

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

ООО «Эпидбиомед-диагностика»



И.А. Шепелин

2021 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Набор реагентов для качественного выявления иммуноглобулинов класса G к нуклеокапсиду и к поверхностному гликопротеину S (spike) коронавируса SARS-CoV-2 методом иммуноферментного анализа

«ЭБМ-SARS-CoV-2-ИФА-IgG»

по ТУ 21.20.23-004-30224197-2021

серии E41-180421, E42-190421, E43-200421

Наименование медицинского изделия

Набор реагентов для качественного выявления иммуноглобулинов класса G к нуклеокапсиду и к поверхностному гликопротеину S (spike) коронавируса SARS-CoV-2 методом иммуноферментного анализа «ЭБМ-SARS-CoV-2-ИФА-IgG», серии E41-180421, E42-190421, E43-200421, далее по тексту – набор реагентов.

Производитель

Полное наименование: Общество с ограниченной ответственностью «Эпидбиомед-диагностика», Россия

Сокращенное наименование: ООО «Эпидбиомед-диагностика»

Юридический адрес: 111672, г. Москва, ул. Салтыковская, д.26, стр. 1

Почтовый адрес: 111672, г. Москва, ул. Салтыковская, д.26, стр. 1

Электронная почта: order@epidbiomed-d.ru,

Тел./факс тел: +7 (495) 7 – 999 – 000

Адрес места производства:

ФБУН ГНЦ ПМБ, 142279, Московская область, г.о. Серпухов, п. Оболенск, тер. Квартал А, д. 10.

Электронная почта: info@obolensk.org, <http://www.obolensk.org>

Тел./факс тел: (4967) 36-00-03, факс: (4967) 36-00-10.

Назначение медицинского изделия

Набор реагентов используется в клинической лабораторной диагностике для анализа сыворотки или плазмы крови человека на наличие специфических иммуноглобулинов класса G к нуклеокапсиду и к поверхностному гликопротеину S (spike) коронавируса SARS-CoV-2 методом иммуноферментного анализа вне зависимости от формы и наличия манифестации заболевания.

Набор реагентов используется в качестве основного для оценки иммунного ответа на текущую или перенесенную инфекцию и вспомогательного средства диагностики инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2, совместно с результатами других лабораторных исследований и клинической картиной пациента.

Показания к применению набора реагентов.

Набор реагентов для качественного выявления иммуноглобулинов класса G к нуклеокапсиду и к поверхностному гликопротеину S (spike) коронавируса SARS-CoV-2 методом иммуноферментного анализа.

Набор реагентов используется для исследования биологического материала, полученного от лиц с подозрением на инфицирование вирусом SARS-CoV-2 вне зависимости от формы и наличия манифестации заболевания. Различные клинические признаки (повышение температуры, озноб, кашель и т.п.) у пациентов при которых возможно наличие инфицирования вирусом SARS-CoV-2.

Функциональное назначение

Тестирование на антитела к вирусу SARS-CoV-2 рекомендуется использовать в следующих случаях:

- в качестве дополнительного метода диагностики острой инфекции (с учетом серонегативного периода) или при невозможности исследования мазков методом амплификации нуклеиновых кислот, в том числе при госпитализации в стационар по поводу соматической патологии;
- для выявления лиц с бессимптомной формой инфекции;
- для установления факта перенесенной ранее инфекции при обследовании групп риска и проведения массового обследования населения;
- для отбора потенциальных доноров иммунокомпетентной плазмы.

Противопоказанием к применению набора реагентов является нарушение целостности первичной упаковки, истекший срок годности, нарушение условий хранения, не соблюдение требований инструкции.

Противопоказания отсутствуют, за исключением случаев, когда забор материала не может быть осуществлен по медицинским показаниям.

Тип анализируемого образца

Материалом для проведения исследования служат сыворотка крови или плазма крови человека при определении иммунного статуса пациентов, предположительно инфицированных SARS-CoV-2. Для забора образцов плазмы крови человека возможно использование вакуумных пробирок с антикоагулянтом ЭДТА.

Специфическая патология, состояние или фактор риска, для обнаружения, определения или дифференцирования которого предназначено медицинское изделие для диагностики *in vitro*:

Различные клинические признаки (повышение температуры, озноб, кашель и т.п.) у пациентов при которых возможно наличие инфицирования вирусом SARS-CoV-2.

Популяционные, демографические аспекты применения медицинского изделия:

Заболевание COVID-19 фиксируется на всех континентах и в большинстве стран, включая как экономически развитые, так и слаборазвитые. Фиксируются летальные случаи. При этом инфицирование вирусом SARS-CoV-2 возможно во всех половозрастных группах населения.

Область применения - клиническая лабораторная диагностика.

Для диагностики *in vitro*.

Предупреждение

- Отрицательные результаты анализа не исключают заражение SARS-CoV-2, особенно у тех, кто был в контакте с вирусом.
- Полученные результаты анализа не должны использоваться в качестве единственного основания для диагностики или исключения инфекции SARS-CoV-2 или для информирования о статусе инфекции.
- Поскольку к настоящему времени перекрестные реакции использованного в данном наборе реагентов антигенов (нуклеокапсид SARS-CoV-2 и поверхностный гликопротеин S (spike) коронавируса SARS-CoV-2) с антителами к близким вирусам человека полностью не изучены, теоретически возможна незначительная кросс-реактивность, связанная с прошлой или настоящей инфекцией пациента штаммами коронавируса не-SARS-CoV-2, такими как HCoV-HKU1, HCoV-NL63, HCoV-OC43 или HCoV-229E.
- Отрицательный или нереактивный результат может возникнуть, если в тестируемом образце количество антител к SARS-CoV-2 ниже предела обнаружения, или вирус мутировал в эпитопах распознаваемых антителами.
- Если симптомы сохраняются, а результат анализа является отрицательным, рекомендуется через несколько дней повторно обследовать пациента.

- Результаты, полученные с помощью данного набора реагентов, следует интерпретировать только в сочетании с клиническими данными и результатами других лабораторных исследований.
- Этот набор реагентов не должен использоваться для скрининга донорской крови.

Потенциальные потребители медицинского изделия

Набор реагентов предназначен для профессионального применения в медицинских учреждениях и клиничко-диагностических лабораториях инфекционного профиля.

Профессиональный уровень потенциальных пользователей – врач клинической лабораторной диагностики, медицинский лабораторный техник.

К работе с набором реагентов допускаются только медицинский персонал клиничко-диагностических лабораторий. Для работы с набором необходимо участие специалистов с высшим и средним специальным образованием, прошедших специальную подготовку и допущенных к работе с микроорганизмами в соответствии с СП 2.1.3684-21

Принцип анализа

Принцип анализа основан на методе твердофазного непрямого ИФА.

При внесении в лунки исследуемых образцов IgG к SARS-CoV-2 связываются с рекомбинантным S или N антигеном SARS-CoV-2 на твердой фазе, образуя комплексы антиген-антитело. Иммуные комплексы выявляют мечеными пероксидазой моноклональными антителами к IgG человека. После отмывания несвязанных компонентов в лунки добавляют раствор проявителя. Пероксидазную реакцию останавливают стоп-реагентом и измеряют оптическую плотность смеси в лунках при длине волны 450/620 нм, которая пропорциональна концентрации IgG к SARS-CoV-2 в образцах.

Характеристика набора реагентов

Набор реагентов Комплект №1 «ЭБМ-SARS-CoV-2-ИФА-IgG», серия E41-180621 упакован в картонную коробку размером $(160 \pm 1 \times 125 \pm 1 \times 120 \pm 1)$ мм с вложенными в нее 8 герметично укупоренных винтовых флаконов разного объема с жидким содержимым и 1 стрипового полистиролового планшета (96 лунок, 12 постановок ИФА: 1 постановка – 8 лунок) для иммунологических реакций с сорбированным в нем рекомбинантным нуклеокапсидным антигеном коронавируса SARS-COV-2 в пакете для вакуумной упаковки с замком, а также клейкая пленка размером 120×85 мм в количестве 3 шт., паспорт качества и инструкция по применению.

Набор реагентов рассчитан на 96 исследований образцов плазмы и/или сыворотки крови.

Набор реагентов Комплект №2 «ЭБМ-SARS-CoV-2-ИФА-IgG», серия E42-190421 упакован в картонную коробку размером $(160 \pm 1 \times 125 \pm 1 \times 120 \pm 1)$ мм с вложенными в нее 8 герметично укупоренных винтовых флаконов разного объема с жидким содержимым и 1

стрипового полистиролового планшета (96 лунок, 12 постановок ИФА: 1 постановка – 8 лунок) для иммунологических реакций с сорбированным рекомбинантным поверхностным гликопротеином S (spike) коронавируса SARS-CoV-2 в пакете для вакуумной упаковки с замком, а также клейкая пленка размером 120 × 85 мм в количестве 3 шт., паспорт качества и инструкция по применению.

Набор реагентов рассчитан на 96 исследований образцов плазмы и/или сыворотки крови.

Набор реагентов Комплект №3 «ЭБМ-SARS-CoV-2-ИФА-IgG», серия E43-200621 упакован в картонную коробку размером (160±1 × 125±1 × 120±1) мм с вложенными в нее 8 герметично укупоренных винтовых флаконов разного объема с жидким содержимым и 1 стриповый полистироловый планшет (96 лунок, 12 постановок ИФА: 1 постановка – 8 лунок) для иммунологических реакций с сорбированным в нем рекомбинантным нуклеокапсидным антигеном коронавируса SARS-COV-2 в пакете для вакуумной упаковки с замком, 1 стриповый полистироловый планшет (96 лунок, 12 постановок ИФА: 1 постановка – 8 лунок) для иммунологических реакций с сорбированным рекомбинантным поверхностным гликопротеином S (spike) коронавируса SARS-CoV-2 в пакете для вакуумной упаковки с замком, а также клейкая пленка размером 120 × 85мм в количестве 6 шт., паспорт качества и инструкция по применению.

Набор реагентов рассчитан на 192 исследования образцов плазмы и/или сыворотки крови.

Аналитические и диагностические характеристики набора реагентов

Аналитическая специфичность: оценку аналитической специфичности (перекрестное реагирование) набора реагентов проводили с 210 образцами сывороток крови от беременных женщин и пациентов с другими гетерологичными заболеваниями, которые содержат специфические антитела класса G к: HBV, HCV, ВИЧ-1/ВИЧ-2, аденовирусу, человеческому метапневмовирусу (hMPV), вирусу парагриппа 1-4, гриппа А, гриппу Б, энтеровирусу 71, респираторно-синцитиальному вирусу A2/B1, риновирусу А, *Chlamydia pneumoniae*, пневмококку, *Mycobacteria tuberculosis*, *Mycoplasma pneumoniae*. Перекрестно реагирующих образцов обнаружено не было.

Образцы сыворотки/плазмы от пациентов, инфицированных вирусом HCoV-NL63, HCoV-OC43 и HCoV-HKU1 не тестировались.

Диагностическая чувствительность Набора реагентов «ЭБМ-SARS-CoV-2-ИФА-IgG» серии E41-180621, E42-190621, E43-200621 по данным клинико-лабораторных испытаний, проведенных на положительных образцах сыворотки и плазмы крови, полученных от 226 пациентов, составляет 100% (интервал 96% - 100%, с доверительной вероятностью 95%);

Диагностическая специфичность с использованием набора реагентов по данным клинико-лабораторных испытаний, проведенных на 542 образцах сыворотки и плазмы крови (собраны у пациентов с различными заболеваниями и здоровых доноров до сентября 2019 года), составляет 100% (интервал 98% – 100%, с доверительной вероятностью 95%).

Установлено отсутствие интерференции на результат анализа потенциально интерферирующих веществ в концентрациях, рекомендованных руководством EP7-A2 Института клинических и лабораторных стандартов.

Воспроизводимость результатов: клинико-лабораторные испытания, проведенные на 452 положительных и 542 отрицательных образцах, показали 100% внутрисерийную воспроизводимость результатов. Результаты ИФА показали воспроизводимость набора с коэффициентом вариации ОП не более 8%;

Информация об известных интерферирующих соединениях указана в разделе «Интерферирующие вещества и ограничения по использованию проб исследуемого материала».

Полученный результат не может использоваться в качестве единственного показателя для диагностики заболеваний, но используется в сочетании с другими лабораторными показателями и другой диагностической информацией.

Меры предосторожности и сведения об утилизации

Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей серологические исследования биологического материала на наличие возбудителей инфекционных болезней, с соблюдением санитарно-эпидемиологических правил СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней» и в соответствии с СП 2.1.3684-21.

Набор реагентов предназначен только для *in vitro* диагностики только для профессионального использования и не является объектом свободной продажи в аптечной сети. Все работы должны проводиться в соответствии с требованиями, изложенными в Инструкциях по технике безопасности, утвержденных генеральным директором предприятия.

Класс риска Набора реагентов «ЭБМ-SARS-CoV-2-ИФА-IgG» в соответствии с Приказом МЗ РФ № 4н от 06.06.2012 «Об утверждении номенклатурной классификации медицинских изделий» – 2б.

4.2. Набор реагентов предназначен для профессионального использования **только для *in vitro*** диагностики. Потенциальным потребителем является медицинский персонал клинико-диагностических лабораторий. Для работы с набором необходимо участие специалистов с высшим и средним специальным образованием, прошедших специальную подготовку и допущенных к работе с микроорганизмами в соответствии с СП 2.1.3684-21.

4.3. Все компоненты набора реагентов в используемых концентрациях являются нетоксичными и безопасными. Однако, исследуемые клинические образцы, а также сточные растворы, оборудование и материалы, находящиеся с ними в контакте, представляют собой потенциально инфекционный материал, и обращаться с ними следует, соблюдая технику безопасности. Следует избегать любого контакта компонентов набора реагентов со слизистыми оболочками. При работе с медицинским изделием следует надевать одноразовые защитные перчатки. Отработанные реагенты обезвреживают в 3% растворе хлорамина или в 6% растворе перекиси водорода в течение 24 часов или автоклавированием под давлением 0,11 Мпа при 120°C в течение 24 часов. Оборудование дезинфицируют до и после работы 70% этиловым спиртом.

4.4. Стоп-реагент и раствор ТМБ обладают раздражающим действием. Избегать вдыхания паров, разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. Вреден при проглатывании. В случае попадания стоп-реагента и раствора ТМБ на кожу и слизистые необходимо промыть пораженный участок большим количеством проточной воды. При необходимости обратиться за медицинской помощью.

4.5. Отрицательный контроль (ОК) содержат натрия азид в конечной концентрации 0,099 %. Данная концентрация является безопасной.

Все компоненты набора, содержащие в своем составе материалы человеческого и животного происхождения, инаktivированы методом тепловой инаktivации при 56°C в течении 20 минут.

При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

- Температура в помещении лаборатории от 20 до 28°C, относительная влажность от 15 до 75%.
- Рассматривать исходные исследуемые образцы биологического материала как инфекционно-опасные.

Предостережение: Сыворотка/плазма крови человека, использованная для приготовления отрицательного и положительного контролей, инаktivирована нагреванием. С исследуемыми образцами и контролями необходимо обращаться как с потенциально инфекционным материалом, поскольку ни один из известных методов тестирования не может гарантировать 100% выявления инфекционных агентов.

- Не пипетируйте растворы ртом.
- При работе с набором реагентов используйте спецодежду. При работе с набором реагентов следует надевать одноразовые защитные перчатки, а также тщательно мойте руки после работы с набором реагентов.

- Избегайте контакта хромогена и стоп-реагента с кожей и слизистыми оболочками.
- Не допускайте проливания образцов и растворов, их содержащих.

- Место проливания образца обработайте 76% этиловым спиртом. Если пролита кислота, сначала нейтрализуйте ее бикарбонатом натрия и вытрите фильтровальной бумагой.
- Материалы, с помощью которых проводилась очистка, поместите в контейнер для инфекционных отходов.

- Инструменты, оборудование и рабочие поверхности обрабатывают 76% этиловым спиртом до и после работы. Рабочие поверхности и оборудование должны быть обеззаражены после обработки образцов. Необходимо обратить внимание на все поверхности, которые могли контактировать с образцами и контейнерами для образцов.

- Жидкие потенциально инфекционные отходы обеззараживают дезинфицирующими средствами, разрешенными МЗ для обеззараживания жидких отходов, согласно инструкции по их применению.

- Твердые потенциально инфекционные отходы обеззараживают автоклавированием в течение 1 часа при 124°- 128° С при давлении 0,15 Мпа (1,5 атм.).

- При использовании набора образуются отходы классов А и Б.

Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21.

- Перечень рисков, связанных с применением изделия согласно ГОСТ ISO 14971, приведен в Файле менеджмента риска.

- Противопоказаний в рамках установленного назначения не имеет.

- Не использовать набор реагентов, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид реагента не соответствует описанию.

- Не использовать набор реагентов, если не соблюдались условия транспортирования и хранения согласно инструкции.

- Не использовать набор реагентов по истечении срока годности.

Оценка вероятных событий, в результате наступления которых могут произойти отрицательные последствия для организма человека.

При использовании по назначению и соблюдении вышеперечисленных мер предосторожности набор безопасен.

При использовании по назначению и соблюдении вышеперечисленных мер предосторожности контакт с организмом человека исключен. При аварийных ситуациях возможно следующее:

- раздражение слизистой оболочки глаз у чувствительных лиц,
- раздражение кожи у чувствительных лиц,
- аллергическая реакция,
- вред при вдыхании,
- вред при приеме внутрь.

В случае возникновения подобных симптомов необходимо обратиться за неотложной помощью.

Дополнительные материалы и оборудование

а. проведение ИФА

1. спектрофотометр для измерения ОП в планшетах в двухволновом режиме (450 нм относительно 620 нм);
2. аппарат для промывания планшетов (например, Аквамарин, Biosan («Биосан»), Латвия, или аналогичный);
3. термостат на $(37 \pm 2)^\circ\text{C}$;
4. автоматические пипетки одноканальные переменного объема на 5-40, 20-200, 200-1000 мкл и наконечники к ним;
5. автоматические пипетки восьмиканальные переменного объема на 50-300 мкл и наконечники к ним;
6. секундомер механический;
7. вода дистиллированная или деионизированная;
8. дезинфицирующие средства;
9. спирт этиловый, 76%;
10. вата медицинская гигроскопическая;
11. фильтровальная бумага;
12. мерный стакан или цилиндр, 1000 мл;
13. ванночки для реагентов;
14. флаконы для реагентов, 20 мл;
15. контейнеры для потенциально инфекционных отходов.
16. иммуноферментный анализатор для измерения оптического поглощения в лунках планшета при длине волны 450 нм (например, Униплан («ЗАО Пикон», Россия, РУФСР №2010/08123 от 14 декабря 2015г, или аналогичный).
17. отдельный халат, шапочки, обувь и одноразовые перчатки по МУ 1.3.2569-09. перчатки медицинские одноразовые.
18. одноразовые пластиковые контейнеры для сброса и инактивации материалов.
19. емкость с крышкой для дезинфицирующего раствора.

б. Взятие исследуемого материала

1. вакуумная система забора крови Vacuette -вакуумная пробирка с ЭДТА с фиолетовой крышкой (например, Greiner Bio-One GmbH, Австрия, или аналогичные).

в. Предварительная подготовка исследуемого материала

2. одноразовые полипропиленовые завинчивающиеся или плотно закрывающиеся пробирки на 1,5 мл (например, Axygen, Inc., США, или аналогичные).
3. завинчивающиеся крышки к пробиркам (например, Axygen, Inc., США, или

аналогичные).

4. одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 200, до 1000 мкл (например, Axugen, Inc., США, или аналогичные).
5. штативы для пробирок объемом 1,5 мл и/или 5 мл (например, Axugen, Inc., США, или аналогичные).
6. центрифуга с ротором для пробирок объемом 10-15 мл с максимальной скоростью центрифугирования не менее 1,5 тыс g (например, LMC-3000, ротор R-12/10, Biosan, Латвия, или аналогичная).
7. вортекс (например, SIA Biosan, Латвия, или аналогичный).
8. автоматические дозаторы переменного объема (например, ООО «Биохит», Россия, или аналогичные).
9. холодильник от 2 до 8°C с морозильной камерой от минус 24 до минус 16°C.
10. отдельный халат, шапочки, обувь и одноразовые перчатки по МУ 1.3.2569-09.
11. одноразовые пластиковые контейнеры для сброса и инактивации материалов.
12. емкость с крышкой для дезинфицирующего раствора.

Взятие, транспортирование и хранение исследуемого материала

Материалом для исследования служат:

- плазма крови,
- сыворотка крови

Плазма крови

Для получения образцов плазмы крови взятие крови в количестве не менее 3 мл проводят утром натощак в пробирку (специальную вакуумную систему) с раствором ЭДТА в качестве антикоагулянта. Закрытую пробирку с кровью несколько раз переворачивают. В течение 6 ч с момента взятия крови закрытую пробирку с кровью хранят при температуре от 2 до 8°C. В течение этого времени следует отобрать плазму и перенести в новую пробирку. Для этого центрифугируют пробирки с цельной кровью при 800-1600 g в течение 20 минут при комнатной температуре. Полученную плазму переносят в количестве не менее 1 мл отдельными наконечниками с аэрозольным барьером в стерильные пробирки объемом 2,0 мл.

Допускается хранение образцов плазмы крови до проведения серологического исследования:

- при температуре от 2 до 8°C – не более 3 суток
- при температуре от минус 20°C и ниже – в течение 3 мес;
- при температуре не выше минус 68°C – длительно.

Допускается транспортирование плазмы крови при температуре от 2 до 8°C в течение 1 суток (МУ 1.3.1877-04 Порядок сбора, упаковки, хранения, транспортирования

и проведения лабораторного анализа биологического материала от больных (и умерших) пациентов с подозрением на тяжелый острый респираторный синдром (ТОРС)).

Сыворотка крови

Для получения образцов сыворотки крови взятие крови в количестве не менее 3 мл проводят утром натощак в пробирку (специальную вакуумную систему). Закрытую пробирку с кровью несколько раз переворачивают. В течение 6 ч с момента взятия крови закрытую пробирку с кровью хранят при температуре от 2 до 8 °C. После этого времени следует отобрать сыворотку крови и перенести в новую пробирку. Для этого центрифугируют пробирки с цельной кровью при 800-1600 g в течение 20 минут при комнатной температуре. Полученную сыворотку переносят в количестве не менее 1 мл отдельными наконечниками с аэрозольным барьером в стерильные пробирки объемом 2,0 мл.

Допускается хранение образцов сыворотки крови до проведения серологического исследования:

- при температуре от 2 до 8 °C – не более 3 суток;
- при температуре от минус 20 °C и ниже – в течение 3 месяцев;
- при температуре не выше минус 68 °C – длительно
- Непригодны для анализа образцы с азидом натрия, гемолизом, гиперлипидемией или бактериальным проростом, образцы плазмы крови / цельной крови, если кровь была взята в пробирки с гепарином в качестве антикоагулянта.

Допускается транспортирование сыворотки крови при температуре от 2 до 8° C не более 3 суток (МУ 1.3.1877-04 «Порядок сбора, упаковки, хранения, транспортирования и проведения лабораторного анализа биологического материала от больных (и умерших) пациентов с подозрением на тяжелый острый респираторный синдром (ТОРС)»).

Допускается хранение образцов в замороженном состоянии при температуре ниже минус 20°С в течение трех месяцев, при температуре минус 70°С в течение двух лет. Для предупреждения осаждения фибрина плазму необходимо быстро разморозить в течение нескольких минут при температуре (38-40)°С.

Допускается не более трех циклов замораживания/ оттаивания образцов. Размороженные образцы после оттаивания обязательно перемешивают для достижения однородности.

Образцы, содержащие агрегаты и осадок, перед анализом осветляют центрифугированием в течение 10 минут при 1900 g (2500-3000 об/мин)

Непригодны для анализа образцы с азидом натрия, гемолизом, гиперлипидемией или бактериальным проростом.

6.1. Требования к условиям и процедурам преаналитического этапа клинических

лабораторных исследований с целью исключения или ограничения влияния эндогенных, экзогенных, ятрогенных и иных факторов, мешающих правильному отражению состояния внутренней среды обследуемых пациентов в результатах клинических лабораторных исследований изложены в ГОСТ Р 53079.4-2008 «Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа».

6.2. Взятие, транспортирование и хранение исследуемого материала осуществляется согласно МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории», утвержденные Роспотребнадзором и Рекомендациям «Организация преаналитического этапа при централизации лабораторных исследований», одобренных профильной комиссией Минздрава России по клинической лабораторной диагностике 30.05.2013.

6.3. При проведении работ с клиническими образцами в лаборатории, необходимо обеспечить безопасность работы в соответствии с требованиями законодательства в сфере санитарно-эпидемиологического благополучия.

6.4. Сбор образцов крови человека проводить в соответствии с текущей практикой методом венепункции, соблюдая стандартные лабораторные процедуры. Выбор пробирок для получения сыворотки или плазмы, подготовку, центрифугирование, хранение и транспортировку образца производить согласно правилам проведения преаналитического этапа, утвержденным для лаборатории. Для анализа использовать образцы сыворотки крови человека или образцы плазмы крови, полученной с использованием в качестве антикоагулянта ЭДТА. Рекомендуемое соотношение антикоагулянта и биоматериала, а также способы подготовки образца и режимы центрифугирования описаны в инструкции по применению пробирок, используемых лабораторией.

6.5. Образцы сыворотки/плазмы крови хранить при температуре от 2 до 8 °С – не более 5 суток или при температуре минус 18 °С и ниже, если требуется более длительное хранение.

После размораживания образцы следует тщательно перемешать.

ВНИМАНИЕ! Образцы могут подвергаться замораживанию и оттаиванию не более 2 раз.

6.6. Образцы сыворотки/плазмы крови нельзя подвергать термоинактивированию.

6.7. Образцы сыворотки/плазмы крови, содержащие взвешенные частицы, необходимо очистить центрифугированием в течение 15 мин при 1600 g.

6.8. Образцы, содержащие гемоглобин в концентрации до 1000 мг/дл, билирубин в концентрации до 60 мг/дл, триглицериды в концентрации до 50 мг/дл пригодны к использованию.

6.9. Наличие в образцах плазмы крови или сыворотки крови человека антибиотиков, применяемых для терапии пневмоний (например, Левофлоксацин, Цефтриаксон),

препаратов, содержащих человеческие IgG и IgM (например, Пентаглобин), не влияет на диагностическую эффективность набора реагентов. Состояние беременности не влияет на результаты качественного выявления антител в биологическом материале.

6.10. Непригодными для исследования являются образцы плазмы крови, если кровь была взята в пробирки с гепарином в качестве антикоагулянта.

6.11. Отбирать и хранить образцы в условиях, предотвращающих бактериальный пророст: каждый образец необходимо отбирать новым одноразовым наконечником.

6.12. Перед проведением анализа исследуемые образцы сыворотки/плазмы крови, следует выдержать при комнатной температуре 20–28 °C не менее 30 мин.

Интерферирующие вещества и ограничения по использованию проб исследуемого материала

Образцы плазмы и сыворотки крови нельзя подвергать термоинаktivированию выше 56 °C.

Отбирать и хранить образцы в условиях, предотвращающих бактериальный пророст: каждый образец необходимо отбирать новым одноразовым наконечником.

Образцы с выраженным бактериальным проростом, с выраженным гемолизом и гиперлипидемией могут дать неправильный результат.

Наличие в образцах плазмы крови или сыворотки крови плазмы крови человека антибиотиков, применяемых для терапии пневмоний (например, Левофлоксацин, Цефтриаксон), препаратов, содержащих человеческие IgG и IgM (например, Пентаглобин), не влияет на диагностическую эффективность набора реагентов. Наличие в образцах плазмы или сыворотки крови человека повышенного уровня гемоглобина, билирубина конъюгированного, триглицеридов, холестерина не влияет на диагностическую эффективность набора реагентов.

Сведения о других интерферирующих веществах при условии соблюдения правил взятия и предварительной подготовки исследуемого материалах, указанных в инструкции, отсутствуют.

Набор реагентов включает:

Реагент	Комплект №1, серия E41-180621 Кол-во	Комплект №2, серия E42-190621 Кол-во	Комплект №3, серия E43-200621 Кол-во
Иммуносорбент 1 Стриповый полистироловый планшет, в лунках которого сорбирован рекомбинантный нуклеокапсидный антиген коронавируса SARS-CoV-2	1 шт.	-	1 шт.
Иммуносорбент 2 Стриповый полистироловый планшет, в	-	1 шт.	1 шт.

лунках которого сорбирован рекомбинантный поверхностный гликопротеин S(spike) коронавируса SARS-CoV-2			
Концентрат конъюгата (КК) Моноклональные антитела к IgG человека, конъюгированные с пероксидазой хрена. Консервант: 0,4% ProClin™ 300. Красная слегка опалесцирующая жидкость	1 флакон ×1,2 мл	1 флакон ×1,2 мл	1 флакон ×1,2 мл
Положительный контроль (ПК) Инактивированная сыворотка крови человека, содержащая антитела к SARS-CoV-2. Консервант: 0,4% ProClin™ 300. Светло-желтая слегка опалесцирующая жидкость	1 флакон ×0,1мл	1 флакон ×0,1мл	1 флакон ×0,1мл
Отрицательный контроль (ОК) Инактивированная сыворотка крови человека, не содержащая антитела к SARS-CoV-2, антитела к ВИЧ-1/2, антитела к вирусу гриппа типа А, антитела к вирусу гриппа типа В. Консервант: 0,2% ProClin™ 300 и 0,099% азид натрия. Светло-желтая слегка опалесцирующая жидкость	1 флакон ×0,15 мл	1 флакон ×0,15 мл	1 флакон ×0,15 мл
Концентрат промывочного раствора (КПР) Концентрат фосфатно-солевого буфера, содержащий детергент. Бесцветная опалесцирующая жидкость, допускается расслоение и выпадение кристаллического осадка, растворяющегося при нагревании	1 флакон ×30 мл	1 флакон ×30 мл	1 флакона ×60 мл
Раствор для разведения сывороток (PPC) Фосфатно-солевой буфер, содержит детергент, казеиновую фракцию белков молока, блок-компоненты, краситель и консервант: 0,4% ProClin™ 300. Фиолетовая опалесцирующая жидкость	1 флакон ×10 мл	1 флакон ×10 мл	1 флакон ×20 мл
Раствор для разведения конъюгата (РПК) Фосфатно-солевой буфер, содержит детергент, казеиновую фракцию белков молока, блок-компоненты, краситель и консервант: 0,4% ProClin™ 300.	1 флакон ×12 мл	1 флакон ×12 мл	1 флакон ×24 мл

Красная опалесцирующая жидкость			
ТМБ-субстрат 3,3',5,5'-тетраметилбензидин в растворе, содержащем перекись водорода. Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон ×11 мл	1 флакон ×11 мл	1 флакон ×22 мл
Стоп-реагент Раствор серной кислоты. Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон ×11 мл	1 флакон ×11 мл	1 флакон ×22 мл
Клейкая пленка	3 шт.	3 шт.	6 шт.
Инструкция по использованию	1 шт.	1 шт.	1 шт.
Паспорт качества	1 шт.	1 шт.	1 шт.

№ комплекта	Количество исследований	Комплектация
Комп. № 1	96 (включая контроли)	1 стриповый планшет по 96 лунок, 12 постановок ИФА: 1 постановка – 8 лунок
Комп. № 2	96 (включая контроли)	1 стриповый планшет по 96 лунок, 12 постановок ИФА: 1 постановка – 8 лунок
Комп. № 3	192 (включая контроли)	2 стриповых планшета, 12 постановок ИФА: 1 постановка – 8 лунок каждого антигена

Правила работы с набором реагентов

Достоверность результатов зависит от корректного выполнения следующих правил:

- Набор реагентов следует применять согласно настоящей Инструкции по применению.
- Не используйте набор реагентов после окончания срока годности.
- Не смешивайте реагенты наборов реагентов разных серий.
- Не используйте реагенты с нарушением герметичности упаковки.
- Температура в помещении, где проводится анализ, должна быть (20-28)°С.
- Тщательно перемешивайте реагенты при подготовке и проведении анализа.
- Используйте стеклянную посуду, тщательно вымытую и сполоснутую дистиллированной водой, либо одноразовую посуду для приготовления реагентов.
- Используйте новый наконечник для внесения каждого образца и реагента.
- Флаконы с неиспользованными реагентами закрывайте крышками сразу после использования, предупреждая их контаминацию.

- Не допускайте подсыхания лунок на всех этапах проведения анализа.
- При проведении анализа используйте только поверенное и исправное оборудование.
- Не проводите анализ в присутствии паров перекиси водорода, кислот, щелочей, альдегидов, хлорсодержащих соединений, а также пыли, которые могут снижать ферментативную активность конъюгата.
- Ферментная реакция очень чувствительна к ионам металлов, поэтому не допускайте контакта реагентов с металлами.
- Раствор ТМБ перед использованием должен быть бесцветным, при окрашивании его необходимо заменить новым.
- Не используйте одну и ту же емкость для конъюгата и ТМБ.
- Избегайте попадания прямого солнечного света на рабочую поверхность при проведении анализа.
- Не изменяйте процедуру анализа.
- Рассматривайте исходные исследуемые образцы биологического материала как инфекционно-опасные.
- Не использованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, а также использованные реагенты, упаковку, биологический материал, включая материалы, инструменты и предметы, загрязненные биологическим материалом, следует удалять в соответствии с требованиями СанПиН.
- Одноразовую пластиковую посуду (пробирки, наконечники) необходимо сбрасывать в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующее средство, которое может быть использовано для обеззараживания медицинских отходов.
- Поверхности столов, а также помещения, в которых проводится постановка гибридизации, до начала и после завершения работ необходимо подвергать ультрафиолетовому облучению в течение 30 мин.
- Набор реагентов предназначен для одноразового применения для проведения исследования указанного количества проб.
- Использовать одноразовые неопудренные перчатки, лабораторные халаты, защищать глаза во время работы с образцами и реагентами. Тщательно вымыть руки по окончании работы. Все операции проводятся только в перчатках для исключения контакта с организмом человека.
- Избегать вдыхания паров, контакта с кожей, глазами и слизистой оболочкой. Вреден при проглатывании. При контакте немедленно промыть пораженное место водой, при необходимости обратиться за медицинской помощью.
- При использовании по назначению и соблюдении вышеперечисленных мер предосторожности набор безопасен.

Требования к промывке

Процедуру промывки выполняйте в соответствии с требованиями инструкции. Некачественное промывание планшета может привести к получению некорректных результатов.

При каждой промывке выполняйте следующие операции:

- полностью удалите содержимое лунок;
- полностью заполните лунки промывочным раствором (350-400 мкл в лунку), без переполнения и перетекания жидкости в соседние лунки;
- полностью удалите раствор из лунок.

На поверхности рамки и лунок после последней аспирации не должно быть остатков жидкости. Удалите остатки влаги, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге.

Для промывания планшета рекомендуется использовать вошер, работающий в автоматическом режиме «Overflow» (например, Аквамарин, Biosan («Биосан»), Латвия, или аналогичный). При отсутствии вошера допускается промывка планшета восьмиканальной автоматической пипеткой.

Подготовка к анализу

Реагенты набора и образцы перед анализом должны быть комнатной (20-28)°C.

Реагенты, готовые к использованию: иммуносорбент1, иммуносорбент 2, ПК, ОК, РРС, РРК, ТМБ-субстрат, стоп-реагент.

Подготовка реагентов

Иммуносорбент 1 и/или Иммуносорбент 2

Извлеките необходимое количество стрипов из упаковки и вставьте в рамку. Неиспользованные стрипы верните в пакет и плотно закройте замок Ziploc.

Хранение: в герметично закрытом пакете при (2-8)°C в течение срока годности набора реагентов.

Планшет используют на 1 постановку ИФА.

Промывочный раствор

Содержимое одного флакона КНР интенсивно взболтайте. Если КНР содержит кристаллы, прогрейте флакон при (35-37)°C до их полного растворения. Разведите КНР дистиллированной водой (см. таблицу), перемешайте.

Хранение: в течение 1 месяца при (2-8)°C или 36 часов при (20-28)°C в чистой, плотно закрытой емкости.

Раствор конъюгата

Рабочий раствор конъюгата готовят перед использованием. Разведите в чистом флаконе КК раствором РРК (см. таблицу). Тщательно перемешайте, не допуская пенообразования.

Хранение: в течение 20 часов при (2-8)°С в защищенном от света месте. Допускается хранение раствора конъюгата при температуре (20-28)°С в течение 8 часов в защищенном от света месте.

Хранение реагентов после первичного вскрытия упаковки:

Все неиспользованные реагенты набора хранить в плотно закрытой первичной упаковке при (2-8)°С в защищенном от света месте в течение срока годности тест-системы. В ходе проведения анализа допускается хранение реагентов набора в течение 8 часов при температуре (20-28)°С, в защищенном от света месте.

Расход реагентов (в расчете на 1 планшет)

Кол-во стрипов	Промывочный раствор		Раствор конъюгата		ТМБ-суб- страт, мл	Стоп- реагент, мл
	КПР, мл	Дист. вода, мл	КК, мкл	РРК, мл		
1	1,08	26,92	40	0,84	0,85	0,85
2	2,16	53,84	75	1,575	1,7	1,7
3	3,24	80,76	110	2,310	2,55	2,55
4	4,32	107,68	150	3,150	3,4	3,4
5	5,4	134,6	190	3,990	4,25	4,25
6	6,48	161,52	220	4,620	5,1	5,1
7	7,56	188,44	260	5,460	5,95	5,95
8	8,64	215,36	300	6,300	6,8	6,8
9	9,72	242,28	340	7,140	7,65	7,65
10	10,8	269,2	370	7,770	8,5	8,5
11	11,88	296,12	410	8,610	9,35	9,35
12	12,96	323,04	450	9,450	10,2	10,2

Проведение анализа

Продолжительность анализа – 80 минут; объем исследуемого образца – 10 мкл

Схема идентична для стрипов с S и N антигенами коронавируса.

- Подготовьте планшет с необходимым количеством стрипов, от 1 до 12.
- Внесите в лунки по 90 мкл РРС.

• Внесите в лунки планшета по 10 мкл контролей и исследуемых образцов следующим образом (контроли вносят в первые лунки первого ряда в последнюю очередь):

- ПК – 2 лунки, ОК – 3 лунки.

- в остальные лунки внесите исследуемые образцы.

Осторожно пипетируйте смесь в лунках (при пипетировании изменяется цвет раствора, что позволяет контролировать внесение образца сыворотки в лунку)

Комплектация набора позволяет выполнить **раститровку образцов**. В этом случае, во все лунки, кроме контролей, вносят по 100 мкл РРС. Затем, в свободные лунки А 2-12 вносят 90 мкл РРС и 10 мкл исследуемого образца. Выполняют титрование объемом 100 мкл (двукратное разведение). Получается кривая титрования образца в диапазоне разведений 1/20-1/2560.

- Накройте планшет клейкой пленкой или крышкой и инкубируйте при температуре $(37 \pm 2)^\circ\text{C}$ в течение 30 минут.
- Промойте планшет 5 раз промывочным раствором как указано в разделе «Требования к промывке».
- Внесите в лунки по 100 мкл раствора конъюгата.
- Накройте планшет клейкой пленкой или крышкой и инкубируйте при температуре $(37 \pm 2)^\circ\text{C}$ в течение 30 минут.
- Промойте планшет 5 раз промывочным раствором как указано в разделе «Требования к промывке».
- Внесите в лунки по 100 мкл ТМБ субстрата.
- Накройте планшет клейкой пленкой или крышкой и инкубируйте при температуре $(20-28)^\circ\text{C}$ в темном месте в течение 20 минут.
- Внесите в лунки по 100 мкл стоп-реагента для остановки цветной реакции (в той же последовательности внесения, что и ТМБ субстрат).
- Не позже чем через 2-3 минуты после остановки цветной реакции измерьте ОП в лунках в двухволновом режиме (450 нм относительно 620 нм). Визуальный учет результатов не допускается.

Учет и интерпретация результатов

- Рассчитайте среднее значение ОП ОК – ОК_{ср}.

Исключите значение ОК которое больше 0,1 или более чем в два раза превышает ОК_{ср}. Рассчитайте ОК_{ср} по оставшимся значениям ОК*.

- Проведение анализа считают достоверным, если ОК_{ср} не больше 0,1, а ОП ПК не меньше 1,5.

**Значения ОП ОК и образцов меньше 0,00 (со знаком «-») при расчетах ГЗ и анализе результатов считать равными нулю*

- Рассчитайте граничное значение (ГЗ), прибавляя константную величину к значению ОК_{ср}: $ГЗ = ОК_{ср} + 0,2$

ВНИМАНИЕ! Результаты исследований учитывать только при соблюдении следующих условий:

- значение ОП в лунке с ОК не более 0,1;
- значение ОП в лунке с ПК не менее 1,5.
- Рассчитать коэффициент позитивности (КП) по формуле:
 $КП = ОП_{обр.} / ГЗ$,
где ОП_{обр.} – значение ОП в лунке с контрольным или исследуемым образцом.
- Образец считают положительным на наличие антител IgG к вирусу SARS-CoV-2, если получено значение КП обр. больше или равно 1,1.
- Образец считают отрицательным на наличие антител IgG к вирусу SARS-CoV-2, если получено значение КП обр. меньше или равно 0,9.
- Образец считают пограничным, если КП обр. больше 0,9, но меньше 1,1.

Ограничение метода

В случае ранней инфекции в период сероконверсионного окна (1-6 день заболевания), когда IgG отсутствуют или их уровень очень низкий и находится за пределами чувствительности данного набора реагентов, результат серологического исследования может быть отрицательным. В этом случае при наличии клинических симптомов заболевания рекомендуется провести повторное обследование больного в данного набора реагентов через несколько дней.

Для установления окончательного диагноза необходимо учитывать не только результаты серологического теста, а также данные тестирования в ПЦР, наличие клинических симптомов заболевания и рентгенологические данные обследования легких.

К ложноотрицательным и ложноположительным результатам может привести несоблюдение правил подготовки и хранения образцов и грубые нарушения процедуры анализа, установленной производителем.

Требования к утилизации и уничтожению

- Серии набора реагентов, пришедшие в негодность, серии с истекшим сроком годности, подлежат уничтожению в соответствии с При использовании набора образуются отходы классов А и Б.

- Удалять неиспользованные реактивы необходимо 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», МУ 287-113 по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения.

- Реагенты 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» относится к классу Б (эпидемиологически опасные отходы). Применять МИ строго по назначению, согласно инструкции.

- Утилизация (уничтожение) осуществляется предприятиями, имеющими соответствующую лицензию, на специально оборудованных площадках, полигонах и в помещениях с соблюдением обязательных требований нормативной документации по охране окружающей среды. Персонал, осуществляющий уничтожение изделий должен соблюдать правила безопасности проведения способа уничтожения.

- Обращение с отходами следует выполнять согласно схеме, принятой в конкретной медицинской организации, использующей в своей работе медицинские изделия. Данная схема разрабатывается в соответствии с требованиями вышеуказанных санитарных правил и утверждается руководителем организации. Ответственность за уничтожение изделия несут субъекты обращения изделий.

Условия хранения, транспортирования и эксплуатации изделия

Транспортирование медицинского изделия должно проводиться при температуре от +2° до +8° С в заводской упаковке. Транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. (СП 3.3.2.3332-16 «Условия транспортирования и хранения иммунобиологических лекарственных препаратов» с 15 мая 2016 г.). Допускается транспортирование при температуре от плюс 9° до плюс 25° С в течение 10 суток. На дальние расстояния – только авиатранспортом в термоконтейнере.

Хранение комплектов – в сухом месте, в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим в упаковке предприятия-производителя при температуре от +2° до +8°С в течение всего срока годности. Замораживание не допускается.

Набор реагентов «ЭБМ-SARS-CoV-2-ИФА-IgG», хранившееся с нарушением регламентированного режима, с истекшим сроком годности и в поврежденной упаковке применению не подлежит!

Набор реагентов «ЭБМ-SARS-CoV-2-ИФА-IgG», транспортируемое с нарушением регламентированного режима, применению не подлежит!

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению.

Срок годности Набора реагентов «ЭБМ-SARS-CoV-2-ИФА-IgG» – 18 мес. Срок годности набора реагентов определен исследованием стабильности его компонентов методом «ускоренного старения», исследования стабильности проводятся по настоящее время.

*¹) Не верифицировано данными исследования в режиме реального времени. Срок годности набора реагентов определен исследованием стабильности его компонентов методом «ускоренного старения» по ГОСТ Р ИСО 23640-2015.

Изделия, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежат утилизации.

Гарантийные обязательства изготовителя

Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

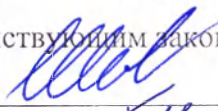
Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

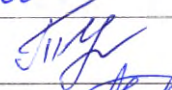
Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

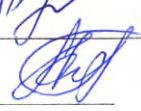
При выявлении побочных действий, не указанных в инструкции по применению набора реагентов, нежелательных реакций при его использовании, фактов и обстоятельств, создающих угрозу жизни и здоровью граждан и медицинских работников при применении и эксплуатации набора реагентов, рекомендуется направить сообщение по адресу, указанному выше, и в уполномоченную государственную регулирующую



организацию (в РФ – Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения) в соответствии с действующим законодательством.

Разработчик _____  Шепелин И.А.

Проверяющий _____  Чубукова Т.В.

Нормоконтролер _____  Бусыгина С.И.

Прошито, пронумеровано
(25 лист (ов)),
скреплено печатью



Генеральный директор ООО
«ЭНДБ-омед-диагностика»

A handwritten signature in blue ink, likely belonging to I.A. Shepelin, written over the official stamp.

И.А. Шепелин