

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

ООО «РАПИД БИО»

Жимбиев А.Ц.

2023 г.



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

«Набор реагентов

для количественного определения антител класса G к рецептор-связывающему домену поверхностного гликопротеина S коронавируса SARS-CoV-2

методом иммуноферментного анализа

«РАПИД-SARS-CoV-2-IgG-Количественный-ИФА»

для диагностики *in vitro*, в вариантах исполнения»

по ТУ 21.20.23-014-44090553-2023

2023 г.

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Полное наименование медицинского изделия

Набор реагентов для количественного определения антител класса G к рецептор-связывающему домену поверхностного гликопротеина S коронавируса SARS-CoV-2 методом иммуноферментного анализа «РАПИД-SARS-CoV-2-IgG-Количественный-ИФА» для диагностики *in vitro*, в вариантах исполнения» по ТУ 21.20.23-014-44090553-2023. Далее по тексту - «РАПИД-SARS-CoV-2-IgG-Количественный-ИФА».

1.2. Назначение набора

Набор реагентов «РАПИД-SARS-CoV-2-IgG-Количественный-ИФА» предназначен для количественного определения антител класса G к рецептор-связывающему домену поверхностного гликопротеина S коронавируса SARS-CoV-2 методом иммуноферментного анализа в сыворотке и плазме (с гепарином, ЭДТА, цитратом натрия) крови человека на твердофазном носителе при "ручной" постановке и с использованием ИФА-анализаторов.

Набор может быть использован в качестве вспомогательного средства в диагностике для оценки напряжённости гуморального иммунитета при текущей или перенесенной инфекции COVID-19, а также для определения уровня поствакцинального иммунитета, сформированного на S-белок, включая RBD, вируса SARS-CoV-2.

1.3. Состав медицинского изделия

Набор реагентов «РАПИД -SARS-CoV-2-IgG-Количественный-ИФА» выпускается в двух базовых вариантах исполнения:

- 1) Комплект № 1 рассчитан на проведение анализа 96 образцов, включая калибровочные и контрольный образцы.
- 2) Комплект № 2 рассчитан на проведение анализа 192 образцов, включая калибровочные и контрольный образцы.

Возможно дробное использование набора.

Таблица 1

Наименование (сокращенное название) и характеристика компонента набора	Комплект №1 (96 определений)		Комплект №2 (192 определения)	
	объем, мл	кол-во, шт.	объем, мл	кол-во, шт.
Микропланшет разборный (МТП) , состоящий из двенадцати восьмилуночных стрипов в рамке с иммобилизованным на внутренней поверхности рекомбинантным белком, содержащим рецептор-связывающий домен коронавируса SARS-CoV-2	-	1	-	2
Контрольный образец (КО) , содержащий антитела класса G к SARS-CoV-2 в известном диапазоне концентраций, БАУ/мл* (указывается на этикетке флакона для каждой серии набора); прозрачная или слегка опалесцирующая желтого цвета жидкость, инактивированный	1,5	1	3,0	1
Калибровочные контрольные образцы (ККО) , содержащие антитела класса G к SARS-CoV-2 в известном количестве – 0; 10; 200; 500; 1250; 2500;	1,5	7	3,0	7

5000 ВАУ/мл*, от бесцветного до красного цвета жидкости, инактивированные				
(25х) концентрат для приготовления промывочного буферного раствора ((25х) ПБР) - (25х) концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином, прозрачная или опалесцирующая бесцветная жидкость	40,0	1	40,0	2
Буфер для предварительного разведения образцов (БПРО), прозрачная красного цвета жидкость; готовый к использованию	28,0	1	28,0	2
Буфер для разведения образцов (БРО), прозрачная опалесцирующая бесцветная жидкость; готовый к использованию	13,0	1	26,0	1
Конъюгат – мышинные моноклональные антитела к иммуноглобулинам G человека, меченые пероксидазой хрена. Прозрачная или слегка опалесцирующая синего цвета жидкость; готовый к использованию	13,0	1	13,0	2
Раствор тетраметилбензидина (раствор ТМБ) - стабилизированный водно-органический буферный раствор, содержащий ТМБ и пероксид водорода. Прозрачная бесцветная жидкость, готовый к использованию	13,0	1	13,0	2
Стоп-реагент – 0,5М раствор серной кислоты, готовый к использованию	13,0	1	26,0	1
Планшет для предварительного разведения образцов	-	2	-	4
Клейкая пленка для заклеивания планшета	-	2	-	4
Наконечники одноразовые к дозаторам пипеточным (от 0 до 250 мкл)	-	16	-	32
Вспомогательные пластиковые емкости для реагентов	-	2	-	4
Бланк для построения калибровочного графика	-	1	-	1
Инструкция по применению	-	1	-	1

*ВАУ/мл (Binding Antibody Units) – единицы связывающих антител/мл.

БПРО и БРО содержат натрия азид в безопасной концентрации¹.

ККО и КО содержат натрия мертиолят 0,01%.

Конъюгат содержит натрия мертиолят 0,001%, Proclin 0,03% и фенол 0,04%.

Примечание: планшет для предварительного разведения образцов, (25х) ПБР, стоп-реагент являются универсальными вспомогательными компонентами для всех иммуноферментных тест-систем производства ООО «РАПИД БИО».

1.4. Область применения медицинского изделия

Клиническая лабораторная диагностика. Только для профессионального использования. Только для диагностики *in vitro*.

1.5. Показания и противопоказания к применению

Предназначен для однократного применения по назначению. Противопоказания и побочные действия отсутствуют.

1.6. Потенциальные потребители

Предназначен для использования в различных клиничко-лабораторных условиях, включая, но не ограничиваясь: государственные медицинские организации инфекционного профиля, многопрофильные медицинские организации, научно-исследовательские учреждения, диагностические лаборатории, частные медицинские центры.

Медицинское изделие применяется специалистами: врачи, в том числе врач клинической лабораторной диагностики, врач-инфекционист, средний медицинский персонал, медицинский лабораторный техник.

1.7. Клиническое значение

COVID-19 – потенциально тяжёлая острая респираторная инфекция, вызываемая коронавирусом SARS-CoV-2. Представляет собой опасное заболевание, которое может протекать как в форме ОРВИ, так и в более тяжёлой форме [1].

В конце 2019 года в Китайской Народной Республике произошла вспышка новой коронавирусной инфекции с эпицентром в городе Ухань (провинция Хубэй), возбудителю которой было дано временное название 2019-nCoV [2].

Всемирная организация здравоохранения 11 февраля 2020 г. присвоила официальное название инфекции, вызванной новым коронавирусом, – COVID-19 («Coronavirus disease 2019»). Международный комитет по таксономии вирусов 11 февраля 2020 г. присвоил официальное название возбудителю инфекции – SARS-CoV-2 [1].

Появление COVID-19 поставило перед специалистами здравоохранения задачи, связанные с быстрой диагностикой и оказанием медицинской помощи больным. В настоящее время продолжается интенсивное изучение клинических и эпидемиологических особенностей заболевания, разработка новых средств его профилактики и лечения [3].

Передача инфекции осуществляется воздушно-капельным, воздушно – пылевым и контактным путями. Ведущим путем передачи SARS-CoV-2 является воздушно-капельный, который реализуется при кашле, чихании и разговоре на близком (менее 2 метров) расстоянии. Контактный путь передачи осуществляется при рукопожатиях и других видах непосредственного контакта с инфицированным человеком, а также через пищевые продукты, поверхности и предметы, контаминированные вирусом [4].

В многочисленных исследованиях показано, что более 80% вируснейтрализующих антител направлены к рецептор-связывающему домену (RBD) S-белка SARS-CoV-2. При оценке напряженности поствакцинального протективного иммунитета методом иммуноферментного анализа рекомендуется определение антител к рецептор-связывающему домену (анти-RBD антител) [5].

Коронавирусная инфекция (COVID-19) включена в перечень заболеваний, представляющих опасность для окружающих [6].

1.8. Информация о стерильности

Набор реагентов не содержит стерильных компонентов.

1.9. Описание измерительных характеристик и программного обеспечения

Набор реагентов «РАПИД-SARS-CoV-2-IgG-Количественный-ИФА» не автоматизирован и не содержит программного обеспечения.

1.10. Популяционные, демографические аспекты применения медицинского изделия

Предназначен для обследования всех групп населения. Популяционные, демографические особенности применения медицинского изделия отсутствуют.

1.11. Классификация медицинского изделия

Изделие применяется в качестве вспомогательного средства в диагностике *in vitro*.

Код Общероссийского классификатора продукции по видам экономической деятельности ОКПД2 – 21.20.23.110.

Класс потенциального риска применения медицинского изделия в соответствии с номенклатурной классификацией (по Приказу Минздрава России от 06.06.2012 N 4н) – 26.

Вид медицинского изделия – 142260, «SARS Коронавирус, антитела класса, иммуноглобулин G (IgG), ИВД, набор, иммуноферментный анализ».

1.12. Риски применения медицинского изделия

Риски применения набора реагентов «РАПИД-SARS-CoV-2-IgG-Количественный-ИФА» проанализированы в соответствии с ГОСТ ISO 14971-2021.

Все риски, связанные с изделием, снижены до приемлемого уровня с помощью мер управления рисками. В области недопустимой зоны риски не выявлены.

Польза применения набора реагентов «РАПИД-SARS-CoV-2-IgG-Количественный-ИФА» превалирует над рисками для пациента, производящего и эксплуатирующего персонала, третьих лиц и окружающей среды. Полный остаточный риск является допустимым.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

2.1. Описание принципа метода

Метод определения иммуноглобулинов класса G к коронавирусу SARS-CoV-2 основан на использовании двухстадийного «непрямого» варианта твердофазного иммуноферментного анализа.

Основой набора реагентов «РАПИД-SARS-CoV-2-IgG-Количественный-ИФА» является рекомбинантный антиген, содержащий рецептор-связывающий домен (RBD) коронавируса SARS-CoV-2, сорбированный в лунках разборного полистиролового планшета.

На первой стадии инкубации происходит взаимодействие специфических антител (при их наличии в предварительно разведенном исследуемом образце) с сорбированным на поверхности лунок планшета антигеном.

На второй стадии инкубации образовавшиеся комплексы «антиген-антитело» выявляют с помощью детектирующих антител, в качестве которых выступают антитела против человеческого иммуноглобулина класса G, меченные пероксидазой хрена. Визуализация результата происходит при добавлении к комплексу «антиген-антитело-детектирующее антитело» хромогена с развитием окрашивания раствора, интенсивность которого прямо зависит от количества выявленных комплексов. После остановки реакции добавлением стоп-реагента проводят учет результатов анализа с помощью планшетного спектрофотометра при длинах волн 450 нм или 405 нм (основная) и 620-655 нм (вспомогательная).

2.2. Необходимые материалы и оборудование, не входящие в комплект

- термостат, позволяющий проводить инкубацию при $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$;
- термостат – шейкер со скоростью вращения платформы 700 об/мин;
- спектрофотометр вертикального сканирования позволяющий проводить измерения оптической плотности в лунках планшета при 405 или 450 нм и/или в двухволновом режиме при основной длине волны 405 или 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620-655 нм;

- промывочное устройство для планшетов;
- пипетки одноканальные со сменными наконечниками с изменяемым объемом отбора жидкостей: на 5–50 мкл; на 20–200 мкл; на 200–1000 мкл; на 1000–5000 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (погрешность не более 3%);
- пипетка восьмиканальная со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объемы жидкости до 300 мкл, аттестованная по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (погрешность не более 3%);
- центрифуга лабораторная на 2,5-3,0 тыс. об/мин;
- дистиллированная (ГОСТ Р 58144-2018) или деионизированная вода;
- цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 500 мл (ГОСТ 1770-74);
- стакан стеклянный вместимостью 1000 мл (ГОСТ 1770-74);
- перчатки резиновые (ГОСТ 3-88) или перчатки медицинские одноразовые;
- бумага фильтровальная лабораторная (ГОСТ 12026-76);
- дезинфицирующие средства, разрешенные к применению СанПин 3686-21, кроме хлорсодержащих.

Для постановки с использованием автоматического ИФА анализатора, зарегистрированного на территории РФ:

- Анализатор с рабочей площадкой под размещение до 2-х планшетов;
- Спектральный диапазон: 400 - 700нм;
- Предусмотренный производителем для работы с наборами реагентов различных производителей с программным обеспечением, позволяющим корректировать протокол исследования пользователем.

Например, испытания набора проведены на автоматическом иммуноферментном анализаторе «Анализатор иммуноферментный автоматический "Еволис" (Evolis), БИО-РАД, производитель Франция.

2.3. Информация о наличии в медицинском изделии лекарственного средства, материалов животного и (или) человеческого происхождения

В состав набора «РАПИД-SARS-CoV-2-IgG-Количественный-ИФА» не входят лекарственные препараты и фармацевтические субстанции.

Сыворотки крови человека и компоненты сыворотки крови, входящие в состав контрольных материалов и калибровочных проб, инаktivированы и протестированы на отсутствие антител к ВИЧ 1, 2, вирусу гепатита С и HBsAg.

Конъюгат, содержащий мышиные моноклиальные антитела к иммуноглобулинам G человека в концентрации 0,2 мкг/мл не представляет опасности для человека.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Диапазон измерения

– при учете результатов анализа на основной длине волны 405 или 415 нм и длине волны сравнения 620 – 655 нм (630 нм - рекомендуемая) диапазон концентраций IgG к SARS-CoV-2 от 10 до 5000 BAU/мл.

– при учете результатов анализа на основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения 620 – 655 нм (630 нм - рекомендуемая) диапазон концентраций IgG к SARS-CoV-2 от 10 до 500 BAU/мл.

3.2. Линейность

В пределах 90 - 110%:

– при учете результатов анализа на основной длине волны 405 или 415 нм и длине волны сравнения 620 – 655 нм (630 нм - рекомендуемая) диапазон концентраций IgG к SARS-CoV-2 от 10 до 5000 BAU/мл.

– при учете результатов анализа на основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения 620 – 655 нм (630 нм - рекомендуемая) диапазон концентраций IgG к SARS-CoV-2 от 10 до 500 BAU/мл.

3.3. Воспроизводимость

Коэффициент вариации не превышает 8%.

3.4. Тест на открытие

В пределах 90 - 110% (по ГОСТ Р 51352-2013)

– при учете результатов анализа на длинах волн 405/630 нм и 450/630 нм по протоколу без термошейкирования или с термошейкированием

3.5. Интерсепт

Интерсепт – значения концентраций IgG к SARS-CoV-2 (BAU/мл), при которых соотношение $[(\text{ОПКх} - \text{ОП ККО}_0) / (\text{ОП ККО}_{5000} - \text{ОП ККО}_0) \times 100\%]$ соответствует 25%, 50% и 75%

– при учете результатов анализа на длинах волн 405/630 нм по протоколу без термошейкирования или с термошейкированием:

- **Протокол без термошейкирования:**

75%: 1469 – 2025 BAU/мл

50%: 806-968 BAU/мл

25%: 364-433 BAU/мл

- **Протокол с термошейкированием:**

75%: 1459 – 1872 BAU/мл

50%: 705-876 BAU/мл

25%: 301-361 BAU/мл

3.6. Аналитическая специфичность

3.6.1. Интерференция

Гемоглобин в концентрации до 10 мг/мл, билирубин - до 0,2 мг/мл, триглицериды - до 20 мг/мл не оказывают влияние на результаты анализа.

3.6.2. Перекрёстная реактивность

Перекрестная реактивность не наблюдалась при тестировании образцов, содержащих антитела к следующим патогенам: другие типы коронавируса (*HCU1*, *OC43*, *NL63* и *229E*), *HBV*, *HCV*, *HIV-1*, *HIV-2*, *Adenovirus*, *Human Metapneumovirus (hMPV)*, *Parainfluenza virus 1-4*, *Influenza A*, *Influenza B*, *Enterovirus 71*, *Respiratory syncytial virus*, *Rhinovirus*, *Chlamydophila pneumoniae*, *Streptococcus pneumonia*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Epstein-Barr Virus*, *HSV1*, *HSV2*, *Varicella Zoster virus*, *CMV*, *HSV6*, *HSV8*, *Measles virus*, *Mumps virus*, *Rubella virus*, *Toxoplasma gondii*, *Treponema pallidum*, *Chlamydia trachomatis*.

3.7. Аналитическая чувствительность

Минимально определяемая концентрация IgG к SARS-Cov-2 не превышает 1,0 BAU/мл

3.8. Метрологическая прослеживаемость калибраторов и контролей

Метрологическая прослеживаемость калибровочных и контрольных образцов относительно First WHO International Standard for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin (human), NIBSC code: 20/136 определена в соответствии ГОСТ Р ИСО 17511-2022.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Лабораторная диагностика COVID-2019 в субъектах Российской Федерации может проводиться в лабораториях организаций, имеющих санитарно-эпидемиологическое заключение на работу с возбудителями III-IV групп патогенности с использованием методов диагностики, не предполагающих накопление возбудителя, соответствующие условия работы и обученный персонал.

Взятие, транспортировка и хранение клинического материала должны осуществляться согласно МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории», утвержденным Роспотребнадзором и Рекомендациям «Организация преаналитического этапа при централизации лабораторных исследований», одобренным профильной комиссией Минздрава России по клинической лабораторной диагностике 30.05.2013.

Требования к условиям и процедурам ведения 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 описаны в ГОСТ Р 53079.4-2008 «Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа».

Все компоненты набора, содержащие в своем составе материалы человеческого происхождения инактивированы.

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

Раствор тетраметилбензидина (раствор ТМБ) является светочувствительным и должен быть защищен от света.

Стоп-реагент и раствор ТМБ обладают раздражающим действием на кожу и слизистые. В случае контакта с кожей, промойте большим количеством воды. В случае контакта с глазами, снимите контактные линзы, если вы ими пользуетесь, промойте глаза большим количеством воды в течение нескольких минут. Обеспечьте хорошую промывку, удерживая веки пальцами. При вдыхании получите доступ к свежему воздуху.

Не используйте реагенты после истечения срока их действия.

Не смешивайте компоненты из разных упаковок тест-систем.

5. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

5.1 Анализируемые образцы

Для проведения анализа используются образцы сыворотки крови, полученные с использованием активатора свертывания, или образцы плазмы крови человека, полученные с использованием гепарина, ЭДТА или цитрата натрия в качестве антикоагулянтов.

Минимальный объем исследуемого образца сыворотки/плазмы крови для анализа составляет 10 мкл. Антикоагулянты (гепарин, ЭДТА или цитрат натрия) и активатор свертывания не влияют на результаты анализа.

Исследование образцов допускается в течение 7 дней после сбора при условии их хранения в температурном диапазоне от +2°C до +8°C. Для более длительного хранения подготовленные образцы рекомендуется разлить на аликвоты, поместить в морозильную камеру с установленной температурой – 20°C не более 6 месяцев.

После размораживания образцы должны быть тщательно перемешаны.

Образцы могут быть заморожены и разморожены однократно без значительного влияния на результаты теста.

Не допускается использование для исследования образцов с повышенным содержанием липидов, с признаками гемолиза и с видимым микробным проростом.

Образцы, содержащие взвешенные частицы, перед анализом необходимо отцентрифугировать в течение 10-15 мин при 2500-3000 об/мин.

Образцы, содержащие гемоглобин в концентрации до 10 мг/мл, билирубин – 0,2 мг/мл, триглицериды – до 20 мг/мл, пригодны для анализа.

5.2 Подготовка к анализу

Выдержать все компоненты набора не менее 30 минут при комнатной температуре перед использованием.

При дробном использовании набора оставшиеся реагенты тщательно закрыть соответствующими крышками, а планшет повторно упаковать в оригинальный пакет с силикагелем, удалив воздух нажатием и тщательно закрыть замок. Хранить при температуре от +2°C до +8°C в течение срока годности. (25х) ПБР и стоп-реагент допускается хранить при комнатной температуре.

5.2.1 Приготовление промывочного буферного раствора

При присутствии во флаконе (25х) ПБР осадка солей необходимо прогреть его при температуре от +30°C до +40°C до полного растворения осадка и перед разведением охладить до температуры +26°C. В зависимости от числа используемых стрипов внести в мерный цилиндр необходимый объем концентрата (25х) ПБР и довести его водой, очищенной до объема, указанного в таблице 2.

Таблица 2

Кол-во стрипов Реагент	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
(25х) ПБР, мл	3	7	10	13	17	20	23	27	30	33	37	40
Вода очищенная, мл	до 75	до 175	до 250	до 325	до 425	до 500	до 575	до 675	до 750	до 825	до 925	до 1000

Готовый рабочий промывочный раствор хранить при температуре от +2°C до +8°C не более трех месяцев, при температуре от +18°C до +26°C – не более 7 сут.

Приготовление остальных реагентов

МТП, КО, ККО₀, ККО₁₀, ККО₂₀₀, ККО₅₀₀, ККО₁₂₅₀, ККО₂₅₀₀, ККО₅₀₀₀, БПРО, БРО, конъюгат, раствор ТМБ, стоп-реагент – готовы к применению.

5.2.2. Подготовка образцов сыворотки/плазмы крови

1. В случае проведения анализа с использованием замороженных образцов, пробирки предварительно разморозить при температуре от +2°C до +8°C. Образцы после разморозки тщательно перемешать.

2. Предварительное 10-кратное разведение образцов: в лунки планшета для предварительного разведения образцов внести по 90 мкл БПРО и по 10 мкл образцов, тщательно перемешать пипетированием. При этом красный цвет раствора должен измениться на желтый. Если изменения цвета не произошло, анализ образца может дать неправильный результат. При разведении плазмы допустимо менее значительное изменение цвета раствора.

3. Рабочее разведение (1:100) готовить непосредственно в лунках МТП (см. раздел 5.3. «Проведение анализа»).

4. Разведенные таким образом образцы хранить при комнатной температуре не более 3 часов.

5. Запрещается повторное использование планшета для предварительного разведения исследуемых образцов.

5.2.3. Подготовка микропланшета (МТП)

1. Привести МТП к комнатной температуре.

2. Рассчитать количество стрипов, необходимых для анализа.

3. Вскрыть пакет с планшетом выше замка «zip-lock», установить в рамке планшета необходимое количество стрипов. Оставшиеся стрипы упаковать в оригинальный пакет с силикагелем, удалив воздух нажатием и хранить при температуре от + 2°C до + 8°C в течение всего срока годности набора.

4. Контрольный, калибровочные контрольные образцы, буфер для предварительного разведения образцов, буфер для разведения образцов, конъюгат, раствор ТМБ и стоп -реагент готовы к использованию.

5.3. Проведение анализа

5.3.1. Процедура анализа без термошейкирования

1. Внести в лунки разборного микропланшета (МТП) по 100 мкл калибровочных контрольных образцов ККО₀, ККО₁₀, ККО₂₀₀, ККО₅₀₀, ККО₁₂₅₀, ККО₂₅₀₀, ККО₅₀₀₀ и контрольный образец.

2. В оставшиеся лунки МТП внести по 90 мкл БРО и 10 мкл предварительно разведенных в 10 раз образцов (п.5.2.2.). Тщательно перемешать пипетированием. Конечное разведение образца – 100 раз.

Примечание: процедура внесения образцов по времени не должна превышать 15 минут от момента внесения первого образца.

3. Заклеить стрипы МТП клейкой пленкой и инкубировать в термостате при температуре (37 ± 1)°C в течение 30 минут.

4. По окончании инкубации снять клейкую пленку и промыть 5 раз лунки планшета, внося не менее 350 мкл промывочного буферного раствора. При использовании промывочного устройства время между заполнением и аспирацией лунок должно быть не менее 30 секунд. По окончании промывки избавиться от остатков жидкости, постучав перевернутым планшетом о поверхность стола, покрытую фильтровальной бумагой.

5. Внести во все лунки планшета 100 мкл конъюгата, заклеить стрипы МТП клейкой пленкой и инкубировать в термостате при температуре (37 ± 1)°C в течение 30 минут.

6. По окончании инкубации МТП промыть лунки планшета как указано в пункте 4.

7. Внести в каждую лунку планшета по 100 мкл раствора ТМБ и инкубировать 25 мин при комнатной температуре в темноте.

8. Остановить реакцию внесением в каждую лунку МТП по 100 мкл содержимого флакона «Стоп-реагент». Перемешать содержимое лунок легким постукиванием по рамке планшета.

9. Провести измерение оптической плотности (ОП) растворов в лунках МТП при двух длинах волн основная - 405 нм / сравнения - 630 нм (рекомендуемая) в течение последующих 5 минут после остановки реакции.

5.3.2. Процедура анализа с термошейкированием

1. Внести в лунки разборного микропланшета (МТП) по 100 мкл калибровочных контрольных образцов ККО₀, ККО₁₀, ККО₂₀₀, ККО₅₀₀, ККО₁₂₅₀, ККО₂₅₀₀, ККО₅₀₀₀ и контрольный образец.

2. В оставшиеся лунки МТП внести по 90 мкл БРО и 10 мкл предварительно разведенных в 10 раз образцов (п.5.2.2.). Тщательно перемешать пипетированием. Конечное разведение образца – 100 раз.

Примечание: процедура внесения образцов по времени не должна превышать 15 минут от момента внесения первого образца.

3. Заклеить стрипы МТП клейкой пленкой и инкубировать в термошейкере со скоростью вращения платформы 700 об/мин при температуре (37 ± 1)°C в течение 15 минут.

4. По окончании инкубации снять клейкую пленку и промыть 5 раз лунки планшета, внося не менее 350 мкл промывочного буферного раствора. При использовании промывочного устройства время между заполнением и аспирацией лунок должно быть не менее 30 секунд. По окончании промывки избавиться от остатков жидкости, постучав перевернутым планшетом о поверхность стола, покрытую фильтровальной бумагой.

5. Внести во все лунки планшета 100 мкл конъюгата, заклеить стрипы МТП клейкой пленкой и инкубировать в термошейкере со скоростью вращения платформы 700 об/мин при

6. По окончании инкубации МТП промыть лунки планшета как указано в пункте 4.
7. Внести в каждую лунку планшета по 100 мкл раствора ТМБ и инкубировать 15 минут при комнатной температуре в темноте.
8. Остановить реакцию внесением в каждую лунку МТП по 100 мкл содержимого флакона «Стоп-реагент». Перемешать содержимое лунок легким постукиванием по рамке планшета.
9. Провести измерение оптической плотности (ОП) растворов в лунках МТП при двух длинах волн основная - 405 нм / сравнения - 630 нм (рекомендуемая) в течение 5 минут после остановки реакции.

Примечание: при отсутствии в спектрофотометре основной длины волны 405 нм возможно измерение ОП при длине волны 450 нм и длине волны сравнения 620-655 нм. В этом случае калибровочные образцы 1250, 2500 и 5000 ВАУ/мл не использовать.

Допускается измерение при одной длине волны 405 нм или 450 нм.

Перед измерением ОП убедитесь, что синий цвет жидкости полностью сменился на желтый и раствор в лунках хорошо перемешался.

Общие рекомендации к процедуре проведения анализа

- Храните все реагенты при температуре от +2°C до +8°C.
- НЕ ДОПУСКАЙТЕ высыхания ячеек во время процедуры.
- Для точного измерения дозирование проб и контролей должны быть максимально точными. Используйте только хорошо откалиброванное оборудование.
- Всегда заранее имейте под рукой реагенты, подготовленные для следующего шага.

5.4. Учёт результатов для протоколов без термошейкирования и с термошейкированием

1. Построить калибровочный график для расчета концентрации антител в исследуемых образцах.

2. Для построения калибровочного графика использовать полученные значения оптических плотностей калибраторов ККО₀ -ККО₅₀₀₀ (ось Y) и известные значения их концентраций в ВАУ/мл (ось X). При расчетах формулы зависимости концентрации от оптической плотности используйте кусочно-линейный метод аппроксимации.

Приступать к интерпретации результатов полученных в ВАУ/мл следует при соблюдении следующих условий:

- **При измерении ОП на основной длине волны 405 нм и длине волны сравнения (620 – 655 нм) или только на одной длине волны 405 нм**
 - ОП ККО₀ < 0,05;
 - ОП ККО₁₀ / ОП ККО₀ ≥ 1,2, где ОП ККО₁₀ и ОП ККО₀ – значения оптической плотности в лунках с калибровочными контрольными образцами 10 и 0 ВАУ/мл;
 - ОП ККО₅₀₀₀ > 1,5, где ОП ККО₅₀₀₀ – значение оптической плотности в лунке с калибровочным контрольным образцом 5000 ВАУ/мл;
 - Рассчитанное по калибровочному графику значение концентрации IgG к SARS-CoV-2 в контрольном образце соответствует пределам, указанным на этикетке флакона.
- **При измерении ОП на основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения (620 – 655 нм) или только на одной длине волны 450 нм**
 - ОП ККО₀ < 0,1;
 - ОП ККО₁₀ / ОП ККО₀ ≥ 1,5, где ОП ККО₁₀ и ОП ККО₀ – значения оптической плотности в лунках с калибровочными контрольными образцами 10 и 0 ВАУ/мл;
 - ОП ККО₅₀₀ > 1,7, где ОП ККО₅₀₀ – значение оптической плотности в лунке с калибровочным контрольным образцом 500 ВАУ/мл;
 - Рассчитанное по калибровочному графику значение концентрации IgG к SARS-CoV-2 в контрольном образце соответствует пределам, указанным на этикетке флакона.

Если ОП_{обр} > ОП ККО₅₀₀₀ (при измерении при основной длине волны 405 нм) или ОП_{обр} > ОП ККО₅₀₀ (при измерении при 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 500 BAU/мл» соответственно.

Для определения концентрации IgG к SARS-CoV-2 в таких образцах при их подготовке для анализа (см. п. 5.2.2. «Подготовка образцов сыворотки/ плазмы крови») необходимо их дополнительно развести в 10 раз. Для этого в две парные лунки планшета для предварительного разведения исследуемых образцов (например, A1 и B1) внести по 90 мкл БПРО. В лунку A1 внести 10 мкл цельного образца сыворотки (плазмы) и тщательно перемешать пипетированием до изменения цвета с розового на желтовато-оранжевый (получено разведение 1:10). Отобрать из этой лунки 10 мкл образца, перенести в лунку B1 и тщательно перемешать пипетированием (получено разведение 1:100). Провести анализ согласно разделу 5.3. «Проведение анализа». Вычисленное значение концентрации IgG к SARS-CoV-2 в данном случае следует умножить на 10.

Если вновь $ОП_{обp} > ОП_{ККО_{5000}}$ (при измерении при основной длине волны 405 нм) или $ОП_{обp} > ОП_{ККО_{500}}$ (при измерении при основной длине волны 450 нм), результат анализа следует выражать «более 5000 BAU/мл» или «более 500 BAU/мл» соответственно. Для определения концентрации IgG к SARS-CoV-2 в таких образцах при их подготовке для анализа (см. п. 5.2.2. «Подготовка образцов сыворотки/ плазмы крови») необходимо их дополнительно развести в 100 раз в соответствии с вышеописанным алгоритмом. Вычисленное значение концентрации IgG к SARS-CoV-2 в данном случае следует умножить на 100.

Если $ОП_{обp} < ОП_{ККО_{10}}$, результат анализа следует выражать «менее 10 BAU/мл».

Концентрацию специфических IgG к SARS-CoV-2 «менее 10 BAU/мл» следует расценивать как отрицательный результат количественного анализа.

Показатели теста равные «менее 10 BAU/мл» свидетельствуют об отсутствии у них значимого собственного иммунного ответа [4].

5.5. Постановка с использованием ИФА-анализаторов

Подготовить прибор в соответствии с инструкцией по его эксплуатации, ввести программу анализа, соответствующую используемому набору, и провести анализ.

6. ОГРАНИЧЕНИЕ МЕТОДА

Надежные и воспроизводимые результаты будут получены, если процедура анализа осуществляется при точном следовании положениям данной инструкции.

Процедуры промывки и удаления лишней жидкости являются обязательными. Недостаточная промывка может привести к недостоверным результатам.

7. ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ

Набор реагентов «РАПИД-SARS-CoV-2-IgG-Количественный-ИФА» должен храниться при температуре от +2°C до +8°C в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим в течение всего срока годности. Набор реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит.

В случае дробного использования набора реагентов, после первого вскрытия оригинальной упаковки неиспользованные компоненты следует хранить следующим образом:

- Оставшиеся неиспользованными стрипы необходимо тщательно упаковать в оригинальный пакет с замком и хранить при температуре от +2°C до +8°C в течение всего срока годности набора;
- Калибровочные контрольные образцы, контрольный образец, конъюгат, БПРО, БРО, раствор ТМБ, стоп-реагент после вскрытия флаконов следует хранить при температуре от +2°C до +8°C в течение всего срока годности набора;
- Для проведения анализа не следует использовать гемолизированную, мутную сыворотку/плазму крови, а также сыворотку/плазму крови с видимыми изменениями, вызванными ростом микроорганизмов. Если анализ производится не в день взятия крови, сыворотку/плазму следует хранить при температуре -20°C. Повторный цикл замораживания – оттаивания образцов сыворотки/плазмы крови не допускается.

Набор реагентов «РАПИД-SARS-CoV-2-IgG-Количественный-ИФА» транспортируют всеми видами транспортных средств в соответствии с правилами перевозок грузов, действующими на выбранном транспорте при температуре от +2°C до +8°C. Допускается транспортирование при температуре до +26°C не более 10 суток.

Изделия, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

8. УТИЛИЗАЦИЯ

Использованные изделия - отходы класса Б. Утилизацию или уничтожение набора реагентов «РАПИД-SARS-CoV-2-IgG-Количественный-ИФА» следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.3684.

После истечения срока годности набор реагентов «РАПИД-SARS-CoV-2-IgG-Количественный-ИФА» утилизируется как отходы класса А в соответствии с СанПиН 2.1.3684.

9. ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ И РЕМОНТ

Медицинское изделие техническому обслуживанию и ремонту не подлежит.

10 ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора требованиям технических условий при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения, установленных технической документацией предприятия-изготовителя.

Срок годности медицинского изделия составляет 18 месяцев с даты изготовления.

Медицинское изделие с истёкшим сроком годности применению не подлежат.

Производитель: Общество с ограниченной ответственностью «РАПИД БИО» (ООО «РАПИД БИО»).

Адрес (место нахождения) юридического лица: 670000, Республика Бурятия, г. Улан-Удэ, ул. Свердлова 13а, офис 4, +7 495 105 99 16, info@rapidbio.ru, www.rapidbio.ru

Место производства медицинского изделия: Российская Федерация, 121205, г. Москва, территория инновационного центра «Сколково», Большой бульвар, д. 42, стр.1, пом. 179, 180.

11. ЛИТЕРАТУРА

1. Наименование заболевания, вызванного коронавирусом (COVID-19), и вирусного возбудителя. Всемирная организация здравоохранения. Дата обращения 7 марта 2020.
2. Novel coronavirus (2019-nCoV) (англ.). WHO/Europe. World Health Organization (9 March 2020). Дата обращения 9 марта 2020.
3. Nicholas J. Beaching, Tom E. Fletcher, Robert Fowler. COVID-19 // BMJ Best Practices. – BMJ Publishing Group. (Обобщение различных сведений для специалистов на основе доказательной медицины).
4. Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 17 (14.12.2022).
5. Коронавирус (COVID-19) – Ресурсы Кокрейн и новости. – Кокрановское сотрудничество. (Подборка информации по COVID-19 с точки зрения доказательной медицины).
6. Коронавирусная инфекция – 2019-nCoV внесена в перечень – опасных заболеваний // Министерство здравоохранения Российской Федерации. – 2020. – 2 февраля.

Набор реагентов «РАПИД-SARS-CoV-2-IgG-Количественный-ИФА» транспортируют всеми видами транспортных средств в соответствии с правилами перевозок грузов, действующими на выбранном транспорте при температуре от +2°C до +8°C. Допускается транспортирование при температуре до +26°C не более 10 суток.

Изделия, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

8. УТИЛИЗАЦИЯ

Использованные изделия - отходы класса Б. Утилизацию или уничтожение набора реагентов «РАПИД-SARS-CoV-2-IgG-Количественный-ИФА» следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.3684.

После истечения срока годности набор реагентов «РАПИД-SARS-CoV-2-IgG-Количественный-ИФА» утилизируется как отходы класса А в соответствии с СанПиН 2.1.3684.

9. ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ И РЕМОНТ

Медицинское изделие техническому обслуживанию и ремонту не подлежит.

10 ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

Предприятие–изготовитель гарантирует соответствие набора требованиям технических условий при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения, установленных технической документацией предприятия–изготовителя.

Срок годности медицинского изделия составляет 18 месяцев с даты изготовления.

Медицинское изделие с истёкшим сроком годности применению не подлежат.

Производитель: Общество с ограниченной ответственностью «РАПИД БИО» (ООО «РАПИД БИО»).

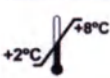
Адрес (место нахождения) юридического лица: 670000, Республика Бурятия, г. Улан-Удэ, ул. Свердлова 13а, офис 4, +7 495 105 99 16, info@rapidbio.ru, www.rapidbio.ru

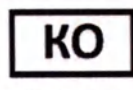
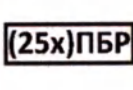
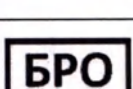
Место производства медицинского изделия: Российская Федерация, 121205, г. Москва, территория инновационного центра «Сколково», Большой бульвар, д. 42, стр.1, пом. 179, 180.

11. ЛИТЕРАТУРА

1. Наименование заболевания, вызванного коронавирусом (COVID-19), и вирусного возбудителя. Всемирная организация здравоохранения. Дата обращения 7 марта 2020.
2. Novel coronavirus (2019-nCoV) (англ.). WHO/Europe. World Health Organization (9 March 2020). Дата обращения 9 марта 2020.
3. Nicholas J. Beaching, Tom E. Fletcher, Robert Fowler. COVID-19 // BMJ Best Practices. – BMJ Publishing Group. (Обобщение различных сведений для специалистов на основе доказательной медицины).
4. Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 17 (14.12.2022).
5. Коронавирус (COVID-19) – Ресурсы Кокрейн и новости. – Кокрановское сотрудничество. (Подборка информации по COVID-19 с точки зрения доказательной медицины).
6. Коронавирусная инфекция – 2019-nCoV внесена в перечень – опасных заболеваний // Министерство здравоохранения Российской Федерации. – 2020. – 2 февраля.

12. СИМВОЛЫ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

Символ	Описание
	Изготовитель
	Дата изготовления
	Температурный диапазон
	Использовать до
	Код партии
	Номер по каталогу
	Беречь от влаги
	Не допускать воздействия солнечного света
	Осторожно!
	Обратитесь к инструкции по применению
	Медицинское изделие для диагностики in vitro

Символ	Описание
	Содержимого достаточно для проведения n тестов
	Хрупкое, обращаться осторожно
	Микропланшет разборный
	Контрольный образец
	Калибровочный контрольный образец, где n-концентрация антител
	Концентрат для приготовления промывочного буферного раствора
	Буфер для предварительного разведения образцов
	Буфер для разведения образцов
	Раствор тетраметилбензидина
	Стоп-реагент

КРАТКАЯ СХЕМА ИФА БЕЗ ТЕРМОШЕЙКИРОВАНИЯ
«РАПИД-SARS-CoV-2-IgG-Количественный-ИФА»

Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!	
Внести	в лунки по 100 мкл ККО ₀ , ККО ₁₀ , ККО ₂₀₀ , ККО ₅₀₀ , ККО ₁₂₅₀ , ККО ₂₅₀₀ , ККО ₅₀₀₀ и КО; в остальные лунки по 90 мкл БРО и по 10 мкл предварительно разведенных в 10 раз исследуемых образцов.
Инкубация	30 мин, при температуре (37 ± 1) °C
Промыть	5 раз промывочным раствором
Внести	во все лунки по 100 мкл конъюгата
Инкубация	30 мин, при температуре (37 ± 1) °C
Промыть	5 раз промывочным раствором
Внести	по 100 мкл раствора ТМБ в каждую лунку
Инкубация	25 мин, при температуре от +18 °C до +26 °C, в темноте
Внести	по 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку
Измерить	ОП при двух длинах волн – 405 нм и 620-655 нм или 450 нм и 620-655 нм

КРАТКАЯ СХЕМА ИФА С ТЕРМОШЕЙКИРОВАНИЕМ
«РАПИД-SARS-CoV-2-IgG-Количественный-ИФА»

Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!	
Внести	в лунки по 100 мкл ККО ₀ , ККО ₁₀ , ККО ₂₀₀ , ККО ₅₀₀ , ККО ₁₂₅₀ , ККО ₂₅₀₀ , ККО ₅₀₀₀ и КО; в остальные лунки по 90 мкл БРО и по 10 мкл предварительно разведенных в 10 раз исследуемых образцов.
Инкубация	15 мин, при температуре (37 ± 1) °C в орбитальном термошейкере, скорость вращения платформы 700 об/мин
Промыть	5 раз промывочным раствором
Внести	во все лунки по 100 мкл конъюгата
Инкубация	15 мин, при температуре (37 ± 1) °C в орбитальном термошейкере, скорость вращения платформы 700 об/мин
Промыть	5 раз промывочным раствором
Внести	по 100 мкл раствора ТМБ в каждую лунку
Инкубация	15 мин, при температуре от +18 °C до +26 °C, в темноте
Внести	по 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку
Измерить	ОП при двух длинах волн – 405 нм и 620-655 нм или 450 нм и 620-655 нм

Прошито, пронумеровано и
скреплено печатью

15 лист (ов)

Подпись
М.П.

Жимбиев А.Ц.

