл); точные значения концентраций IgG к SARS-CoV-2 (в диапазоне 0-1000 BAU/mL) указаны на этикетках флаконов;

- контрольная проба на основе водно-солевого раствора, содержащая известное количество антител IgG к SARS-CoV-2, маркирована «Контрольная проба» – 1 флакон (1,8 мл);

- аналитический водно-солевой раствор, маркирован «Буфер А» – 1 флакон (25 мл);

- конъюгат моноклональных антител к IgG человека с пероксидазой хрена, маркирован «Конъюгат Е» – 1 флакон (14 мл);

- концентрированный водно-солевой раствор для промывки лунок, маркирован «Буфер Н (20Х)» – 1 флакон (50 мл);

- раствор тетраметилбензидина, содержащий тетраметилбензидин, перекись водорода и стабилизаторы, маркирован «Раствор ТМБ» – 1 флакон (14 мл);

- стоп-реагент, 3,59% раствор соляной кислоты, маркирован «Стоп-реагент» – 1 флакон (50 мл);

- планшет для разведения образцов, маркирован «Стрипы чистые» – 1 шт.;

- одноразовый наконечник – 16 шт.;

- одноразовая ванночка – 2 шт.;

- пленка для ИФА планшетов – 2 шт.;

- пакет закрывающийся полиэтиленовый (при упаковке стрипов в пакет из материала пленочного) – 1 шт.

В комплект поставки входят: набор реагентов, инструкция по применению, паспорт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Аналитическая чувствительность¹ - наименьшая концентрация анализируемого вещества, определяемая с помощью набора «SARS-CoV-2ИФА-анти-RBD-количественный», серия E001 не превышает 0,5 BAU/mL².

Калибраторы, входящие в состав набора, аттестованы по Первому Международному стандарту «First WHO International Standard for anti-SARS-CoV-2 Immunoglobulin (human)» производства NIBSC, код 20/136.

3.2. Аналитическая специфичность набора «SARS-CoV-2ИФА-анти-RBD-количественный», серия E001 – способность набора обнаруживать лишь тот анализ, для которого он

¹ Валидирована по ГОСТ 51352-2013

² Binding antibody units per milliliter, Единиц связывания антител на миллилитр

предназначен, в присутствии других величин, представленных в пробе.

Повышение концентрации гемоглобина до 1000 мг/дл, билирубина до 60 мг/дл или триглицеридов до 50 мг/дл в пробах не оказывает негативного воздействия на результаты анализа с помощью набора «SARS-CoV-2ИФА-анти-RBD – количественный», серия E001», но не следует использовать гемолизированные или мутные образцы.

Эквивалентность образцов сыворотки и плазмы крови человека, содержащих антикоагулянты (цитрат натрия 3,2%, литиевая соль гепарина, натриевая соль гепарина, K²ЭДТА, K³ЭДТА), подтверждена не менее чем на 5 положительных и 5 отрицательных образцах каждого вида биоматериала в анализе с помощью набора «SARS-CoV-2ИФА-анти-RBD – количественный», серия E001

Наличие перекрёстных реакций в образцах, полученных от пациентов с подтверждённым наличием IgG к гепатиту Б, гепатиту С, метапневмовирусу, вирусу Эпштейна-Барр, гриппу и парагриппу, респираторно-синцитиальному вирусу, аденовирусу, энтеровирусу, от пациентов с бактериальной пневмонией (IgG Chlamydia pneumoniae, IgG Mycoplasma pneumoniae) и с туберкулезом (IgG Mycobacterium tuberculosis) не выявлено.

Наличие перекрёстных реакций в образцах, полученных от ВИЧ-инфицированных, пациентов с другими типами коронавируса HCoV, риновирусной инфекцией и бактериальной пневмонией, вызванной Streptococcus pneumoniae не выявлено.

Диагностическая чувствительность набора «SARS-CoV-2ИФА-анти-RBD-количественный», серия E001 определена на выборке из 400 положительных образцов сыворотки и плазмы крови, полученных от пациентов с COVID-19 в анамнезе (доноров реконвалесцентной плазмы) – 100 образцов, пациентов с COVID-19 с текущей инфекцией - 100

образцов и от пациентов, привитых вакциной против COVID-19³ – 200 образцов.

Диагностическая чувствительность набора «SARS-CoV-2ИФА-анти-RBD-количественный», серия E001 на данной выборке образцов составила 100%, доверительный интервал с 95% доверительной вероятностью составил 99,3-100%.

Статистическая достоверность диагностической чувствительности для каждого вида биологического материала составила:

Клинический материал	Диагностическая чувствительность (с доверительной вероятностью 95%)
Сыворотка крови человека	98,51-100%
Плазма крови человека (цитрат натрия 3,2%, литиевая соль гепарина, натриевая соль гепарина, калиевая соль ЭДТА (K ₂ ЭДТА, K ₃ ЭДТА))	98,51-100%

3.3. Диагностическая специфичность набора «SARS-CoV-2ИФА-анти-RBD – количественный», серия E001. определена на 300 образцах сыворотки и плазмы крови, полученных от пациентов, без истории COVID-19 в анамнезе и непривитых (отрицательные по ПЦР анализу на SARS-CoV-2) – 250 образцов, в том числе с потенциально перекрестно реагирующими инфекционными агентами – 50 образцов.

Диагностическая специфичность набора «SARS-CoV-2ИФА-анти-RBD-количественный» на данной выборке образцов составила 100%, доверительный интервал с 95% доверительной вероятностью составил 99,0-100%.

³ Гам-КОВИД-Вак Комбинированная векторная вакцина для профилактики коронавирусной инфекции, вызываемой вирусом SARS-CoV-2», ЛП-006395; Спутник Лайт Векторная вакцина для профилактики коронавирусной инфекции, вызываемой вирусом SARS-CoV-2, ЛП-006993; КовиВак (Вакцина коронавирусная инактивированная цельновирионная концентрированная очищенная), ЛП-006800

Статистическая достоверность диагностической специфичности для каждого вида биологического материала составила:

Клинический материал	Диагностическая специфичность (с доверительной вероятностью 95%)
Сыворотка крови человека	98,51-100%
Плазма крови человека (цитрат натрия 3,2%, литиевая соль гепарина, натриевая соль гепарина, калиевая соль ЭДТА (K ₂ ЭДТА, K ₃ ЭДТА))	97,05-100%

3.4. Линейность – зависимость концентрации антител IgG к SARS-CoV-2 в анализируемых образцах при разведении их буфером А имеет линейный характер в диапазоне концентраций калибровочных проб №2 - №6 и составляет 90-110%.

3.5. Открытие – процентное отношение определяемого значения концентрации антител IgG к SARS-CoV-2 к расчетному значению концентрации этого анализита. Открытие с помощью набора «SARS-CoV-2 ИФА-анти-RBD-количественный», серия E001 составляет 90-110%.

3.6. Коэффициент вариации оптической плотности⁴ в одном и том же образце при определении антител IgG к SARS-CoV-2 с помощью набора «SARS-CoV-2 ИФА-анти-RBD-количественный», серия E001 не превышает 8%. Внутрисерийная воспроизводимость не превышает 8%.

⁴При измерении на одном и том же оборудовании, либо оборудовании со схожими техническими характеристиками

3.7. Ограничение теста

Пробы пациентов, которые накануне сдачи крови употребляли алкоголь, соленую, жирную и острую пищу, для анализа с помощью набора использовать не рекомендуется.

Результаты тестирования с помощью набора «SARS-CoV-2ИФА-анти-RBD-количественный» не должны использоваться в качестве единственного основания для диагностики/исключения инфекции COVID-19 или для информирования о статусе инфекции, необходимо учитывать клинические симптомы и результаты других тестов.

Ложноположительный результат тестирования с помощью набора «SARS-CoV-2ИФА-анти-RBD-количественный», серия E001 может быть связан с прошлой или настоящей инфекцией, вызванной другими коронавирусами, такими как коронавирус HKU1, NL63, OC43 или 229E.

Отрицательный результат тестирования с помощью набора «SARS-CoV-2ИФА-анти-RBD-количественный», серия E001 не исключает заражение SARS-CoV-2, особенно у лиц, бывших в контакте с вирусом.

На начальной стадии развития инфекции, вызванной коронавирусом SARS-CoV-2 (от момента заражения до проявления первых симптомов COVID-19), возможно получение ложноотрицательного результата с помощью набора «SARS-CoV-2ИФА-анти-RBD-количественный», так как количество иммуноглобулинов класса G в анализируемых образцах может быть ниже определяемого набором уровня. По этой причине рекомендуется провести тест повторно через 14 дней.

Ложноотрицательные результаты могут быть получены при обследовании пациентов со сниженным иммунитетом.

ложноположительные и ложноотрицательные результаты могут также появляться при нарушении правил проведения лабораторных исследований на всех этапах.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора — класс 2Б (согласно Приказу Министерства здравоохранения РФ №4н от 06.06.2012 г.).

4.2. Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

4.3. При работе с набором следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 и СанПиН 3.3686-21 "Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней".

4.4. Набор предназначен для профессионального применения персоналом, имеющим квалификацию для выполнения диагностических исследований *in vitro* после специального образования и обучения. Исследования могут выполнять специалисты не моложе 18 лет с высшим и средним медицинским, биологическим или иным образованием (врач КДЛ, биолог, медицинский технолог).

4.5. Перед началом работы ознакомиться с инструкцией и применять набор строго по назначению.

4.6. В состав компонентов набора входят соляная кислота в концентрации 3,59%, а также консервант в концентрации 0,01%. При попадании компонентов с ними на кожу: смыть большим количеством воды с использованием мыла. При попадании в глаза - промыть глаза водой. При попадании в желудок - прополоскать рот водой. Получить консультацию у врача.

4.7. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, разрешенные к применению на территории РФ, т.к. производные крови, входящие в состав набора, и исследуемые образцы являются потенциально

инфицированным материалом, способным длительное время сохранять и передавать возбудителей различных вирусных инфекций.

4.8. Химическая посуда и оборудование, которые используются в работе с набором, должны быть соответствующим образом маркированы и храниться отдельно. Поскольку ИФА чувствителен к ионам металлов, контакт металлических предметов с компонентами набора недопустим.

4.9. Для обработки посуды и оборудования рекомендуется использовать дезинфицирующие средства, изготовленные на основе третичных аминов, четвертичных аммониевых соединений (ЧАС) или спиртов и разрешенные к применению на территории РФ. Использование дезинфицирующих средств на основе активного кислорода и хлора возможно лишь на предстерилизационном этапе, с последующей термической стерилизацией.

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

4.11. Убирать и дезинфицировать разлитые образцы или реактивы, используя дезинфицирующие средства в соответствии с МУ 287-113.

4.12. Удалять неиспользованные реактивы в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21.

4.13. Все использованные одноразовые материалы и остатки образцов должны быть подвергнуты обработке дезинфицирующими средствами с последующей утилизацией в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 и МУ 287-113.

4.14. После использования стрипы, калибровочные и контрольные пробы, образцы и все расходные материалы, которые контактировали с образцами во время обработки, хранения или анализа (флаконы, перчатки, наконечники и т.д.) должны собираться отдельно и стерилизоваться в

автоклаве с последующей утилизацией в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21. Вместо автоклавирования наконечники могут быть стерилизованы дезинфицирующим средством, после утилизированы в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21.

4.15. Во время процедуры ручной промывки планшета содержимое лунок необходимо выбрасывать в контейнер с дезинфицирующим раствором на основе третичных аминов, ЧАС или спиртов.

4.16. Не использовать набор по истечении срока годности.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность раствора в лунках при длинах волн 450 нм и 600-655 нм⁵;
- термостат, поддерживающий температуру +37 °C³;
- автоматическое промывочное устройство (вошер) для иммунологических планшетов^{3,6};
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными одноразовыми наконечниками⁵ с изменяемым объемом отбора жидкостей: на 5–50 мкл; на 20–200 мкл; на 100–1000 мкл; на 1000–5000 мкл;

⁵Допускается использование автоматических анализаторов для ИФА открытого типа с аналогичными характеристиками, за информацией о необходимой комплектации набора и программе проведения анализа обращайтесь к производителю набора «SARS-CoV-2 ИФА-анти-RBD-количественный» в ООО «Компания Алкор Био», тел/факс: (812) 677-8779

⁶При использовании автоматического промывочного устройства необходимо тщательно следить за его состоянием, периодически проверять емкости и соединительные шланги для промывочных буферов на наличие микробиологического зароста и других загрязнений, проводить техническое обслуживание в соответствии с рекомендациями производителя оборудования

- пипетка полуавтоматическая восьмиканальная со сменными одноразовыми наконечниками⁷, позволяющая отбирать объемы жидкости до 300 мкл;
- цилиндр мерный, позволяющий отмерять 100-1000 мл;
- стакан стеклянный подходящего объема;
- ванночки для внесения реагентов восьмиканальной пипеткой;
- вода дистиллированная или очищенная деионизованная⁸;
- бумага фильтровальная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- дезинфицирующий раствор на основе третичных аминов, ЧАС или спиртов;
- контейнер для дезинфекции.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Забор крови из вены осуществляют с соблюдением правил асептики. После формирования сгустка сыворотку отделяют путем центрифугирования. Забор крови для получения плазмы осуществляют в пробирку, содержащую антикоагулянт (цитрат натрия 3,2%, литиевая соль гепарина, натриевая соль гепарина, калиевая соль ЭДТА (K_2 ЭДТА, K_3 ЭДТА)). После центрифугирования сыворотку или плазму переносят в отдельную пробирку.

6.2. Для проведения анализа не следует использовать гемолизированную или мутную сыворотку и плазму, а также образцы сыворотки, содержащие азид натрия.

6.3. Образцы сыворотки и плазмы крови разрешается хранить при температуре +2...+8 °С не более 5-ти суток; при необходимости более длительного хранения рекомендуется

⁷Повторное использование наконечников не допускается. При внесении каждого образца необходимо использовать новый наконечник

⁸В соответствии с ГОСТ 6709-72 необходимо периодически контролировать качество воды, используемой для приготовления растворов

аликвотировать образец и хранить в замороженном виде при температуре -20°C и ниже. Не допускается повторное замораживание образца.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Подготовка реагентов

7.1.1. Стрипы. Перед вскрытием пакет со стрипами необходимо выдержать при комнатной температуре ($+18...+25^{\circ}\text{C}$) (далее КТ) не менее 30 минут. Вскрыть пакет и переставить на свободную рамку необходимое количество стрипов.

7.1.2. Калибровочные пробы и контрольная проба готовы к использованию.

7.1.3. Буфер А готов к использованию.

7.1.4. Конъюгат Е готов к использованию.

7.1.5. Промывочный раствор. Необходимое количество буфера Н (20X) развести дистиллированной или очищенной деионизованной водой в 20 раз.

Например: 50 мл буфера Н (20X) + 950 мл воды. Тщательно перемешать, избегая пенообразования.

7.1.6. Раствор тетраметилбензидина (ТМБ) готов к использованию.

7.1.7. Стоп-реагент готов к использованию.

7.1.8. Все реагенты перед проведением анализа должны быть тщательно перемешаны и доведены до КТ.

7.1.9. Разведение исследуемых образцов

Если по предварительным данным концентрация антител IgG к SARS-CoV-2 в исследуемом образце выше КП6, образец следует развести буфером А в 10 раз.

10-кратное разведение. Для такого разведения в чистую лунку планшета для разведения образцов внести 90 мкл буфера А и добавить 10 мкл исследуемого образца, тщательно перемешивая содержимое лунки с помощью пипетирования. Цвет раствора при этом изменится со светло-зеленого на голубой.

Если для исследуемого образца 10-кратного разведения недостаточно, то такой образец следует дополнительно развести буфером А еще в 10 раз.

100-кратное разведение. Для такого разведения в две чистые лунки планшета для разведения образцов (например, в лунки В1, С1) внести 90 мкл буфера А, в лунку В1 добавить 10 мкл исследуемого образца без разведения, тщательно перемешать (как описано выше). Затем в лунку С1 добавить 10 мкл образца из лунки В1, вновь тщательно перемешать.

Примечания:

Лунки планшета для разведения образцов допустимо использовать лишь однократно, повторное использование лунок запрещено.

Разведенные образцы хранению не подлежат, для повторного анализа требуется подготовка нового разведения образца.

7.2. Постановка анализа

7.2.1. Ручная постановка

На странице 23 приведена схема проведения анализа.

7.2.1.1. Составить протокол маркировки лунок.

Лунки промаркировать следующим образом:

A1, A2 – №1 - для измерения величины ОП КП №1;

B1, B2 – №2 - для измерения величины ОП КП №2;

C1, C2 – №3 - для измерения величины ОП КП №3;

D1, D2 – №4 - для измерения величины ОП КП №4;

E1, E2 – №5 - для измерения величины ОП КП №5;

F1, F2 – №6 - для измерения величины ОП КП №6;

G1, G2 – №7 - для измерения величины ОП контрольной пробы.

Примечание: Рекомендовано проведение анализа в дубликатах, это позволяет уменьшить вероятность ошибок и получить достоверные результаты. Допускается использование набора для анализа образцов в монопликатах при условии своевременной поверки и обслуживания измерительного и промывочного оборудования, что позволяет в случае неисправности свести к минимуму их негативное влияние на результат анализа.

7.2.1.2. Внести в соответствующие лунки по 100 мкл калибровочных проб, в остальные лунки (в том числе в лунки для контрольной пробы) внести по 90 мкл аналитического буфера и по 10 мкл исследуемых образцов, осторожно перемешивая содержимое лунок с помощью пипетирования. Цвет раствора при этом изменится со светло-зеленого на голубой. Заклеить планшет пленкой.

Примечание: общее время внесения калибровочных, контрольных проб и исследуемых образцов не должно превышать 15 минут, иначе время инкубации различных образцов будет значительно различаться, что приведет к неправильным результатам.

7.2.1.3. Инкубировать стрипы 30 минут при температуре +37 °С (предварительно встряхнуть рамку аккуратным простукиванием в течение 20-30 сек или на шейкере в течение 5-10 сек при комнатной температуре).

7.2.1.4. По окончании первой инкубации удалить содержимое лунок в контейнер с дезинфицирующим раствором на основе третичных аминов, ЧАС или спиртов и промыть лунки 4 раза. При каждой промывке во все лунки добавлять по 300 мкл промывочного раствора, приготовленного по п.7.1.5., и выдержать в течение 30 сек с последующим декантированием. После последнего декантирования тщательно удалить остатки жидкости из лунок постукиванием рамки со стрипами в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.

Допускается промывка лунок при помощи автоматического промывочного устройства. При автоматической промывке необходимо заполнять лунки полностью и следить за качеством аспирации.

7.2.1.5. Внести во все лунки по 100 мкл Конъюгата Е. Заклеить планшет пленкой.

7.2.1.6. Инкубировать стрипы 30 минут при температуре +37 °С.

7.2.1.7. По окончании второй инкубации удалить содержимое лунок декантированием и промыть лунки согласно п.7.2.1.4.

7.2.1.8. Немедленно внести во все лунки по 100 мкл раствора ТМБ и инкубировать стрипы в темноте в течение 20 минут без шейкирования при КТ.

7.2.1.9. Добавить во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор ТМБ, по 100 мкл стоп-реагента для остановки ферментной реакции, встряхнуть рамку аккуратным постукиванием в течение 20-30 секунд или на шейкере в течение 5-10 секунд при комнатной температуре.

7.2.1.10. Если невозможно измерить оптическую плотность в лунках планшета непосредственно после выполнения п.7.2.1.9., то следует иметь в виду, что окраска в лунках планшета стабильна не более 20 минут при КТ.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

8.1. После выполнения ручной постановки измерить на фотометре вертикального сканирования оптическую плотность в лунках при длине волны 450 нм, рекомендуется использование референсного фильтра 600-655 нм.

При регистрации результатов необходимо вычитать ОП, полученную на референсном фильтре, из ОП, полученной при 450 нм, для каждой лунки.

8.2. Критерии достоверности анализа

Результаты анализа считают достоверными при соблюдении следующих условий:

- значение ОП в лунках содержащих КП №1, должно быть не более 0,1 ед.ОП;
- значение ОП в лунке, содержащей КП №6, должно быть не менее 1,5 ед.ОП;
- концентрация контрольной пробы должна находиться в диапазоне, указанном на этикетке соответствующего флакона.

В случае, если полученные данные выходят за пределы указанных значений, результаты анализа считают недостоверными и анализ повторяют.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

9.1. Построить калибровочный график зависимости оптических плотностей от концентрации антител IgG к SARS-CoV-2 (BAU/mL) в калибровочных пробах (Рисунок 2). Внешний вид графика зависит от способа преобразования осей.

Примечания:

Для построения калибровочного графика рекомендуется использовать программное обеспечение «ИФА Мастер».

9.2. Определить содержание антител IgG к SARS-CoV-2 в пробах по калибровочному графику. В случае предварительного разведения образцов необходимо полученную в результате анализа концентрацию образца умножить на соответствующий фактор разведения (в 10 или в 100 раз, см. п.7.1.9.).

9.3. Экстраполяция калибровочного графика для значений концентрации антител IgG к SARS-CoV-2, превышающих номинал КП №6, не допускается. Значение концентрации для таких образцов принимается как «выше значения КП №6» и для точного определения концентрации антител IgG к SARS-CoV-2 необходимо выполнить разведение образцов в соответствии с п.7.1.9.

9.4. Образцы с концентрацией ниже 10 BAU/mL признаются отрицательными (не содержащими антитела IgG к SARS-CoV-2), более или равно 10 BAU/mL – положительными. Образцы с концентрацией 10 BAU/mL рекомендуется проанализировать повторно в дубликатах для элиминации ложноположительных результатов.

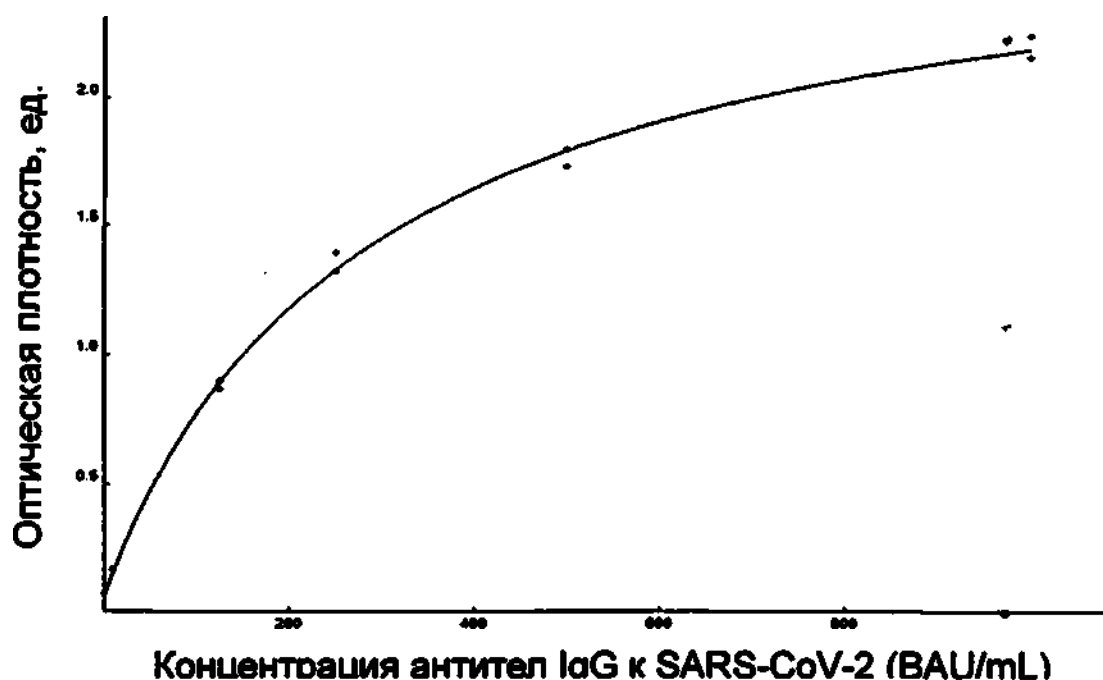


Рисунок 2. Типичный калибровочный график
Запрещается использовать для оценки реальных экспериментальных данных!

Учитывая, что каждый иммуноферментный набор реагентов для диагностики коронавируса имеет свои особенности и концентрация антител IgG к SARS-CoV-2 в одном и том же образце может быть определена с различиями в наборах разных производителей, необходимо исследовать образцы крови каждого больного в динамике и проводить исследование в наборе одного производителя. Результаты, полученные в разное время, в разных лабораториях или при использовании тест-систем разных производителей, не могут сравниваться количественно, а только по диагнозу (т.е., как положительные или отрицательные).

Исключения случайной ошибки добиваются перестановкой в дубликатах. Для прослеживания динамики заболевания образцы крови, полученные от одного пациента, например, с интервалом 2 – 3 недели, должны тестироваться одновременно (в одной постановке). Для получения корректных данных при сравнительной оценке рекомендуется аликвотировать образцы крови и хранить в

соответствии с п.6.3. Перед проведением анализа аликвоту вынуть из морозильной камеры, дать нагреться до комнатной температуры, тщательно перемешать и отцентрифугировать.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Набор «SARS-CoV-2ИФА-анти-RBD-количественный», серия E001 должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре $+2...+8^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности.

Срок годности набора — 15 месяцев⁹.

10.2. Набор следует вынимать из холодильника не более чем за 1 час, но не менее, чем за 30 минут до проведения анализа.

10.3. В случае дробного использования компоненты набора необходимо хранить следующим образом:

- стрипы поместить в пакет с этикеткой (при упаковке стрипов в пакет из материала пленочного), который затем вложить в пакет закрывающийся полиэтиленовый и герметично закрыть. Хранить в герметично закрытом пакете при температуре $+2...+8^{\circ}\text{C}$ не более одного месяца;

- калибровочные пробы, контрольную пробу, буфер А и конъюгат Е после вскрытия флаконов хранить при температуре $+2...+8^{\circ}\text{C}$ не более одного месяца;

- раствор ТМБ после вскрытия флаконов хранить при температуре от $+2...+8^{\circ}\text{C}$ не более шести месяцев;

- стоп-реагент и концентрированный водно-солевой раствор для промывки лунок после вскрытия флаконов хранить при температуре от $+2...+8^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности;

- водно-солевой раствор для промывки лунок, подготовленный к использованию, хранить закрытым при КТ

⁹На основании данных по ускоренной оценке стабильности (ГОСТ Р ИСО 23640-2015) срок годности набора составляет 15 месяцев (не подтверждено исследованиями в реальном времени)

не более 5 суток или при температуре от +2...+8 °С не более 4 недель.

10.4. При использовании набора для проведения нескольких независимых анализов необходимо иметь в виду следующее:

- набор рассчитан не более чем на 6 дробных постановок;
- для каждого независимого анализа необходимо определение ОП калибровочных проб и концентрации контрольной пробы;
- запрещается возвращать избыток буфера А, конъюгата Е, ТМБ и стоп-реагента из ванночек во флаконы;
- из флаконов с открытыми крышками происходит испарение, которое может привести к получению некорректных результатов при повторном использовании реагентов. После окончания внесения реагентов в лунки планшета на каждой стадии анализа необходимо плотно закрывать крышки флаконов и помещать в рекомендуемые условия хранения.

10.5. Не допускается смешивание или одновременное использование реагентов из разных партий, за исключением ТМБ, стоп-реагента и концентрированного промывочного раствора, входящих в состав наборов «SARS-CoV-2ИФА-анти-RBD-количественный», серия E001, «SARS-CoV-2ИФА-IgG», «SARS-CoV-2ИФА-IgM», «SARS-CoV-2ИФА-суммарные антитела». Для данных тест-систем ТМБ, стоп-реагент и концентрированный промывочный раствор являются универсальными реагентами.

10.6. Запрещается смешивать растворы ТМБ с различными буквенными обозначениями в сериях.

10.7. Запрещается использовать промывочный раствор, стоп-реагент и ТМБ из наборов реагентов других фирм-производителей.

10.8. Запрещается использовать промывочные растворы производства Алкор Био с буквенными обозначениями, отличными от указанного в инструкции к набору.

10.9. К работе с набором допускается только специально обученный персонал.

10.10. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции.

11. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

11.1. Транспортирование наборов должно производиться всеми видами крытого транспорта при температуре +2...+8 °С.

Транспортирование изделий при температуре +2...+8 °С должно производиться в ёмкостях или при помощи холодильных установок, обеспечивающих регламентированный температура-турный режим.

Допускается транспортирование набора при температуре до +25 °С не более 15 суток, в том числе при температуре +37 °С не более 1 суток.

11.2. Набор, транспортированный с нарушением температура-турного режима, применению не подлежит.

12. БЕЗОПАСНАЯ УТИЛИЗАЦИЯ

12.1. При утилизации наборы с истекшим сроком годности должны быть подвергнуты обработке дезинфицирующими средствами в соответствии с требованиями МУ 287-113.

12.2. При использовании набора образуются отходы классов А, В и Г, которые утилизируются в соответствии с СанПин 2.1.3684-21.

13. ИНФОРМАЦИЯ О ПРОИЗВОДИТЕЛЕ

По вопросам качества набора «SARS-CoV-2 ИФА-анти-RBD-количественный» обращаться в ООО «Компания Алкор Био» по адресу: 192148, г. Санкт-Петербург, Железнодорожный проспект, д. 40 лит. А, тел/факс: 8(812) 677-8779.

Бесплатный телефон по России: 8-800-234-37-79.

14. СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ НА ЭТИКЕТКАХ

	Только для <i>in vitro</i> диагностики		Количество тестов
	Номер по каталогу		Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению
	Номер серии		Срок годности
	Производитель		Хранить при
	Дата изготовления		Биологический риск
	Ознакомьтесь с инструкцией		Беречь от влаги

Инструкция разработана в соответствии с ТУ 21.20.23-573-98539446-2021.

Примечания к Схеме проведения анализа (стр. 23):

КП – калибровочные пробы;

ОП – оптическая плотность;

КТ – комнатная температура (+18...+25 °C);

ПО – программное обеспечение.

СХЕМА ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА (только для ручной постановки)

№	Стадия (операция)	Реагенты	Температура	Время	Примечания	
1	Внесение реагентов	100 мкл КП	КТ (+18...+25 °С)	Внесение КП и исследуемых образцов не более 15'	Буфер А вносится только в лунки для контрольной пробы и исследуемых образцов Перемешивать содержимое лунок с помощью пипетирования	
2		90 мкл буфера А				
3		10 мкл контрольной пробы и исследуемых образцов				
4	Инкубация №1	—	+37 °С	30'	Термостат	
5	Промывка	300 мкл в лунку 1*буфера Н (4 раза) с задержкой между циклами 30 с			1* промывочный раствор = 50 мл буфера Н (20Х) + 950 мл Н ₂ О	
6	Внесение конъюгата	100 мкл Конъюгата Е			Во все лунки	
7	Инкубация №2	—	+37 °С	30'	Термостат	
8	Промывка	300 мкл в лунку 1*буфера Н (4 раза) с задержкой между циклами 30 с			1* промывочный раствор = 50 мл буфера Н (20Х) + 950 мл Н ₂ О	
9	Внесение хромогена	100 мкл ТМБ			Во все лунки	
10	Инкубация с ТМБ	—	КТ	20'	Инкубация в темноте	
11	Остановка ферментной реакции	100 мкл стоп-реагента			Во все лунки	
12	Перемешивание		КТ	20 – 30''	по выбору	Постукивание рамки
				5 – 10''		Шейкер
13	Регистрация результатов	•		В течение 20' после остановки ферментной реакции	•	Фотометр, 450 и 600-655 нм
14	Обработка результатов				Калькулятор, соответствующее ПО	

SAARS-CoV-2ИФА-анти-RBD-количественный

В-1.2021-09

Прошито, пронумеровано, скреплено
печатью 24 (двадцать четыре)
лист 24

Генеральный директор
ООО «Компания Алкор Био»
_____ Д.Г. Полинцев

