

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор
ООО «ИМБИАН ЛАБ»



В.В. Осипова
2021 г.

Инструкция по применению медицинского изделия для диагностики *in vitro*

**Набор реагентов для иммуноферментного количественного
определения иммуноглобулинов класса G (IgG) к поверхностному
гликопротеину S (spike) коронавируса SARS-CoV-2
«SARS-CoV-2 IgG spike-количественный-ИМБИАН-ИФА»,
ТУ 21.20.23-103-41390295-2021**

1. НАЗНАЧЕНИЕ НАБОРА

Набор реагентов для иммуноферментного количественного определения иммуноглобулинов класса G (IgG) к поверхностному гликопротеину S (spike) коронавируса SARS-CoV-2 «SARS-CoV-2 IgG spike-количественный-ИМБИАН-ИФА», ТУ 21.20.23-103-41390295-2021 предназначен для определения количества антител класса G (IgG) к поверхностному гликопротеину S (spike) коронавируса SARS-CoV-2 в сыворотке и плазме крови (с гепарином, ЭДТА и цитратом натрия) человека методом твердофазного непрямого иммуноферментного анализа (ИФА).

Показания к применению: набор реагентов «SARS-CoV-2 IgG spike-количественный-ИМБИАН-ИФА» рекомендуется применять для диагностики *in vitro* в следующих случаях:

- для оценки интенсивности гуморального иммунного ответа на текущую или перенесенную инфекцию, вызванную вирусом SARS-CoV-2,
- при необходимости определения уровня поствакцинального иммунитета, сформированного на поверхностный гликопротеин S вируса SARS-CoV-2 (включая RBD-домен).

Область применения — клиническая лабораторная диагностика.

Противопоказания к применению: термин «противопоказания» не применим для медицинских изделий для диагностики *in vitro*. Информация об остаточных рисках, связанных с применением медицинского изделия, включена в информацию, поставляемую производителем, как ограничения применения и меры предосторожности.

Предназначенный пользователь: набор реагентов «SARS-CoV-2 IgG spike-количественный-ИМБИАН-ИФА» 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. ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗДЕЛИЯ

Таблица 1. Состав набора реагентов «SARS-CoV-2 IgG spike-количественный-ИМБИАН-ИФА»:

Название компонента	Описание компонента	Количество
Иммуносорбент	Запаянный в фольгированный пакет 96-луночный разборный полистироловый планшет для иммунологических реакций с плоским дном (12 стрипов по 8 лунок) с сорбированным рекомбинантным антигеном, иммунологически идентичным антигену SARS-CoV-2.	1 шт.
KO ₀ *	Инактивированный калибровочный образец на основе сыворотки крови человека, не содержащий IgG антител к SARS-CoV-2. Готов к применению. Прозрачная бесцветная жидкость.	1 флакон (2 мл)
KO ₁₀ *	Инактивированный калибровочный образец на основе сыворотки крови человека, содержащий 10 BAU/мл IgG антител к SARS-CoV-2. Готов к применению. Прозрачная жидкость бледно-желтого цвета	1 флакон (2 мл)
KO ₁₂₅ *	Инактивированный калибровочный образец на основе сыворотки крови человека, содержащий 125 BAU/мл IgG антител к SARS-CoV-2. Готов к применению. Прозрачная жидкость желтого цвета.	1 флакон (2 мл)
KO ₅₀₀ *	Инактивированный калибровочный образец на основе сыворотки крови человека, содержащий 500 BAU/мл IgG	1 флакон (2 мл)

Название компонента	Описание компонента	Количество
	антител к SARS-CoV-2. Готов к применению. Прозрачная жидкость ярко жёлтого цвета.	
К(+)	Инактивированный контрольный образец на основе сыворотки крови человека, содержащий IgG антитела к SARS-CoV-2 в пределах, указанных в паспорте и на этикетке флакона, BAU/мл. Готов к применению. Прозрачная жидкость красного 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 разведения	1 флакон (30 мл)
БР	Буферный раствор. Раствор для разведения образцов. Опалесцирующая жидкость синего цвета.	1 флакона (20 мл)
РК	Раствор конъюгата. Раствор мышиных моноклональных антител против IgG человека с пероксидазой хрена. Готов к применению. Прозрачная жидкость зеленого цвета.	1 флакон (13 мл)
ТМБ	Раствор тетраметилбензидина. Прозрачная бесцветная жидкость. Готов к применению	1 флакон (13 мл)
Стоп-реагент	Прозрачная бесцветная жидкость. Готов к использованию	1 флакон (20 мл)
Пленка для заклеивания планшета		3 шт.
Трафарет для построения калибровочного графика		1 шт.
Инструкция по использованию набора реагентов		1 шт.

* калибровочные образцы аттестованы относительно стандарта WHO International Standard First WHO International Standard for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin (human), NIBSC code: 20/136. BAU – «binding antibody units» («единицы связывающих антител»).

2.1. Число анализируемых проб

Набор реагентов рассчитан на 96 определений, включая калибровочные и контрольный образцы, с использованием анализатора автоматического иммуноферментного открытого типа или с помощью ручной постановки анализа. Комплект набора реагентов состоит из однокомпонентных (готовых к применению) растворов, предварительное разведение образцов не требуется.

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

2.3. Принцип метода

Принцип действия набора реагентов — непрямой двухстадийный иммуноферментный анализ.

На поверхности лунок полистиролового планшета сорбирован рекомбинантный антиген, иммунологически идентичным поверхностному S-антигену (spike) вируса SARS-CoV-2. В лунки вносятся контрольный образец, калибровочные и анализируемые образцы. При наличии в образцах специфических IgG антител к вирусу SARS-CoV-2 образуется комплекс (антиген-антитело), выявляемый посредством последующей инкубации с раствором конъюгата (вторичные антитела к IgG человека, меченные пероксидазой хрена). При добавлении раствора тетраметилбензидина в результате ферментативной реакции содержимое лунок планшета окрашивается. Ферментативная реакция останавливается внесением стоп-реагента. Интенсивность окрашивания (оптическая плотность), пропорциональная количеству IgG к

антигенам вируса SARS-CoV-2 в анализируемом образце, регистрируется с помощью спектрофотометра.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Аналитическая чувствительность (предел обнаружения):

Минимально определяемая концентрация IgG к SARS-CoV-2 — не более 0,5 BAU/мл (при исследовании с использованием стандарта WHO International Standard First WHO International Standard for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin (human), NIBSC code: 20/136. BAU – «binding antibody units» («единицы связывающих антител»).

3.2. Повторяемость

В рамках проведения внутренних испытаний повторяемость определялась для трех положительных образцов в 30 повторях на девяти сериях Набора реагентов. Внутрисерийный и межсерийный коэффициенты вариации измерения ОП не превысили 8%.

В рамках проведения клинических испытаний повторяемость оценивали на трёх наборах двух серий, анализируя в 30 повторях три образца сыворотки с различной концентрацией IgG антител к S-белку SARS-CoV-2. Внутрисерийный коэффициент вариации результатов образцов каждого типа в 30 повторях одной серии не превышает 8%. Межсерийный коэффициент вариации результатов в одном и том же образце для каждого типа образца не превысил 8%.

3.3. Перекрестная реактивность

В рамках внутренних клинических испытаний перекрестную реактивность набора реагентов изучали на 130 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 – MERS-CoV, SARS-CoV HCoV (OC43, 229E и NL63), респираторно-синцитиальный вирус типа А и В, вирус гриппа А и В, аденовирус (серотип 3, 4, 7, 8, 14, 21), риновирус, вирус Коксаки В4, вирусы парагриппа человека (тип 1, 2, 3, 4а и 4b), метапневмовирус человека (hMPV), энтеровирус, вирус Эпштейна-Барра, вируса кори, цитомегаловирус, ротавирус, норовирус, вирус эпидемического паротита, вирус ветряной оспы, эховирусы, герпесвирусы человека, парамиксовирус, А-Н1N1, А-Н3N2, вирус птичьего гриппа, вирус Эбола. Кроме того, были исследованы патогены бактериальной природы: *Bordetella pertussis*, *Chlamydia pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Haemophilus influenza*, *Mycoplasma pneumonia*, *Streptococcus pneumonia*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Candida albicans*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Neisseria sp.*(*Neisseria lactamica*), - *Escherichia coli*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Streptococcus salivarius*, *Hemophilus parahaemolyticus*, *Proteus vulgaris*, *Moraxella catarrhalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Fusobacterium necrophorum*, *Aspergillus niger*, *Nocardia asteroides*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*.

В рамках клинических испытаний перекрестную реактивность набора реагентов изучали на 130 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 – MERS-CoV, SARS-CoV HCoV (OC43, 229E и NL63), респираторно-синцитиальный вирус типа А и В, вирус гриппа А и В, аденовирус (серотип 3, 4, 7, 8, 14, 21), риновирус, вирус Коксаки В4, вирусы парагриппа человека (тип 1, 2, 3, 4а и 4b), метапневмовирус человека (hMPV), энтеровирус, вирус Эпштейна-Барра, вируса кори, цитомегаловирус, ротавирус, норовирус, вирус эпидемического паротита, вирус ветряной оспы, эховирусы, герпесвирусы человека, парамиксовирус, А-Н1N1, А-Н3N2, вирус птичьего гриппа, вирус Эбола. Кроме того, были исследованы патогены бактериальной природы: *Bordetella pertussis*, *Chlamydia pneumoniae*, *Legionella pneumophila*.

Haemophilus influenza, Mycoplasma pneumonia, Streptococcus pneumonia, Mycobacterium tuberculosis, Streptococcus pyogenes, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Candida albicans, Staphylococcus saprophyticus, Neisseria sp.(Neisseria lactamica), - Escherichia coli, Staphylococcus haemolyticus, Streptococcus salivarius, Hemophilus parahaemolyticus, Proteus vulgaris, Moraxella catarrhalis, Klebsiella pneumoniae, Fusobacterium necrophorum, Aspergillus niger, Nocardia asteroides, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa.

ИФА не обнаружил неспецифических взаимодействий рекомбинантных антигенов вируса SARS-CoV-2 с антителами различных инфекционных агентов.

3.4. Интерферирующие вещества

В рамках клинических испытаний оценку влияния интерферирующих веществ на результат анализа проводили на образцах сыворотки крови человека, содержащих и не содержащих IgG к S-белку SARS-CoV-2.

На результат анализа не оказывают влияние гемоглобин (от 100 до 300 г/л), холестерин (от 1,5 до 4 г/л), общий белок (от 60 до 150 г/л), глюкоза (от 800 до 2000 мг/л), триглицериды (от 1,5 до 10 г/л), этанол (от 100 до 2000 мг/л), мочевины (от 90 до 800 мг/л), молочная кислота (от 63 до 400 мг/л) и общий билирубин (от 10 до 300 мг/л) в клинических образцах.

3.5. Линейность

Линейность для образцов с известной концентрацией IgG к S-белку в 10 повторях находилась в пределах 90-110 %

– при учете результатов анализа при длине волны 405 нм — в диапазоне концентраций IgG к SARS-CoV-2 10-500 BAU/мл;

– при учете результатов анализа при длине волны 450 нм — в диапазоне концентраций IgG к SARS-CoV-2 10-125 BAU/мл.

3.6. Тест на «открытие»

«Открытие» для образцов с известной концентрацией IgG к S-белку в 10 повторях находилось в пределах 90-110 %;

3.7. Правильность

Значение оптической плотности калибровочных образцов удовлетворяет условиям:

- $КО_{500} \geq 1,5$ о.е. (при учёте результатов анализа при длине волны 405 нм);
- $КО_{125} \geq 1,5$ о.е. (при учете результатов анализа при длине волны 450 нм).

3.8. Воспроизводимость

Для определения воспроизводимости анализа была проведена оценка результатов повторяемости анализа в двух лабораториях. Внутрисерийный и межсерийный коэффициенты вариации результатов набора реагентов «SARS-CoV-2 IgG spike-количественный-ИМБИАН-ИФА» при исследовании положительных образцов, содержащих IgG к S-белку SARS-CoV-2 не превышает 8,0 %.

3.9. Эквивалентность

В рамках клинических испытаний была доказана эквивалентность результатов анализа набора «SARS-CoV-2 IgG spike-количественный-ИМБИАН-ИФА», полученных при постановке анализа на сыворотке и плазме крови человека (с гепарином, цитратом натрия и ЭДТА), полученных от одного и того же пациента, содержащих и не содержащих IgG к S-белку SARS-CoV-2, методом ИФА.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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.

Набор реагентов предназначен только для профессионального использования. Работу следует проводить в специально оборудованном помещении лаборатории, отвечающей требованиям СанПиН 3.3686-21 "Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней".

При работе с набором реагентов требуется соблюдать «Инструкцию по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинично-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденную Минздравом СССР 17 января 1991 года; ГОСТ Р 52905 (ISO 15190:2003) «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

Так как контрольный образец, калибровочные и анализируемые образцы 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.

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

Сыворотка (плазма) крови человека, использованная для приготовления калибровочных образцов KO_0 , KO_{10} , KO_{125} , KO_{500} и контроля $K(+)$, инаktivирована нагреванием при температуре $(56 \pm 1)^\circ C$ в течение 3 ч, содержит антитела IgG к S-белку вируса SARS-CoV-2 человека и не содержат p24 ВИЧ-1, HBsAg, антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2, ВГС и *Treponema pallidum*.

Сыворотка (плазма) крови человека, использованная для приготовления контрольного образца KO_0 , инаktivирована нагреванием при температуре $(56 \pm 1)^\circ C$ в течение 3 ч, не содержит антитела IgG к S-белку вируса SARS-CoV-2, антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2, ВГС, *Treponema pallidum*, p24 ВИЧ-1 и HBsAg.

В состав компонентов KO_0 , KO_{10} , KO_{125} , KO_{500} , $K(+)$, ФСБ-Т(x26), БР, РК, ТМБ входят консерванты в концентрациях, являющихся нетоксичными. KO_0 , KO_{10} , KO_{125} , KO_{500} , $K(+)$ и БР содержит 0,1% проклина-300; РК — 0,1% фенола; ФСБ-Т(x26), ТМБ — 0,2% бензоата натрия. Все реактивы, входящие в состав компонентов набора реагентов в используемых концентрациях, являются нетоксичными.

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, являются нетоксичными.

Нельзя пипетировать растворы ртом.

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

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".

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.

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

5. ОБЕСПЕЧЕНИЕ КАЧЕСТВА ИССЛЕДОВАНИЙ

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

Не использовать реагенты с истекшим сроком годности.

Не использовать реагенты других производителей.

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

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

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

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

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

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

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

Использовать чистую, тщательно промытую лабораторную посуду.

Использовать прошедшие валидацию дозаторы и оборудование.

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

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.

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

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

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

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

- ванночки для разведения компонентов;

- микроцентрифуга лабораторная на 1000-3000 об/мин;

- 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.;

- устройство для промывания планшета (вошер);

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

- анализатор автоматический иммуноферментный открытого типа;
- холодильная или морозильная камера;
- цилиндры мерные не ниже 2 класса точности объемом 100 и 1000 мл, колба лабораторная вместимостью 1000 мл;
- емкость с крышкой для жидкого дез.средства;
- вода дистиллированная или деионизированная;
- бумага фильтровальная;
- таймер;
- одноразовые нестерильные медицинские перчатки;
- лабораторная посуда.

7. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ПРОБЫ

Нативная сыворотка, плазма (с гепарином, цитратом натрия, ЭДТА) крови человека. Аналитический объем образца — 10 мкл.

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

Замороженные образцы перед исследованием прогреть до температуры (17 до 27°C) 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.

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

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!

8. ПОДГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

8.1. 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°C, аккуратно перемешать.

Внимание!

КО₀, **КО₁₀**, **КО₁₂₅**, **КО₅₀₀**, **К(+)**, **БР**, **РК**, **ТМБ** и **Стоп-реагент** готовы к использованию и не требуют дополнительных разведений.

Неиспользованные **КО₀**, **КО₁₀**, **КО₁₂₅**, **КО₅₀₀**, **К(+)**, **БР**, **РК**, **ТМБ** и **Стоп-реагент** хранить в упаковке производителя при температуре от 2 до 8°C до истечения срока годности набора.

ФСБ-Т (x26) представлен в виде концентрата. Требуется разведение.

8.2. 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°C 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!

8.3. 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. Приготовление рабочего раствора **ФСБ-Т(x26)**

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

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Вариант №1 (использование термошейкера)

Этап анализа	Процедура этапа анализа	Примечание
1	Установить необходимое количество стрипов в рамку планшета	
2	В лунки Иммуносорбента внести по 100 мкл КО₀, КО₁₀, КО₁₂₅, КО₅₀₀, К(+) . В оставшиеся лунки внести по 90 мкл буферного раствора БР , а затем по 10 мкл анализируемых образцов . Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой.	Время внесения образцов при использовании всего планшета не должно превышать 10 мин. При отсутствии в спектрофотометре фильтра на 405 нм, измерение результатов анализа проводить при длине волны 450 нм. В этом случае калибровочный образец 500 ВАУ/мл не использовать.
4	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 25 мин. Для инкубации использовать орбитальный термощейкер. Скорость вращения платформы шейкера: 700 об/мин.; температура инкубации: 37±1°C	
5	С помощью промывателя для планшетов удалить содержимое лунок. Четыре раза промыть планшет рабочим раствором ФСБ-Т, внося в лунки 300 мкл раствора . Экспозиция между этапами отмывки – 30 секунд. По окончании промывки при необходимости удалить влагу из лунок, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге	Внимание! Недостаточная аспирация жидкости в лунке может привести к искажению результата исследования. Не допускать высыхание лунок Иммуносорбента в перерыве между завершением промывок и внесением реагентов.
6	Во все лунки Иммуносорбента внести по 100 мкл раствора конъюгата РК . Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой.	Время внесения рабочего раствора КГ при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты.
7	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 25 мин. Для инкубации использовать орбитальный термощейкер. Скорость вращения платформы шейкера: 700 об/мин.; температура инкубации: 37±1°C	
8	С помощью промывателя для планшетов удалить содержимое лунок. Четыре раза промыть планшет рабочим раствором ФСБ-Т, внося в лунки 300 мкл раствора . Экспозиция между этапами отмывки – 30 секунд. По окончании промывки при необходимости удалить влагу из лунок, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге	Внимание! Недостаточная аспирация жидкости в лунке может привести к искажению результата исследования. Не допускать высыхание лунок Иммуносорбента 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.
10	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 10 мин. Для инкубации использовать орбитальный термощейкер. Скорость вращения платформы шейкера: 700 об/мин.; температура инкубации: 37±1°C	
11	Реакцию остановить внесением в каждую лунку Иммуносорбента по 50 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 основной длине волны 405 нм и длине волны сравнения в	Внимание! Учет реакции необходимо произвести не позднее, чем через 5

Этап анализа	Процедура этапа анализа	Примечание
	диапазоне 620-655 нм. При отсутствии в спектрофотометре фильтра на 405 нм, измерение результатов анализа проводить при длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620-655 нм. В этом случае калибровочный образец 500 ВАУ/мл не использовать.	мин. после остановки реакции. Допускается измерение при одной длине волны — 405 либо 450 нм.

Вариант №2 (использование термостата)

Этап анализа	Процедура этапа анализа	Примечание
1	Установить необходимое количество стрипов в рамку планшета	
2	В лунки Иммуносорбента внести по 100 мкл КО₀, КО₁₀, КО₁₂₅, КО₅₀₀, К(+) . В оставшиеся лунки внести по 90 мкл буферного раствора БР , а затем по 10 мкл анализируемых образцов. Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой.	Время внесения образцов при использовании всего планшета не должно превышать 10 мин. При отсутствии в спектрофотометре фильтра на 405 нм, измерение результатов анализа проводить при длине волны 450 нм. В этом случае калибровочный образец 500 ВАУ/мл не использовать.
4	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 30 мин при температуре 37±1°C	
5	С помощью промывателя для планшетов удалить содержимое лунок. Четыре раза промыть планшет рабочим раствором ФСБ-Т, внося в лунки 300 мкл раствора . Экспозиция между этапами отмывки – 30 секунд. По окончании промывки при необходимости удалить влагу из лунок, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге	Внимание! Не допускать высыхания лунок Иммуносорбента в перерыве между завершением промывок и внесением реагентов.
6	Во все лунки Иммуносорбента внести по 100 мкл раствора конъюгата РК . Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой.	Время внесения рабочего раствора КГ при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты.
7	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 30 мин, при температуре 37±1°C	
8	С помощью промывателя для планшетов удалить содержимое лунок. Четыре раза промыть планшет рабочим раствором ФСБ-Т, внося в лунки 300 мкл раствора . Экспозиция между этапами отмывки – 30 секунд. По окончании промывки при необходимости удалить влагу из лунок, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге	Внимание! Недостаточная аспирация жидкости в лунке может привести к искажению результата исследования. Внимание! Не допускать высыхания лунок Иммуносорбента 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.
10	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 15 мин, при температуре 37±1°C	
11	Реакцию остановить внесением в каждую лунку	Время внесения Стоп-реагента

Этап анализа	Процедура этапа анализа	Примечание
	Иммуносорбента по 50 мкл Стоп-реагента.	при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты
12	Измерить оптическую плотность содержимого лунок с помощью спектрофотометра при основной длине волны 405 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620-655 нм. При отсутствии в спектрофотометре фильтра на 405 нм, измерение результатов анализа проводить при длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620-655 нм. В этом случае калибровочный образец 500 BAU/мл не использовать.	Внимание! Учет реакции необходимо произвести не позднее, чем через 5 мин. после остановки реакции. Допускается измерение при одной длине волны — 405 либо 450 нм.

Использование ИФА-анализаторов

Набор реагентов «SARS-CoV-2 IgG spike-количественный-ИМБИАН-ИФА» адаптирован для любых открытых полуавтоматических и автоматических иммуноферментных анализаторов.

Процедуру анализа проводить так же, как и для ручной постановки анализа.

10. РАСЧЕТЫ

Результаты регистрируют на спектрофотометре в двухволновом режиме: при основной длине волны 405 нм, и длине волны сравнения в диапазоне 620-655 нм.

При отсутствии в спектрофотометре фильтра на 405 нм, измерение результатов анализа проводить при длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620-655 нм. В этом случае калибровочный образец **КО₅₀₀** не использовать.

Допускается измерение при одной длине волны — 405 либо 450 нм. Время между остановкой реакции и измерением оптической плотности не должно превышать 5 мин.

Нулевой уровень («бланк») задают по воздуху.

Для определения концентрации IgG антител строят в линейных координатах калибровочный график зависимости значений оптической плотности от концентрации IgG к S-белку SARS-CoV-2 (BAU/мл) в калибровочных образцах.

Концентрации IgG к SARS-CoV-2 в контрольном и аналитическом образцах находят по калибровочному графику.

10.1. Критерии правильности теста

При измерении ОП на основной длине волны 405 нм

- $ОП_0 < 0,10$;
- $ОП_{10}/ОП_0 \geq 1,5$, где $ОП_{10}$ и $ОП_0$ — значения оптической плотности в лунках с калибровочными образцами $КО_{10}$ и $КО_0$;
- $ОП_{500} \geq 1,5$, где $ОП_{500}$ — значение оптической плотности в лунке с $КО_{500}$;
- вычисленное по калибровочному графику значение концентрации IgG к SARS-CoV-2 в контрольном образце соответствует пределам, указанным на этикетке флакона;
- значения оптической плотности калибровочных образцов удовлетворяют условию:

$$ОП(КО_0) < ОП(КО_{10}) < ОП(КО_{125}) < ОП(КО_{500})$$

При измерении ОП на основной длине волны 450 нм:

- $ОП_0 < 0,20$;
- $ОП_{10}/ОП_0 > 1,5$, где $ОП_{10}$ и $ОП_0$ — значения оптической плотности в лунках с калибровочными образцами $КО_{10}$ и $КО_0$;
- $ОП_{125} > 1,5$, где $ОП_{125}$ — значение оптической плотности в лунке с $КО_{125}$;

- вычисленное по калибровочному графику значение концентрации IgG к SARS-CoV-2 в контрольном образце соответствует пределам, указанным на этикетке флакона;
- значения оптической плотности калибровочных образцов удовлетворяют условию:

$$ОП(KO_0) < ОП(KO_{10}) < ОП(KO_{125})$$

10.2. Интерпретация результатов

Для интерпретации результатов теста построить в линейных координатах калибровочный график зависимости значения оптической плотности от концентрации IgG к SARS-CoV-2 в калибровочных образцах (BAU/мл). По калибровочному графику определить концентрацию IgG к SARS-CoV-2 (BAU/мл) анализируемых образцов.

Если $ОП_{обр} > ОП_{500}$ (при измерении на основной длине волны 405 нм) или $ОП_{обр} > ОП_{125}$ (при измерении на основной длине волны 450 нм), где $ОП_{обр}$ — значение оптической плотности в лунке с исследуемым образцом, результат анализа следует выражать «более 500 BAU/мл» или «более 125 BAU/мл» соответственно.

Для точного определения концентрации IgG к SARS-CoV-2 в таких образцах их необходимо развести дополнительно в 10 раз в БР. Дальнейшие действия выполнить в соответствии с п.9 настоящей инструкции.

Вычисленное таким образом значение концентрации IgG к SARS-CoV-2 в этом случае следует умножить на коэффициент 10. Если вновь $ОП_{обр} > ОП_{500}$ (при измерении на основной длине волны 405 нм) или $ОП_{обр} > ОП_{125}$ (при измерении на основной длине волны 450 нм), результат анализа следует выражать «более 5000 BAU/мл» или «более 1250 BAU/мл», соответственно. Для определения концентрации IgG к SARS-CoV-2 в таких образцах необходимо повторить анализ с дополнительным разведением образца в 100 раз в соответствии с вышеописанным алгоритмом.

Вычисленное значение концентрации IgG к SARS-CoV-2 в этом случае следует умножить на коэффициент 100.

11. УТИЛИЗАЦИЯ ОТХОДОВ

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».

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.

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.

Неиспользованные наборы реагентов с истекшим сроком годности перед утилизацией следует разукрупнять.

Неиспользованный концентрат промывочного раствора следует утилизировать, как отходы класса А.

Неиспользованные калибровочные образцы и контроли набора, конъюгат и иммуносорбент следует обеззараживать и утилизировать, как медицинские отходы класса Б.

Неиспользованные концентрат ТМБ-субстрата и стоп-реагент следует утилизировать, как отходы класса Г.

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

12. ОГРАНИЧЕНИЕ ТЕСТА

В диагностике коронавирусной инфекции принципиальную важность представляют четыре антигенные детерминанты (четыре эпитопа): эпитопы S-белка (шипов) — S1, S2, RBD, эпитоп N-белка (нуклеокапсида) — N.

Учитывая, что у каждой детерминанты имеется своя антигенная структура, на каждую из них В-лимфоцитами вырабатываются разные типы IgM и IgG.

Наборы реагентов, выявляющие антитела к N-белку, N и S-белку, а также к RBD-домену не могут достоверно оценить наличие в исследуемом образце антител к S-белку, так как определяют дополнительно антитела к другим эпитопам.

Набор реагентов для иммуноферментного количественного определения иммуноглобулинов класса G (IgG) к поверхностному гликопротеину S (spike) коронавируса SARS-CoV-2 «SARS-CoV-2 IgG spike-количественный-ИМБИАН-ИФА» обладает высокой специфичностью в отношении S-антител, и не выявляет антитела, направленные на нейтрализацию других антигенных детерминант коронавируса.

При оценке уровня поствакцинального иммунитета, сформированного на непосредственно S-белок SARS-CoV-2, рекомендуем проверять наличие антител не ранее, чем через 21 день после получения последней дозы вакцины.

Наибольшей достоверностью обладают результаты теста, полученные по прошествии трёх месяцев после вакцинирования.

Следует помнить, что результаты тестирования на антитела не могут быть единственным критерием для определения степени интенсивности гуморального иммунного ответа на текущую или перенесённую инфекцию.

13. 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	16 месяцев*	хранить в упаковке производителя в сухом, защищенном от света месте, при температуре от 2 до 8°C. Замораживание не допускается
Транспортировка	в течение срока годности	при температуре от 2 до 8°C
	7 суток	при температуре от 9 до 28°C
Вскрытые компоненты: Иммуносорбент КО ₀ , КО ₁₀ , КО ₁₂₅ , КО ₅₀₀ , К(+), ФСБ-	в течение срока годности набора реагентов	хранить в упаковке производителя в сухом, защищенном от света месте, при температуре от 2 до 8°C

Т(х26), БР, РК, ТМБ, Стоп-реагент		
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 подтверждены исследованиями в реальном времени. Исследования стабильности в реальном времени продолжаются.

14. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

Производитель гарантирует соответствие набора реагентов «SARS-CoV-2 IgG spike-количественный-ИМБИАН-ИФА», 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, РФ, Новосибирская обл., р п Кольцово, ул. Садовая, д. 2/7.

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

15. 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).

16. СИМВОЛЫ МАРКИРОВКИ

Символ	Наименование символа	Символ	Наименование символа
	Изготовитель		Использовать до
	Дата изготовления		Не использовать повторно
	Код серии		Осторожно!
	Каталожный номер		Не допускать воздействия солнечного света
	Обратитесь к инструкции по применению		Содержимого достаточно для 96 определений
	Температурный диапазон		Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>
	Беречь от влаги		Не использовать при поврежденной

			упаковке
	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 иммуноферментного количественного определения иммуноглобулинов класса G (IgG) к поверхностному гликопротеину S (spike) коронавируса SARS-CoV-2 «SARS-CoV-2 IgG spike-количественный-ИМБИАН-ИФА», ТУ 21.20.23-103-41390295-2021: **4 620102 801952.**

Пронумеровано, пронумеровано
и скреплено печатью

16 лист об

Генеральный директор
ООО «ИМБИАН ЛАБ»

В.В. Осипова
"14" 09 2021 г

