

СОГЛАСОВАНО



Директор по научной работе
ФГБОУ ВО «ПИМУ»
Минздрава России
Д.М. А. С. Благонравова

«4» февраля 2022 г.

**ИНСТРУКЦИЯ
по применению**

**«Набор реагентов
для выявления антител класса G
к spike белку SARS-CoV-2
методом иммуноферментного анализа»
(«ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G (S)»)**



УТВЕРЖДАЮ

Заместитель генерального директора
ООО «НПО» «Диагностические системы»

О.Н. Шлюндин

« 14 » 2022 г.



REF



96

**ИНСТРУКЦИЯ
по применению**

**«Набор реагентов
для выявления антител класса G
к spike белку SARS-CoV-2
методом иммуноферментного анализа»
(«ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G (S)»)**

СОДЕРЖАНИЕ

НАЗНАЧЕНИЕ	3
I. ПРИНЦИП ТЕСТА	3
II. СОСТАВ НАБОРА РЕАГЕНТОВ	3
IV. ЭФФЕКТИВНОСТЬ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ	4
V. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	6
VI. УТИЛИЗАЦИЯ И УНИЧТОЖЕНИЕ	7
VII. НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ, НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ С НАБОРОМ РЕАГЕНТОВ	7
VIII. ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ	7
IX. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ	7
X. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА	8
XI. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ	9
XII. ОГРАНИЧЕНИЯ ТЕСТА	10
XIII. СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ	10
XIV. ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ И РЕМОНТ	11
XV. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА	11
XVI. ОБЪЯСНЕНИЕ ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СИМВОЛОВ	11
Приложение	12

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

I. НАЗНАЧЕНИЕ

«Набор реагентов для выявления антител класса G к spike белку SARS-CoV-2 методом иммуноферментного анализа» («ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G (S)») предназначен для качественного выявления антител класса G к spike белку SARS-CoV-2, вызывающего COVID-19, в сыворотке или плазме крови человека методом иммуноферментного анализа (ИФА).

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

Предназначен для профессионального использования специально обученным персоналом.

Показания к применению – в соответствии с назначением, установленным производителем.

Противопоказаний в рамках установленного назначения не имеет. Не применять не по назначению.

Область применения – клиническая лабораторная диагностика.

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

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

II. ПРИНЦИП ТЕСТА

Метод определения основан на непрямом двухстадийном иммуноферментном анализе. В лунках полистиролового планшета иммобилизованы рекомбинантные антигены с последовательностью SARS-CoV-2, включая последовательность рецептор - связывающего домена (RBD) поверхностного гликопротеина S. При наличии в исследуемых образцах специфических антител класса G к SARS-CoV-2 образуется иммунный комплекс антиген-антитело (стадия 1), который детектируется конъюгатом – антитела к IgG человека, меченные пероксидазой хрена (стадия 2).

При добавлении субстратной смеси (ТМБ+СБ) в лунки планшета происходит окрашивание раствора в синий цвет. Реакцию останавливают добавлением в раствор стоп-реагента. При этом синий цвет раствора меняется на желтый. Интенсивность окрашивания прямо пропорциональна концентрации антител к SARS-CoV-2 в образце. Учёт результатов можно проводить при длине волны 450 нм или 450/620-680 нм.

III. СОСТАВ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

Характеристики реагентов		Форма выпуска
		 96
Иммуносорбент	Планшет полистироловый 96-луночный разборный до стрипов (или до лунок), в лунках которого сорбирован spike белок SARS-CoV-2. Готов к применению.	1 планшет
Конъюгат	Концентрат (x21). Антитела к IgG человека, меченные пероксидазой хрена. Прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная или светло-жёлтого цвета жидкость.	1 фл. 0,6 мл

Инструкция по применению «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G (S)»

К	Раствор для разведения конъюгата. Готов к применению. Прозрачная или слегка опалесцирующая жёлтого цвета жидкость. Содержит 0,10% ProClin 300*.	1 фл. 12,5 мл
+	Контрольный положительный образец. Готов к применению. Прозрачная или слегка опалесцирующая красного цвета жидкость. Содержит 0,10% ProClin 300*, 0,10% азида натрия*.	1 фл. 1,2 мл
-	Контрольный отрицательный образец, инактивированный. Готов к применению. Прозрачная или слегка опалесцирующая зелёного цвета жидкость.	1 фл. 2,0 мл
Р	Блок-раствор для разведения сывороток. Готов к применению. Прозрачная или слегка опалесцирующая розового цвета жидкость, допустимо образование осадка.	1 фл. 12,5 мл
РС	Раствор для предварительного разведения сывороток. Готов к применению. Прозрачная или слегка опалесцирующая фиолетово-синего цвета жидкость.	1 фл. 12,5 мл
Р	Промывочный раствор. Концентрат (×25) фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т). Прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная или светло-жёлтого цвета жидкость, допустимо образование осадка, полностью растворяющегося при температуре от 35 до 39 °С и встряхивании.	1 фл. 50,0 мл
Стоп-реагент	Раствор серной кислоты (0,2М)*. Готов к применению. Прозрачная бесцветная жидкость.	1 фл. 25,0 мл
Б	Субстратный буферный раствор – цитратный буфер, содержащий раствор перекиси водорода. Готов к применению. Прозрачная бесцветная жидкость.	1 фл. 25,0 мл
МБ	Концентрат (×11). Раствор, содержащий 3,3',5,5'-тетраметилбензидин. Прозрачная бесцветная жидкость, возможно наличие окраски.	1 фл. 2,5 мл
Планшет для предварительного разведения сывороток	Планшет полистироловый с бесцветными лунками.	1 планшет
Лёнка защитная для ИФА-планшетов		2 шт.
Законечники одноразовые		16 шт.
Баночка пластиковая для жидких реагентов		2 шт.
Пакет полиэтиленовый с замком Zip-Lock		1 шт.
Инструкция по применению		1 шт.

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

Набор комплектуется готовыми реагентами и концентрированными растворами. Имеется маркировка посредством штрих-кодов, а также цветовая кодировка для ряда реагентов. Цветовая кодировка реагентов – условное обозначение цвета/окраски жидких реагентов: К- – зелёный, К+ – красный.

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

IV. ЭФФЕКТИВНОСТЬ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

4.1. Диагностическая чувствительность

• Коммерческие панели образцов

Диагностическая чувствительность набора реагентов «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G (S)» при тестировании образцов панели “AccuSet™ SARS-CoV-2 Performance Panel”, SeraCare (n=11), USA, составила 100%.

• Образцы сыворотки крови от пациентов с подтвержденным COVID-19

Для определения диагностической чувствительности была исследована панель из 50 клинических образцов сыворотки крови пациентов с подтвержденным диагнозом COVID-19 (положительные результаты ПЦР-тестирования и КТ грудной клетки). Все образцы были отобраны не ранее чем через две с половиной недели от начала появления симптомов заболевания. Все образцы показали положительный результат в наборе реагентов «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G (S)». Диагностическая чувствительность набора реагентов составила 100% (95% CI: 92,86%-100,0%).

Была оценена частота выявления антител в разные сроки развития заболевания, исследованы 225 образцов сыворотки крови пациентов с подтвержденным клиническим и лабораторным диагнозом COVID-19 (Таблица 1).

Таблица 1

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

№	Группа	Количество образцов	% положительных результатов	Ожидаемый уровень сероконверсии*, %
1	0-7 дней от появления первых симптомов	98	39,88	3,6-50%
2	8-14 дней	62	79,03	48,7- 97,4%
3	15-47 дней	65	100,00	ND

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

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

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

• Образцы сыворотки крови от вакцинированных пациентов

– 25 образцов сыворотки крови от пациентов, вакцинированных препаратом «Гам-КОВИД-Вак» (торговое название «Спутник V»). Процент положительных результатов составил 100% (95% CI: 86,68% - 100,00%);

– 10 образцов сыворотки крови от вакцинированных лиц препаратом «Спутник Лайт». Процент положительных результатов составил 100% (95% CI: 72,25% - 100,00%);

– 10 образцов сыворотки крови от вакцинированных лиц препаратом «КовиВак». Процент положительных результатов составил 80% (95% CI: 49,02% - 94,33%).

Образцы сыворотки крови от пациентов, вакцинированных «Гам-КОВИД-Вак-Лео», «ЭпиВакКорона», «ЭпиВакКорона-Н», «Гам-КОВИД-Вак-М» не исследовались.

4.2. Диагностическая специфичность

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

– 353 образцов сыворотки крови случайной выборки доноров, забранных до ноября 2019 года. Специфичность составила 100,0% (95% CI: 98,92% - 100,00%);

– 90 образцов сыворотки крови госпитальных пациентов с неинфекционными заболеваниями, забранных до ноября 2019 года. Специфичность составила 100,0% (95% CI: 95,91% - 100,00%);

– 90 образцов сыворотки крови беременных женщин, забранных до ноября 2019 года. Специфичность составила 100,0% (95% CI: 95,91% - 100,00%);

– 99 образцов сыворотки крови человека, забранных до ноября 2019 года, содержащих антитела к возбудителям инфекционных заболеваний: Coronavirus 229E, Coronavirus OC43, Coronavirus HKU1, Coronavirus NL63, Influenza A, Influenza B, Respiratory syncytial virus, Haemophilus influenza, HBV, HCV, HIV-1,2, EBV, Chlamydia pneumonia, Mycoplasma pneumonia. Диагностическая специфичность составила 100,0% (95% CI: 96,26% - 100,00%);

Общая диагностическая специфичность набора реагентов «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G (S)» составила 100,0% (95% CI: 99,40%-100,00%).

4.3. Аналитическая специфичность

• Влияние интерферирующих веществ

Влияние потенциально интерферирующих веществ на работу медицинского изделия «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G (S)» было оценено при исследовании:

– 50 образцов панели интерферирующих веществ IN.VENT. Определено, что беременность,

наличие в образцах сыворотки крови антител к *Escherichia coli*, НАМА, а также ревматоидного фактора до 77,4 Ед/мл, образцов с липидемией, содержащих до 204 мг/дл (2,04 мг/мл) холестерина, не влияет на специфичность «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G (S)».

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

• Перекрестная реактивность

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

4.4. Воспроизводимость

Коэффициент вариации тестирования положительных образцов внутри планшета, между планшетами одной серии и между сериями набора реагентов «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G (S)» не превышает 10%.

4.5. Эквивалентность образцов сыворотки и плазмы крови человека

Исследованием положительных (n=25) и отрицательных (n=25) на SARS-CoV-2-G парных образцов сыворотки и плазмы крови человека, содержащей различные антикоагулянты (ЭДТА, гепарин, цитрат натрия), была показана их эквивалентность, что позволяет отнести показатели диагностической чувствительности и специфичности к обоим видам исследуемых образцов.

V. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

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

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

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

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

5.5. Контрольный отрицательный образец (К-) приготовлен с использованием инактивированной сыворотки крови человека, не содержащей IgG к SARS-CoV-2, HBsAg, антиген р24 ВИЧ-1, антитела к ВИЧ-1, 2 и HCV.

5.6. Контрольный положительный образец (К+) содержит антитела класса G к SARS-CoV-2 RBD.

5.7. При работе с реагентами набора (К+ и К-) и исследуемыми образцами нужно обращаться как с потенциально опасными материалами, т.к. ни один метод тестирования не может гарантировать отсутствие инфекционных агентов.

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

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

5.10. Для получения надежных результатов необходимо:

- обеспечить установленные условия хранения набора;
- строго соблюдать требования Инструкции по применению набора реагентов.

5.11. Не использовать МИ:

- при повреждении целостности упаковки реагентов;
- при несоответствии внешнего вида реагентов (см. п. III Состав набора реагентов);
- при повреждении маркировки.

VI. УТИЛИЗАЦИЯ И УНИЧТОЖЕНИЕ

- 6.1. Изделия в процессе хранения и транспортирования не выделяют вредных веществ, загрязняющих окружающую среду. Отходы, образующиеся в результате применения набора реагентов по назначению, установленному производителем, а также не использованные изделия (истекший срок годности, поврежденная потребительская упаковка/маркировка, поврежденная упаковка/маркировка реагентов и т.д.) относятся к медицинским отходам класса «А», «Б» и «Г» в соответствии со ст. 49 Федерального закона от 21.11.2011 г. N 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации».
- 6.2. Медицинские отходы подлежат сбору, обезвреживанию, размещению, хранению, транспортировке, учету и утилизации в соответствии с действующими правилами и нормативами (СанПиН 2.1.3684-21, СанПиН 3.3686-21, МУ 287-113).

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

- Вода дистиллированная (деионизированная);
- Дозаторы пипеточные переменного объема для отбора жидкостей;
- Наконечники одноразовые для дозаторов пипеточных;
- Инкубатор микропланшетный (термостат) $(37,0 \pm 1,0) ^\circ\text{C}$;
- Устройство для промывания планшетов (вошер);
- Планшетный спектрофотометр (ИФА-ридер) с фильтрами 450 нм и 620-680 нм;
- Бумага фильтровальная лабораторная;
- Средства измерения времени (часы, таймер);
- ИФА-анализатор открытого типа с фильтрами 450 нм или 450 и 620-680 нм (для постановки ИФА в автоматическом режиме).

VIII. ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Сбор образцов крови человека проводить в соответствии с текущей практикой методом венепункции. Для анализа использовать только нативные (неразведённые) образцы сыворотки крови человека или плазмы крови человека с различными антикоагулянтами (ЭДТА, гепарин, цитрат натрия). Во избежание гемолиза необходимо как можно быстрее отделить плазму от эритроцитов или сыворотку от сгустка. Образцы, содержащие агрегаты или осадок, осветлять центрифугированием. Для исследования могут быть использованы образцы сыворотки/плазмы крови человека, прошедшие термоинактивацию в течение 30 минут при $56 ^\circ\text{C}$.

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

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

IX. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

9.1. Общие требования и рекомендации:

- Нельзя использовать реагенты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме:
 - Неспецифических реагентов (**ПР, СБ**), которые взаимозаменяемы во всех наборах реагентов производства ООО «НПО «Диагностические системы»;
 - **Стоп-реагента**, который может быть взаимозаменяемым в зависимости от молярности раствора;
 - другие реагенты также могут быть взаимозаменяемыми для постановки в большинстве наборов-реагентов ООО «НПО «Диагностические системы»;
 - за более детальной информацией относительно других реагентов обратитесь в службу поддержки пользователей по телефону бесплатной линии 8-800-555-0300 (доб. 7626, 7655) или по E-mail: info@npods.ru; help-ds@npods.ru.
- Рабочие растворы готовить осторожно, исключая какое-либо загрязнение. Использовать одноразовую или химически чистую лабораторную посуду для приготовления реагентов. Не допускать контакта металлических предметов с реагентами.

- Каждая лунка Иммуносорбента предназначена для однократного использования.
- Не подвергать реагенты и рабочие растворы воздействию высоких температур или прямого солнечного света.
- Перед использованием флаконы с жидкими реагентами перемешать, не допуская вспенивания.

9.2. Реагенты, готовые к использованию:

- **Иммуносорбент.** Планшет, состоящий из 12 стрипов и рамки, упакован в фольгированный пакет. Вскрыть фольгированный пакет, отступив 1 см от края пакета, и взять необходимое количество стрипов.
- **K+, K-, БР, РРК, Стоп-реагент (0,2М).**

9.3. Реагенты, требующие предварительного приготовления:

- **Рабочий ПР:** Необходимый объём концентрата ПР ($\times 25$) развести в 25 раз соответствующим объёмом воды дистиллированной (деионизированной) и тщательно перемешать.
- **Рабочий Конъюгат:** Необходимый объём концентрата Конъюгата ($\times 21$) развести в 21 раз соответствующим объёмом РРК, осторожно перемешать, не допуская вспенивания.
- **Субстратная смесь (СС):** Необходимый объём концентрата ТМБ ($\times 11$) развести в 11 раз соответствующим объёмом СБ и тщательно перемешать. Возможно приготовление СС непосредственно во флаконе с СБ. Для этого нужно отобрать дозатором пипеточным необходимым объём ТМБ (2,5 мл), перенести во флакон с СБ (25,0 мл) и тщательно перемешать.

Расход реагентов набора в зависимости от количества используемых стрипов

Количество используемых стрипов		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Рабочий ПР	ПР ($\times 25$), мл	3,0	6,0	9,0	12,0	15,0	18,0	21,0	24,0	27,0	30,0	33,0	40,0
	Вода, мл	72,0	144,0	216,0	288,0	360,0	432,0	504,0	576,0	648,0	720,0	792,0	960,0
Рабочий Конъюгат	Конъюгат ($\times 21$), мл	0,05	0,10	0,15	0,20	0,25	0,30	0,35	0,40	0,45	0,50	0,55	0,60
	РРК, мл	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0
СС	ТМБ ($\times 11$), мл	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0	1,1	1,2
	СБ, мл	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0

Х. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

10.1. Общие требования и рекомендации:

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

10.2. Проведение ИФА:

Этап	Процедура постановки
1	В лунки планшета для предварительного разведения сывороток внести по 90 мкл РРС и по 10 мкл исследуемых образцов, тщательно перемешивая пипетированием. При этом фиолетово-синий цвет должен измениться на голубовато-зелёный.
2	Внести в лунки Иммуносорбента по 100 мкл К+, К-. <u>1 стрип</u> – 1 лунка К+, 1 лунка К-; <u>2 стрипа и более</u> – 1 лунка К+, 3 лунки К-.
3	В остальные лунки Иммуносорбента внести по 90 мкл БР и по 10 мкл предварительно разведённых исследуемых образцов (конечное разведение исследуемых образцов 1:100), тщательно перемешивая пипетированием.
4	Планшет накрыть защитной плёнкой и выдержать в термостате 30 мин при температуре $(37,0 \pm 1,0) ^\circ\text{C}$.
5	С помощью промывочного устройства удалить содержимое лунок в ёмкость с дезинфицирующим раствором и промыть планшет 4 раза рабочим раствором ПР. Для этого осторожно внести рабочий ПР в лунки планшета до краёв (не менее 350 мкл в лунку), затем удалить в ёмкость с дезинфицирующим раствором. При необходимости удалить остатки влаги путем отстукивания по сложенной в несколько слоёв фильтровальной бумаге. <i>Рекомендуется использовать автоматический микроплашетный вошер. Недостаточная промывка может неблагоприятно повлиять на точность анализа.</i>
6	Во все лунки планшета внести по 100 мкл раствора рабочего Конъюгата.
7	Планшет накрыть защитной плёнкой и выдержать в термостате в течение 30 мин при температуре $(37,0 \pm 1,0) ^\circ\text{C}$.
8	С помощью промывочного устройства удалить содержимое лунок и промыть планшет 4 раза рабочим ПР, как описано в п 5.
9	Во все лунки планшета внести по 100 мкл СС.
10	Планшет выдержать 20 мин в защищённом от света месте при комнатной температуре: $(18-25) ^\circ\text{C}$.
11	Реакцию остановить добавлением во все лунки по 150 мкл Стоп-реагента и через 1-2 мин, но не позднее 20 мин, измерить ОП при длине волны 450/620-680 нм. Допустимо измерять ОП при одной длине волны – 450 нм.

Схема проведения ИФА приведена в Приложении.

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

XI. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учёт результатов провести спектрофотометрически при двух длинах волн – 450 нм и при референс-длине волны в диапазоне от 620 до 680 нм с настройкой прибора по «воздуху». Допустим учёт результатов при одной длине волны – 450 нм.

Реакцию учитывать, если значение оптической плотности (ОП) в лунке с К+ – не менее 1,500, а среднее значение ОП в лунках с К- – не более 0,150.

Рассчитать ОП_{крит.} по формуле:

$$\text{ОП}_{\text{крит.}} = \text{ОП}_{\text{сер.К-}} + A \quad (A=0,300),$$

где **A** – коэффициент, определяемый производителем методом статистической обработки результатов постановки ИФА, величину которого указывают для каждой серии в инструкции по применению и в паспорте на серию.

Рассчитать КП по формуле:

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

Исследуемые образцы расценивать как положительные: если $\text{КП} > 1,2$.

Исследуемые образцы расценивать как отрицательные: если $\text{КП} < 0,8$.

Исследуемые образцы расценивать как неопределённые: если $0,8 \leq \text{КП} \leq 1,2$.

При получении неопределённых результатов $0,8 \leq \text{КП} \leq 1,2$ необходимо исследование сыворотки (плазмы) крови человека на наличие антител класса G к SARS-CoV-2 через 1-2 недели. В случае получения неопределённых результатов такие образцы считать отрицательными.

Использование коэффициента позитивности позволяет проводить сравнительный анализ уровня специфических антител в парных образцах сыворотки крови и отслеживать динамику изменения уровня специфических IgG-антител к SARS-CoV-2.

ХII. ОГРАНИЧЕНИЯ ТЕСТА

- Результаты, полученные в этом или любом другом диагностическом тесте, должны быть использованы и интерпретированы только в контексте всей клинической картины.
- Диагностика инфекции SARS-CoV-2 возможна только при наличии клинических проявлений и комплекса лабораторных исследований (выявление увеличения уровня антител к SARS-CoV-2, положительный результат ПЦР).
- Отрицательный результат теста не исключает возможности наличия инфекции SARS-CoV-2, т.к. забор крови может быть осуществлен в период серонегативного окна.
- Низкий КП (КП < 2,0) может свидетельствовать о наличии слабого или неспецифического иммунитета к SARS-CoV-2, связанного с кросс-реактивностью с другими коронавирусами.
- Результаты одного и того же образца, протестированного в тест-системах разных производителей, могут различаться. Это связано с разнообразием используемого сырья и/или формата теста.
- При иммунодефицитных состояниях может наблюдаться задержка образования антител к SARS-CoV-2.

ХIII. СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

13.1	Срок годности набора реагентов 12 месяцев. Наборы с истекшим сроком годности использованию не подлежат.		
13.2	Условия хранения набора реагентов		
	Хранить наборы при температуре от 2 до 8 °С в сухом, защищенном от света месте с использованием оборудования и помещений, обеспечивающих заданные условия, в соответствии с установленными правилами. Замораживание не допускается.		
	Наборы, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, использованию не подлежат.		
13.3	Условия транспортирования набора реагентов		
	Транспортировать наборы следует крытым транспортом, с соблюдением температурного режима, установленного изготовителем, в соответствии с установленными правилами перевозок. Наборы, транспортированные с нарушением температурного режима, использованию не подлежат.		
	Наборы реагентов транспортировать при температуре от 2 до 8 °С.		
	Допускается транспортирование: при температуре от 9 до 25 °С		не более 10 сут
13.4	Условия и сроки хранения рабочих растворов (хранить в чистых флаконах в защищённом от света месте)		
	Рабочий ПР	при температуре от 2 до 8 °С	не более 28 сут
		при температуре от 18 до 25 °С	не более 14 сут
	Рабочий Конъюгат	при температуре от 2 до 25 °С	не более 12 ч
	СС	при температуре от 2 до 25 °С	не более 10 ч
13.5	Условия и сроки хранения неиспользованных реагентов набора после вскрытия		
	Хранить в сухом, защищённом от света месте при температуре от 2 до 8 °С. Замораживание не допускается.		
	Иммуносорбент	После вскрытия неиспользованные стрипы без рамки поместить в фольгированный пакет (не удаляя силикагель!) и тщательно герметизировать. Для этого край пакета следует свернуть 2-3 раза и поместить фольгированный пакет со стрипами в полиэтиленовый пакет с замком Zip-Lock.	в течение срока годности набора реагентов
	Конъюгат, РПК, К+, К-, БР, РРС, ПР, Стоп-реагент, СБ, ТМБ	Флаконы плотно закрыть винтовыми крышками и хранить в упаковке производителя.	в течение срока годности набора реагентов

XIV. ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ И РЕМОНТ

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

XV. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

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

ООО «НПО «Диагностические системы»

603093, Россия, г. Нижний Новгород, ул. Яблонева, 22

Тел./факс: (831) 434-86-83, 8-800-555-0300

E-mail: info@npods.ru, www.npods.ru.

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

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

XVI. ОБЪЯСНЕНИЕ ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СИМВОЛОВ

	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>		
	Изготовитель		Обратитесь к инструкции по применению
	Номер по каталогу		Предел температуры
	Содержимого достаточно для проведения <i>n</i> тестов (количество определений)		Не допускать воздействия солнечного света
	Код партии (номер серии)		Беречь от влаги
	Дата изготовления (YYYY-MM)		Внимание
	Срок годности (дата истечения срока годности в формате YYYY-MM-DD)		Верх
	Не использовать при повреждении упаковки		Хрупкое, обращаться осторожно

Директор по производству

ООО «НПО «Диагностические системы», к.б.н.

В.К. Пименов

Краткая схема

(допускается использование как формы записи)

Серия:			
Годен до:		Дата проведения:	
Этапы проведения анализа			Отметка о выполнении
Выдержать набор реагентов		Не менее 30 мин, (18-25) °C	☐
Приготовить Рабочий ПР		1 часть ПР (x25) + 24 части H ₂ O	☐
Манипуляции на планшете для предварительного разведения			
Внести в лунки планшета для предварительного разведения		РРС по 90 мкл Исследуемые образцы по 10 мкл	☐
Внести К+, К-		В лунки Иммуносорбента по 100 мкл: 1 стрип – 1 лунка К+, 1 лунка К-; 2 стрипа и более – 1 лунка К+, 3 лунки К-	☐
Внести БР Предварительно разведённые исследуемые образцы		В остальные лунки Иммуносорбента БР по 90 мкл в каждую лунку Предварительно разведённые исследуемые образцы по 10 мкл	☐
Инкубировать		Накрыть плёнкой, (37,0±1,0) °C, 30 мин	☐
Промыть Рабочим ПР		По 350 мкл 4 раза в каждую лунку	☐
Приготовить Рабочий Конъюгат		1 часть Конъюгата (x21) + 20 частей РРК	☐
Внести Рабочий Конъюгат		По 100 мкл в каждую лунку	☐
Инкубировать		Накрыть плёнкой, (37,0±1,0) °C, 30 мин	☐
Промыть Рабочим ПР		По 350 мкл 4 раза в каждую лунку	☐
Приготовить Субстратную смесь (СС)		1 часть ТМБ (x11) + 10 частей СБ	☐
Внести СС		По 100 мкл в каждую лунку	☐
Инкубировать		(18-25) °C, в темноте, 20 мин	☐
Внести Стоп-реагент		По 150 мкл в каждую лунку	☐
Измерить ОП		При 450/620-680 нм или 450 нм	☐
Рассчитать ОП _{крит.} и КП. Провести оценку результатов			☐
Выполнил (ФИО)		(подпись)	
Проверил (ФИО)		(подпись)	



Прошнуровано, пронумеровано и скреплено печатью

13 (тринадцать) листов(а)
цифрами прописью

Директор по научной работе

ФГБУ «ПИМУ» Минздрава России, д.м.н.

Благонравова А.С.

личная подпись

Прошнуровано, пронумеровано и скреплено печатью

13 (тринадцать) листов(а)
цифрами прописью

заместитель генерального директора

Шлюндин О.Н.

личная подпись

