

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор
ООО «ИМБИАН ЛАБ»

В.В. Осипова

« 13 » **ИМБИАН ЛАБ** 2022 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ *IN VITRO*

Набор реагентов для иммуноферментного количественного определения иммуноглобулинов класса G (IgG) к рецептор-связывающему домену поверхностного гликопротеина S (spike) коронавируса SARS-CoV-2 «SARS-CoV-2 IgG RBD-количественный-ИМБИАН-ИФА» по ТУ 21.20.23-093-41390295-2021

1. ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ

1.1. Назначение набора

Набор реагентов для иммуноферментного количественного определения иммуноглобулинов класса G (IgG) к рецептор-связывающему домену поверхностного гликопротеина S (spike) коронавируса SARS-CoV-2 «SARS-CoV-2 IgG RBD-количественный-ИМБИАН-ИФА» по ТУ 21.20.23-093-41390295-2021 предназначен для определения количества антител класса G (IgG) к рецептор-связывающему домену поверхностного гликопротеина S (spike) коронавируса SARS-CoV-2 (далее по тексту RBD-домен) в сыворотке и плазме крови (с гепарином, ЭДТА и цитратом натрия) человека методом твердофазного непрямого иммуноферментного анализа (ИФА).

Набор реагентов «SARS-CoV-2 IgG RBD-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 специфично на RBD-домен поверхностного гликопротеина S вируса SARS-CoV-2 у пациентов после вакцинации:

Гам-КОВИД-Вак (ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России);

Спутник Лайт (ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России);

КовиВак (ФГБНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН»).

Популяционные и демографические характеристики. Количественное определение IgG антител к RBD-домену поверхностного гликопротеина S (spike) коронавируса SARS-CoV-2 рекомендовано населению всех возрастных групп для оценки иммунного статуса организма к COVID-19 с целью определить интенсивность защиты организма по уровню нейтрализующих антител или оценить целесообразность проведения вакцинации в данный период.

Только для диагностики *in vitro*.

1.2. Область применения — клиническая лабораторная диагностика.

1.3. Набор реагентов «SARS-CoV-2 IgG RBD-количественный-ИМБИАН-ИФА» предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике специально обученным персоналом с высшим или средним медицинским, или биологическим образованием, прошедшим подготовку на лицензированных курсах первичной специализации по

работе с патогенными для человека микроорганизмами и получившим дополнительное специальное образование на курсах повышения квалификации. Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗДЕЛИЯ

2.1. Состав набора реагентов представлен в таблице 1.

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

Название компонента	Описание компонента	Количество
Иммуносорбент	96-луночный разборный полистироловый планшет для иммунологических реакций с плоским дном (12 стрипов по 8 лунок) с сорбированным рекомбинантным антигеном, иммунологически идентичным рецептор-связывающему домену поверхностного гликопротеина S (spike) коронавируса SARS-CoV-2	1 шт.
КО₀*	Инактивированный калибровочный образец на основе сыворотки крови человека, не содержащий антител к RBD-домену SARS-CoV-2. Прозрачная бесцветная жидкость. <i>Содержит проклин-300 (0,1%). Готов к применению.</i>	1 флакон (2,0 мл)
КО₁₀₀*	Инактивированный калибровочный образец на основе сыворотки крови человека, содержащий 100 BAU/мл IgG антител к RBD-домену SARS-CoV-2. Прозрачная жидкость бледно-желтого цвета. <i>Содержит проклин-300 (0,1%). Готов к применению.</i>	1 флакон (2,0 мл)
КО₁₂₅₀*	Инактивированный калибровочный образец на основе сыворотки крови человека, содержащий 1250 BAU/мл IgG антител к RBD-домену SARS-CoV-2. Прозрачная жидкость желтого цвета. <i>Содержит проклин-300 (0,1%). Готов к применению.</i>	1 флакон (2,0 мл)
КО₅₀₀₀*	Инактивированный калибровочный образец на основе сыворотки крови человека, содержащий 5000 BAU/мл IgG антител к RBD-домену SARS-CoV-2. Прозрачная жидкость ярко-желтого цвета. <i>Содержит проклин-300 (0,1%). Готов к применению.</i>	1 флакон (2,0 мл)
К(+)	Инактивированный контрольный образец на основе сыворотки крови человека, содержащий IgG антитела к RBD-домену SARS-CoV-2 в пределах, указанных в паспорте и на этикетке флакона, BAU/мл. Готов к применению. Прозрачная жидкость красного цвета. <i>Содержит проклин-300 (0,1%). Готов к применению.</i>	1 флакон (2,0 мл)
ФСБ-Т(x26)	Концентрат промывочного раствора, 26-кратный. Фосфатно-солевой буферный раствор с твином. Слегка опалесцирующая, бесцветная жидкость, возможно выпадение осадка. <i>Содержит бензоат натрия (0,2%). Требуется разведение</i>	1 флакон (30,0 мл)
РРО	Раствор для разведения образцов. Опалесцирующая жидкость синего цвета. <i>Содержит проклин-300 (0,1%). Готов к применению.</i>	1 флакона (20,0 мл)
РК	Раствор конъюгата. Раствор мышинных моноклональных антител против IgG человека с пероксидазой хрена.	1 флакон (13,0 мл)

Название компонента	Описание компонента	Количество
	Прозрачная жидкость зеленого цвета. Содержит фенол (0,1%). Готов к применению.	
ТМБ	Раствор тетраметилбензидина. Прозрачная бесцветная жидкость. Содержит бензоат натрия (0,2%). Готов к использованию.	1 флакон (13,0 мл)
Стоп-реагент	Прозрачная бесцветная жидкость. Содержит кислоту серную (1,0 моль/литр). Готов к использованию.	1 флакон (7,0 мл)
Пленка для заклеивания планшета		3 шт.
Ванночки для реагентов		3 шт.
Наконечники для пипеток		24 шт.
Трафарет для построения калибровочного графика		1 шт.
Инструкция по применению 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»).

В комплект каждой поставки должен входить паспорт качества в одном экземпляре независимо от количества наборов реагентов в поставке.

2.2. **Диапазон измерений:** 100 – 5000 BAU/мл.

2.3. **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.

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

Растворы реагентов **ФСБ-Т (x26)**, **РРО** и **Стоп-реагент** являются унифицированными неспецифическими компонентами наборами реагентов и могут применяться для исследования в любых сериях наборов реагентов.

2.4. **Принцип метода**

Принцип действия набора реагентов — непрямой двухстадийный иммуноферментный анализ.

На поверхности лунок полистиролового планшета сорбированы рекомбинантный антигены иммунологически идентичные антигену RBD 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.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

2.5. Аналитические характеристики

2.5.1. Предел обнаружения:

Минимально определяемая концентрация IgG к RBD-домену SARS-CoV-2 – 5,0 BAU/мл (BAU – «binding antibody units» («единицы связывающих антител»)).

2.5.2. Повторяемость

В рамках проведения внутренних испытаний при исследовании повторяемости на трех положительных образцах сыворотки крови человека в тридцати повторях на шести сериях набора реагентов «SARS-CoV-2 IgG RBD-количественный-ИМБИАН-ИФА» внутрисерийный и межсерийный коэффициенты вариации измерения оптической плотности не превысили 8%.

В рамках проведения клинических испытаний при исследовании повторяемости на контрольном образце K(+) в восьми повторях коэффициент вариации измерения оптической плотности K(+) не превысил 8,0%.

В рамках проведения клинических испытаний повторяемость оценивали на шести наборах двух серий, анализируя 6 положительных образцов сыворотки крови и 6 положительных образцов плазмы крови человека с различной концентрацией IgG антител к RBD-домену SARS-CoV-2 в тридцати повторях. Внутрисерийный коэффициент вариации результатов в одном и том же образце для каждого типа не превысил 8%. Межсерийный коэффициент вариации результатов в одном и том же образце для каждого типа не превысил 8%.

2.5.3. Тест на «открытие»

По итогам клинических испытаний значение «открытия» для образцов с известной концентрацией IgG к RBD-домену SARS-CoV-2 в десяти повторях находилось в пределах 90-110%.

2.5.4. Интерсепт

По итогам клинических испытаний значения 20%, 50% и 80% интерсепта не выходили за пределы заданных интервалов при учете результатов анализа при длине волны:

	$\lambda = 405 \text{ нм}$	$\lambda = 450 \text{ нм}$
20%	360 – 440	270 – 330
50%	900 – 1100	600 – 720
80%	2700 – 3300	900 – 1100

2.5.5. Линейность

По итогам клинических испытаний линейность для образцов с известной концентрацией IgG к RBD-домену находилась в пределах 90-110%

– при учете результатов анализа при длине волны 405 нм – в диапазоне концентраций IgG к RBD-домену SARS-CoV-2 100-5000 BAU/мл;

– при учете результатов анализа при длине волны 450 нм – в диапазоне концентраций IgG к RBD-домену SARS-CoV-2 100-1250 BAU/мл.

2.5.6. Точность

По итогам клинических испытаний близость результата измерения к истинному значению аналита для образцов с известной концентрацией IgG к RBD-домену SARS-CoV-2 находилась в пределах 90-110%.

2.5.7. Правильность

По итогам клинических испытаний среднее значения восьми повторов K(+), полученных в параллельных измерениях, находилось в пределах, указанных в паспорте и на этикетке флакона.

2.6. Диагностические характеристики

2.6.1. Воспроизводимость

Для определения воспроизводимости анализа была проведена оценка результатов повторяемости анализа в двух лабораториях: проведение предварительных испытаний в лаборатории экспериментального моделирования и патогенеза инфекционных заболеваний ФИЦ ФТМ, проведение клинических испытаний в ЕИЗИ ФИЦ ФТМ. Коэффициент вариации результатов испытаний при исследовании положительных образцов, содержащих IgG антитела к RBD-домену SARS-CoV-2, не превышает 8,0%.

2.6.2. Перекрестная реактивность

В рамках клинических испытаний перекрестную реактивность набора реагентов изучали на 496 заведомо отрицательных сыворотках крови человека из хранилища крови ФИЦ ФТМ, 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-Барр, вируса кори, цитомегаловирус, ротавирус, норовирус, вирус эпидемического паротита, вирус ветряной оспы, эховирусы, герпесвирусы человека, парамиксовирус, А-Н1N1, А-Н3N2, вирус Эбола. Кроме того, были исследованы патогены бактериальной и грибковой природы: *Bordetella pertussis*, *Chlamydia pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Haemophilus influenza*, *Mycoplasma pneumonia*, *Streptococcus pneumoniae*, *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*.

Результаты ИФА показали, что ложноположительные результаты при применении набора отсутствуют.

2.6.3. Интерферирующие вещества

В клинических испытаний оценку влияния интерферирующих веществ на результат анализа набора «SARS-CoV-2 IgG RBD-количественный-ИМБИАН-ИФА» проводили на 180 образцах сыворотки крови человека, содержащих и не содержащих IgG к RBD-домену SARS-CoV-2.

По результатам клинических испытаний на результат анализа не оказывали влияние гемоглобин (до 300 г/л), холестерин (до 4 г/л), общий белок (до 150 г/л), глюкоза (до 2000 мг/л), триглицериды (до 10 г/л), этанол (до 2000 мг/л), мочевины (до 800 мг/л), молочная кислота (до 400 мг/л) и общий билирубин (до 300 мг/л) в клинических образцах.

2.6.4. Эквивалентность

В рамках клинических испытаний оценку эквивалентности результатов анализа набора «SARS-CoV-2 IgG RBD-количественный-ИМБИАН-ИФА», полученных при постановке анализа на 25 образцах сыворотки и плазмы крови человека (с гепарином, цитратом натрия и ЭДТА), полученных от одного и того же пациента, и содержащих и не содержащих IgG антитела к RBD-белку SARS-CoV-2.

В результате внутренних и клинических испытаний была доказана эквивалентность сыворотки к плазме крови человека (с гепарином, цитратом натрия, ЭДТА).

2.6.5. Стабильность

В рамках внутренних испытаний проведена оценка стабильности для установления срока годности и условий хранения набора «SARS-CoV-2 IgG RBD-количественный-ИМБИАН-ИФА».

По результатам испытаний «SARS-CoV-2 IgG RBD-количественный-ИМБИАН-ИФА»: сохраняет стабильность при температуре хранения от 2 до 8°C в течение срока годности (24 мес.) и в течение 1 мес. после окончания срока годности; сохраняет стабильность после транспортировки при температуре от 9 до 28°C в течении 10 суток и дальнейшего хранения при температуре от 2 до 8°C в течение срока годности (24 месяца) и в течение 1 месяца после окончания срока годности; сохраняет стабильность после вскрытия компонентов набора реагентов и дальнейшем хранении их при температуре от 2 до 8°C в течение 24 месяцев.

Воздействие температуры не выше 28°C в течение 10 суток не влияет на характеристики набора реагентов. Допускается транспортирование при температуре не выше 28°C в течение 10 суток.

Рабочий промывочный раствор ФСБ-Т хранится в течение 15 суток при температуре от 18 до 28°C или 45 суток при температуре от 2 до 8°C.

3. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

3.1. Потенциальный риск применения набора реагентов по Номенклатурной классификации медицинских изделий, утвержденной Приказом Минздрава Российской Федерации № 4н от 6 июня 2012 года – **класс 2б**.

3.2. 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 клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденную Минздравом СССР 17 января 1991 года; ГОСТ Р 52905-2007 (ИСО 15190:2003) «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

3.3. Так как контрольный образец, калибровочные и анализируемые образцы являются потенциально инфицированным биоматериалом, то при работе с набором реагентов необходимо использовать индивидуальные средства защиты: халат, головной убор, маску, перчатки, специальную обувь, защитные очки или щиток.

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

3.5. Сыворотка (плазма) крови человека, использованная для приготовления калибровочных образцов КО₀, КО₁₀₀, КО₁₂₅₀, КО₅₀₀₀ и контроля К(+), инаktivирована нагреванием при температуре (56±1)°C в течение 3 ч, содержит антитела IgG к RBD-домену вируса SARS-CoV-2 человека и не содержат антитела к ВИЧ-1,2, вирусу гепатита С и поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg).

3.6. Сыворотка (плазма) крови человека, использованная для приготовления контрольного образца КО₀, инаktivирована нагреванием при температуре (56±1)°C в течение 3 ч, не содержит антитела к IgG к RBD-домену вируса SARS-CoV-2, антитела к ВИЧ-1,2, вирусу гепатита С и поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg).

3.7. В состав компонентов КО₀, КО₁₀₀, КО₁₂₅₀, КО₅₀₀₀, К(+), ФСБ-Т(х26), РРО, РК, ТМБ входят консерванты в концентрациях, являющихся нетоксичными. КО₀, КО₁₀₀, КО₁₂₅₀, КО₅₀₀₀, К(+) и РРО содержат 0,1% проклина-300; РК — 0,1% фенола; ФСБ-Т(х26), ТМБ — 0,2% бензоата натрия. Все реактивы, входящие в состав компонентов набора реагентов в используемых концентрациях, являются нетоксичными.

3.8. **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.

3.9. Все компоненты, входящие в состав набора реагентов, предназначены только для диагностики *in vitro*.

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

3.11. 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".

3.12. 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.

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

4. ОБЕСПЕЧЕНИЕ КАЧЕСТВА ИССЛЕДОВАНИЙ

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

4.2. Не использовать реагенты с истекшим сроком годности.

4.3. Не использовать реагенты других производителей.

4.4. Нельзя использовать реагенты из наборов разных серий или смешивать их в процессе анализа (за исключением **ФСБ-Т (x26)**, **РРО** и **Стоп-реагент** – унифицированных неспецифических компонентов).

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

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

4.7. Исследования проводить в соответствии с условиями внешней среды для постановки анализа, представленными в таблице 2.

Таблица 2. Условия внешней среды для постановки анализа

№п/п	Показатели	Значения
1	Температура воздуха	18-25°C
2	Относительная влажность	40-60%

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

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

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

- 4.11. Использовать чистую, тщательно промытую лабораторную посуду.
- 4.12. Использовать прошедшие валидацию дозаторы и оборудование.
- 4.13. При работе с образцами и реагентами набора использовать чистые, новые одноразовые наконечники отдельно для каждого анализируемого образца и компонента набора реагентов.
- 4.14. 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.
- 4.15. Необходимо исключить контакт металлических предметов с растворами **РК** и **ТМБ**. Не использовать одну и ту же емкость, в том числе и многоразовую после промывки, для растворов **РК** и **ТМБ**.
- 4.16. Для отбора **РК** и **ТМБ** использовать разные дозаторы пипеточные. При использовании одного дозатора необходимо тщательно следить за чистотой посадочного конуса дозатора. Перед сменой реагента тщательно обрабатывать внутреннюю и внешнюю поверхности посадочного конуса 70% этиловым спиртом.
- 4.17. Использовать новые одноразовые ванночки для каждого компонента набора реагентов.
- 4.18. Для отмывки **Иммуносорбента** рекомендуется использовать автоматическое или ручное промывочное устройство. В конце рабочего дня необходимо проводить промывку системы подачи жидкости водой очищенной (деионизированной). Не реже 1 раза в неделю следует обрабатывать шланги и емкости промывочного устройства 70% этиловым спиртом.
- 4.19. Для исключения контаминации образцов друг другом и **К(+)** требуется аккуратная, тщательная работа без разбрызгивания компонентов и образцов.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Термогигрометр, позволяющий измерять температуру воздуха в диапазоне $0-30^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$, относительную влажность – 20-90%;
- 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.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ПРОБЫ

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

6.2. 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 -20°C.

6.3. 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.

6.4. Не рекомендуется использование для исследования образцов с видимым микробным загрязнением («проростом»).

6.5. 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.

7. ПОДГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

7.1. 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, КО₁₀₀, КО₁₂₅₀, КО₅₀₀₀, К(+), РРО, РК, ТМБ и Стоп-реагент готовы к использованию и не требуют дополнительных разведений.

Неиспользованные КО₀, КО₁₀₀, КО₁₂₅₀, КО₅₀₀₀, К(+), РРО, 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 разведения.

7.2. Подготовка Иммуносорбента

Вскрыть пакет с Иммуносорбентом. Установить в рамку Иммуносорбента необходимое количество стрипов или лунок. Неиспользуемые в данной постановке стрипы или лунки сразу после вскрытия пакета с планшетом поместить в фольгированный пакет с застежкой типа «зип-лок». 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 70% этиловым спиртом и затем дистиллированной водой (ГОСТ Р 58144-2018). Просушить, используя фильтровальную бумагу. Хранить в упаковке производителя вместе с другими неиспользованными реагентами.

Иммуносорбент (стрипы) использовать однократно!

7.3. Приготовление рабочего промывочного раствора ФСБ-Т

Внимание! В процессе хранения и транспортировки концентрата промывочного раствора **ФСБ-Т(х26)** возможно выпадение осадка солей.

При наличии осадка во флаконе с **ФСБ-Т(х26)** выдержать при температуре 37±1°C до полного растворения солей.

Необходимое количество рабочего промывочного раствора **ФСБ-Т** приготовить в соответствии с таблицей 3.

Рабочий промывочный раствор хранить при температуре от 18 до 28°C не более 15 суток или при температуре от 2 до 8°C не более 45 суток.

Неиспользованный концентрат промывочного раствора **ФСБ-Т (х26)** хранить в упаковке производителя при температуре от 2 до 8°C до истечения срока годности набора.

Таблица 3. Приготовление рабочего раствора ФСБ-Т(х26)

Количество												
ФСБ-Т(х26), мл	2,0	4,0	6,0	8,0	10,0	12,0	14,0	16,0	18,0	20,0	22,0	30,0
Вода*, мл	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500	550	750

*Примечание: *вода дистиллированная или деионизированная*

8. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Процедура №1 (использование термошейкера)

Этап анализа	Процедура этапа анализа	Примечание
1	Установить необходимое количество стрипов или лунок в рамку планшета	
2	В лунки Иммуносорбента внести по 100 мкл КО₆, КО₁₀₀, КО₁₂₅₀, КО₅₀₀₀, К(+) . В оставшиеся лунки внести по 90 мкл РРО , 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 5000 ВАУ/мл не использовать. При внесении образца в РРО цвет РРО должен меняться.
4	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 25 мин. Для инкубации использовать орбитальный термошейкер. 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.	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.

Этап анализа	Процедура этапа анализа	Примечание
	По окончании промывки при необходимости удалить влагу из лунок, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге	
6	Во все лунки Иммуносорбента внести по 100 мкл РК . Заклеить лунки Иммуносорбента (стрипов) прилагаемой к набору реагентов пленкой.	Время внесения РК 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: $37 \pm 1^\circ\text{C}$	
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 отмычки – 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 ТМБ	Время внесения 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: $37 \pm 1^\circ\text{C}$	
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 диапазоне 620-655 нм.	Внимание! Учет реакции необходимо произвести не позднее, чем через 5 мин. после остановки реакции. Допускается измерение при одной длине волны – 405 либо 450 нм.

Процедура №2 (использование термостата)

Этап анализа	Процедура этапа анализа	Примечание
1	Установить необходимое количество стрипов или лунок в рамку планшета	
2	В лунки Иммуносорбента внести по 100 мкл КО₀, КО₁₀₀, КО₁₂₅₀, КО₅₀₀₀, К(+) . В оставшиеся лунки внести по 90 мкл буферного раствора РРО, 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 5000 ВАУ/мл не использовать.

Этап анализа	Процедура этапа анализа	Примечание
		При внесении образца в РРО цвет РРО должен меняться.
4	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 30 мин при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$	
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 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 РК при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты.
7	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 30 мин, при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$	
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 высыхание лунок Иммуносорбента в перерыве между завершением промывок и внесением реагентов.
9	Во все лунки планшета внести по 100 мкл раствора ТМБ	Время внесения ТМБ при использовании полного планшета не должно превышать 3 минуты.
10	Инкубировать Иммуносорбент (стрипы) в течение 15 мин, при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$	
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 диапазоне 620-655 нм.	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 RBD-количественный-ИМБИАН-ИФА» адаптирован для любых открытых полуавтоматических и автоматических иммуноферментных анализаторов.

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

9. 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 КО₅₀₀₀ 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.

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

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

9.1. Показатели правильности определения

При измерении ОП на основной длине волны 405 нм

– $ОП_0 < 0,100$, где $ОП_0$ – значение оптической плотности в лунках с калибровочным образцом КО₀;

– $ОП_{100} \geq ОП_0$, где $ОП_{100}$ и $ОП_0$ – значения оптической плотности в лунках с калибровочными образцами КО₁₀₀ и КО₀;

– $ОП_{5000} \geq 1,200$, где $ОП_{5000}$ – значение оптической плотности в лунке с КО₅₀₀₀;

– вычисленное по калибровочному графику значение концентрации IgG к S-белку SARS-CoV-2 в контрольном образце соответствует пределам, указанным на этикетке флакона;

– значения оптической плотности калибровочных образцов удовлетворяют условию:

$$ОП_0 < ОП_{100} < ОП_{1250} < ОП_{5000}$$

При измерении ОП на основной длине волны 450 нм:

– $ОП_0 < 0,200$;

– $ОП_{100} \geq ОП_0$, где $ОП_{100}$ и $ОП_0$ – значения оптической плотности в лунках с калибровочными образцами КО₁₀₀ и КО₀;

– $ОП_{1250} > 1,200$, где $ОП_{1250}$ – значение оптической плотности в лунке с КО₁₂₅₀;

– вычисленное по калибровочному графику значение концентрации IgG к S-белку SARS-CoV-2 в контрольном образце соответствует пределам, указанным на этикетке флакона;

– значения оптической плотности калибровочных образцов удовлетворяют условию:

$$ОП_0 < ОП_{100} < ОП_{1250}$$

9.2. Интерпретация результатов

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

Если $ОП_{обр} > ОП_{5000}$ (при измерении на основной длине волны 405 нм) или $ОП_{обр} > ОП_{1250}$ (при измерении на основной длине волны 450 нм), где $ОП_{обр}$ – значение оптической плотности в лунке с исследуемым образцом, результат анализа следует выражать «более 5000 BAU/мл» или «более 1250 BAU/мл» соответственно.

9.3. Разведение образцов

Если $ОП_{обр} > ОП_{5000}$ (при измерении на основной длине волны 405 нм) или $ОП_{обр} > ОП_{1250}$ (при измерении на основной длине волны 450 нм), где $ОП_{обр}$ – значение оптической плотности в лунке с исследуемым образцом, результат анализа следует выражать «более 5000 BAU/мл» или «более 1250 BAU/мл» соответственно.

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

Вычисленное таким образом значение концентрации IgG к RBD-домену SARS-CoV-2 в этом случае следует умножить на коэффициент 10.

10. УТИЛИЗАЦИЯ ОТХОДОВ

10.1. 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».

10.2. 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.

10.3. 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.

10.4. Неиспользованные наборы реагентов с истекшим сроком годности перед утилизацией следует разуккомплектовать.

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

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

10.7. Неиспользованные РРО, ТМБ и Стоп-реагент следует утилизировать, как отходы класса Г.

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

11. 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.

Отвечая за проникновение вируса в клетку, RBD-домен S-белка вируса играет важнейшую роль в патогенезе коронавирусной инфекции, что придает антителам, специфически направленным на нейтрализацию RBD-домен S-белка SARS-CoV-2, особую ценность – они ингибируют вход вируса в клетку, таким образом являясь наиболее эффективным оружием гуморального иммунитета против SARS-CoV-2.

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 и/или S-белку не могут достоверно оценить наличие в исследуемом образце анти-RBD антител, так как определяют дополнительно антитела к другим эпитопам.

Набор реагентов для иммуноферментного количественного определения иммуноглобулинов класса G (IgG) к рецептор-связывающему домену поверхностного гликопротеина S (spike) коронавируса SARS-CoV-2 «SARS-CoV-2 IgG RBD-количественный-ИМБИАН-ИФА» обладает высокой специфичностью в отношении анти-RBD-антител, и не выявляет антитела, направленные на нейтрализацию S белка в целом, а также других антигенных детерминант коронавируса.

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

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

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.

12. СРОК ГОДНОСТИ, УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВКИ И ХРАНЕНИЯ

Срок годности, условия транспортировки и хранения набора реагентов и компонентов представлены в таблице 4.

Таблица 4. Срок годности, условия транспортировки и хранения набора реагентов и компонентов

Параметр	Период	Условия
Срок годности набора реагентов	24 месяца*	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
	10 суток	при температуре от 9 до 28°C
Вскрытые компоненты: Иммуносорбент, КО ₀ , КО ₁₀₀ , КО ₁₂₅₀ , КО ₅₀₀₀ , К(+), ФСБ-Т(x26), РРО, РК, ТМБ, Стоп-реагент	В течение срока годности набора реагентов	хранить в упаковке производителя в сухом, защищенном от света месте, при температуре от 2 до 8°C
Рабочий промывочный раствор ФСБ-Т	Не более 15 суток	при температуре от 18 до 28°C
	Не более 45 суток	при температуре от 2 до 8°C

* Данные подтверждены испытаниями ускоренной стабильности, испытаниями в режиме реального времени подтвержден срок годности, равный 15 месяцев. Исследования стабильности в реальном времени продолжаются.

13. 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 область, г.о. рабочий посёлок Кольцово, рп Кольцово, ул Садовая, д. 2/7.

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

14. 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).

15. СИМВОЛЫ МАРКИРОВКИ

Символ	Наименование символа	Символ	Наименование символа
	Изготовитель		Использовать до
	Дата изготовления		Не использовать повторно
	Код серии		Биологический риск
	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
	H302: Вредно при проглатывании H315: При попадании на кожу вызывает раздражение H319: При попадании в глаза вызывает выраженное раздражение		

16. ШТРИХ-КОД Набора реагентов для иммуноферментного количественного определения иммуноглобулинов класса G (IgG) к рецептор-связывающему домену поверхностного гликопротеина S (spike) коронавируса SARS-CoV-2 «SARS-CoV-2 IgG RBD-количественный-ИМБИАН-ИФА» по ТУ 21.20.23-093-41390295-2021: **4 620102 801747**.

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

14 лист 06

Генеральный директор
ООО «ИМБИАН ЛАБ»

В.В. Осипова
"19" 07 2022 г

