

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор



Т.Ю.Гашенко

2022 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов

«Тест-система иммуноферментная для количественного выявления антител класса G к SARS-CoV-2» «ИФА-SARS-CoV-2-AT-G Количественный»

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для количественного выявления антител класса G к SARS-CoV-2» «ИФА-SARS-CoV-2-AT-G Количественный», предназначен для количественного выявления антител класса G (IgG) к поверхностному гликопротеину S SARS-CoV-2 (включая рецептор-связывающий домен — RBD), в сыворотке, плазме (с гепарином, ЭДТА, цитратом натрия) крови человека методом иммуноферментного анализа (ИФА) на твердофазном носителе при "ручной" постановке и с использованием ИФА-анализаторов открытого типа. Набор может быть использован для оценки 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.

Функциональное назначение: вспомогательное средство в диагностике. Применение изделия не имеет популяционных и демографических ограничений.

Используемые ИФА-анализаторы открытого типа: "Еволис" (Evolis), БИО-РАД, Франция, РУ № ФСЗ 2009/05133, «Лазурит» (LAZURITE), производитель "Дайнекс Текнолоджис", США, РУ № ФСЗ 2009/03660.

Для однократного применения.

Для клинической лабораторной диагностики in vitro.

Потенциальные потребители изделия

Лабораторные подразделения лечебно-профилактических учреждений.

Профессиональный уровень потенциальных пользователей

Врач/биолог клинической лабораторной диагностики, медицинский лабораторный техник, фельдшер-лаборант (ИФА исследования).

Набор предназначен для использования персоналом клинико-диагностических лабораторий не моложе 18 лет с высшим и средним медицинским, биологическим образованием, прошедшим соответствующую профессиональную подготовку в области используемых методов и методов безопасной работы с патогенными биологическими агентами I-IV групп патогенности.

Показания

Для количественного определения антител класса G к поверхностному гликопротеину S SARS-CoV-2 (включая рецептор-связывающий домен — RBD) в сыворотке или плазме крови человека при «ручной» постановке или с использованием ИФА-анализаторов с целью оценки гуморального иммунитета при текущей или перенесенной инфекции COVID-19, а также после для определения уровня поствакцинального иммунитета, сформированного на S-белок (включая RBD) вируса SARS-CoV-2.

Противопоказания

При использовании специально обученным персоналом и с учетом применения по назначению противопоказания не выявлены.

Описание целевого анализа, сведения о его научной обоснованности

COVID-19 является инфекционным заболеванием, вызванным новым коронавирусом SARS-CoV-2, который ранее не был обнаружен у людей.

Вирусная инфекция приводит к развитию респираторного гриппоподобного заболевания с такими симптомами, как кашель и лихорадка. В более тяжелых случаях может развиваться пневмония. Средний инкубационный период COVID-19 составляет 6,5 дня, но может варьироваться от 3 до 21 дней.

Коронавирус SARS-CoV-2 представляет собой РНК-содержащий вирус с характерной оболочкой с шипами в форме «короны». Основные структурные белки вируса включают нуклеокапсидный белок и трансмембранный белок S (шип) с рецептор-связывающим доменом (RBD), который связывается с рецепторами клеток человека ACE2, вызывая инфицирование эпителиальных клеток слизистой оболочки. Оба белка являются высокоиммуногенными антигенами для человека.

Выявление антител к SARS-CoV-2 имеет вспомогательное значение для диагностики текущей инфекции и основное для оценки иммунного ответа на текущую или перенесенную инфекцию. Выявление антител к SARS-CoV-2 проводится с использованием иммунохимических методов. Антитела класса А (IgA) начинают формироваться и доступны для детекции примерно со 2 дня от начала заболевания, достигают пика через 2 недели и сохраняются длительное время. Антитела класса М (IgM) начинают выявляться примерно на 7-е сутки от начала заражения, достигают пика через неделю и могут сохраняться в течение 2-х месяцев и более. Примерно с 3-й недели или ранее определяются антитела класса G (IgG) к SARS-CoV-2. Особенностью гуморального ответа на инфекцию является небольшой временной промежуток между появлением антител IgM и IgG, а иногда и одновременное их формирование.

СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

Наименование компонента	Характеристика компонента	
Иммуносорбент	разборный полистироловый 96-луночный планшет для иммунологических реакций с плоским дном	1 планшет (12 стрипов)
	<i>допускается раздельная упаковка стрипов (по 1-4 стрипа в пакете)</i>	
Контрольный образец (КО)	Инактивированный; содержит 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 жидкость розового цвета	1 фл. (1,5 мл)
Калибровочные пробы (КП ₀ , КП ₁₀ , КП ₁₂₅ , КП ₅₀₀)	Прозрачные или слегка опалесцирующие жидкости красного цвета	4 фл. (по 1,5 мл)
Конъюгат	Прозрачная или слегка опалесцирующая сине-фиолетового цвета жидкость	1 фл. (14 мл)
Раствор для предварительного разведения образцов (РПРО)	Прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость розового цвета, возможно выпадение осадка, исчезающего при встряхивании	2 фл. (14 мл)
Раствор для разведения образцов (РРО)	Прозрачная или слегка опалесцирующая желтого цвета жидкость, возможно выпадение осадка, исчезающего при встряхивании	1 фл. (14 мл)

25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т (x25))	прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная пенящаяся жидкость, возможно выпадение осадка солей белого цвета, растворяющегося при температуре 37 °С в течение 30 мин	1 фл. (40 мл)
Раствор индикаторный (РИ)	прозрачная бесцветная жидкость	1 фл. (14 мл)
Стоп-реагент	прозрачная бесцветная жидкость	1 фл. (14 мл)
Планшет разборный для предварительного разведения исследуемых образцов		2 шт.
Наконечники полимерные одноразовые к дозаторам пипеточным (0,5-250 мкл)		16 шт.
Вспомогательные пластиковые емкости		4 шт.
Клейкая пленка для планшетов		4 шт.
Бланк калибровочного графика		1 шт.

*BAU/мл (binding-antibody units) – единицы связывающих антител.

Метрологическая прослеживаемость калибровочных проб и контрольного положительного образца относительно Международного стандарта ВОЗ First WHO International Standard for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin (human), NIBSC code: 20/136, определена в соответствии ГОСТ ISO 17511-2011.

Примечания.

1. Набор включает все реагенты, необходимые для постановки ИФА, кроме очищенной (дистиллированной или деионизированной) воды.

2. ФСБ-Т (x25), РИ, РПРО, РРО стоп-реагент – унифицированы для ряда наборов ЗАО "ЭКОлаб", в которых используются указанные реагенты.

3. В составе изделия отсутствуют материалы, вступающие в непосредственный или опосредованный контакт с организмом пациента и персонала, использующего изделие, при выполнении требований эксплуатационной документации (инструкции по применению).

4. КО, КП₀, КП₁₀, КП₁₂₅, КП₅₀₀ не содержат HBsAg, антитела к ВГС, ВИЧ-1,2.

5. В составе изделия отсутствуют лекарственные средства и фармацевтические субстанции.

Компоненты набора упакованы в коробку, в коробку вложена инструкция по применению.

ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Базовый вариант комплектации позволяет проводить исследование 96 образцов, включая контрольный образец и калибровочные пробы.

Предусмотрена возможность проведения отдельных исследований с использованием необходимого количества стрипов (в каждом исследовании 1 лунка используется на контрольный образец и в зависимости от способа измерения результатов на спектрофотометре 4 или 3 лунки используются на калибровочные пробы):

Число стрипов	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Число исслед. образцов при измерении результатов при длине волны 405 нм	3	11	19	27	35	43	51	59	67	75	83	91
Число исслед. образцов при измерении результатов при длине волны 450 нм	4	12	20	28	36	44	52	60	68	76	84	92

Методы стерилизации изделия

Изделие не требует стерилизации.

Программное обеспечение работы изделия

Отсутствует.

ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

При наличии в исследуемом образце антител класса G к SARS-CoV-2 происходит связывание их с рекомбинантным антигеном SARS-CoV-2 (полноразмерный тримеризованный поверхностный гликопротеин S, несущий рецептор-связывающий домен – receptor-binding domain, RBD), сорбированным в лунках планшета-иммуносорбента, образовавшийся комплекс «антиген-антитело» реагирует с внесенным в реакционную среду раствором конъюгата – антителами к IgG человека, мечеными пероксидазой хрена. Образовавшийся комплекс "антиген-антитело-конъюгат" выявляется в реакции с раствором индикаторным, содержащим хромоген – тетраметилбензидин, в результате которой меняется цвет (оптическая плотность) реакционной смеси в лунке планшета; изменение регистрируется спектрофотометрически. Интенсивность окрашивания прямо пропорциональна количеству антител в образце.

Концентрацию антител класса G к SARS-CoV-2 в исследуемых образцах сыворотки (плазмы) крови человека определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания антител класса G к SARS-CoV-2 в калибровочных пробах.

ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Сыворотка, плазма (с гепарином, цитратом натрия, ЭДТА) крови человека объемом не менее 10 мкл.

Образцы сыворотки (плазмы) крови до исследования можно хранить не более 7 сут при температуре от 2 до 8 °С. При необходимости хранения образцов более 7 дней рекомендуется разделить их на аликвоты и хранить при температуре от минус 20 до минус 70 °С. Размороженные образцы перед исследованием нужно тщательно перемешать. При работе с размороженными образцами следует учитывать, что каждый цикл оттаивания-замораживания приводит к разрушению выявляемых антител, снижая качество исследуемого материала. С целью получения достоверных результатов исследования рекомендуется использовать только однократное замораживание-оттаивание образцов.

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

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

Сбор биологического материала должен производиться в соответствии с ГОСТ Р 53079.4-2008 «Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа».

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Аналитическая чувствительность составляет 0,5 ВАУ/мл.

Представленные репрезентативные данные подтверждают нижний предел аналитического измерения.

		ВАУ/мл
ПХП ¹	Предел холостой пробы	0,007
ПО ²	Предел обнаружения	0,02
ПКО ³	Предел количественного определения	0,5

Примечание:

¹ПХП определен как 95-й перцентиль по результатам исследования образцов с нулевой концентрацией антител класса G к SARS-CoV-2 в повторях (n=60)

²ПО определен как самая низкая концентрация, при которой аналит может быть выявлен с 95%-й вероятностью по результатам исследования образцов с низкими уровнями концентрации антител класса G к SARS-CoV-2 в повторях (n=60)

³ПКО, представленный в таблице, определен как самая низкая концентрация с максимальной допустимой воспроизводимостью 20 %КВ по результатам исследования образцов с низкими уровнями концентрации антител класса G к SARS-CoV-2 в повторях (n=60).

Аналитическая специфичность исследована на образцах сыворотки крови пациентов, содержащих антитела класса G к эндемическим коронавирусам человека (HKU1, OC43, NL63 и 229E), SARS-CoV, MERS-CoV, аденовирусу, вирусам парагриппа 1-4 типа, вирусам гриппа А и Б, человеческому метапневмовирусу, энтеровирусу 71, респираторно-синтициальному вирусу, риновирусу, вирусам простого герпеса 1 и 2 типа, вирусам герпеса человека 6 и 8 типов, вирусу Эпштейна-Барр, вирусу ветряной оспы (Varicella Zoster), цитомегаловирусу, вирусу паротита, вирусу кори, вирусу краснухи (Rubella), Toxoplasma gondii, вирусам гепатита А, В, С и Е, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, Treponema pallidum, Helicobacter pylori, Mycoplasma pneumoniae, Chlamydia pneumoniae, Chlamydia trachomatis, Streptococcus pneumoniae, Mycobacterium tuberculosis. Перекрестно реагирующих образцов выявлено не было.

Влияние интерферирующих веществ.

Содержание гемоглобина в концентрации до 10 мг/мл, триглицеридов - до 20 мг/мл, билирубина – до 0,2 мг/мл в исследуемых образцах не влияет на результат анализа.

Линейность.

Зависимость концентрации антител класса G к SARS-CoV-2 в образцах от разведения имеет линейный характер в диапазоне концентраций 10-500 BAU/мл (при учете результатов анализа при длине волны 405 нм) или 10-125 BAU/мл (при учете результатов анализа при длине волны 450 нм). Линейность находится в пределах 90-110 %. Значение «Линейности» оценено на образцах Стандартной панели предприятия, аттестованных относительно Международного стандарта ВОЗ First WHO International Standard for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin (human), NIBSC code: 20/136.

Открытие.

Значение «Открытия» проверяется тестом на соответствие измеренной концентрации антител класса G к SARS-CoV-2 предписанной в образце, полученном путем смешивания равных объемов контрольного образца и калибровочной пробы 10 BAU/мл. Процент «открытия» составляет 90-110%. Значение «Открытия» оценено на образцах Стандартной панели предприятия, аттестованных относительно Международного стандарта ВОЗ First WHO International Standard for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin (human), NIBSC code: 20/136.

Диапазон измерения.

Диапазон измерения медицинского изделия для всех типов исследуемых образцов:

от 10 до 500 BAU/мл (при учете результатов анализа при длине волны 405 нм)

от 10 до 125 BAU/мл (при учете результатов анализа при длине волны 450 нм).

Точность измерения.

Точность измерения была определена на образцах Международного стандарта ВОЗ First WHO International Standard for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin (human), NIBSC code: 20/136. Точность измерения-достаточная.

Правильность определения.

Правильность определения была оценена на образцах Международного стандарта ВОЗ First WHO International Standard for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin (human), NIBSC code: 20/136. Правильность определения –достаточная.

Повторяемость и воспроизводимость.

Прецизионность измерений в условиях повторяемости Набором реагентов «Тест-система иммуноферментная для количественного выявления антител класса G к SARS-CoV-2» «ИФА-SARS-CoV-2-AT-G Количественный» составила не более 8%

Прецизионность измерений в условиях воспроизводимости Набором реагентов «Тест-система иммуноферментная для количественного выявления антител класса G к SARS-CoV-2» «ИФА-SARS-CoV-2-AT-G Количественный» составила не более 8%

Биологический референтный интервал по результатам клинических испытаний составляет:

-для постморбидного иммунитета 19-4051 BAU/мл

- для поствакцинального иммунитета 178-1114 BAU/мл.

Оценка поствакцинального иммунитета возможна при проведении вакцинации:

-комбинированная векторная вакцина («Гам-КОВИД-Вак»), дата регистрации 11.08.2020

г.

-комбинированная векторная вакцина («Гам-КОВИД-Вак-Лио»), дата регистрации 25.08.2020 г.

- вакцина коронавирусная инактивированная цельновирионная концентрированная очищенная («КовиВак»), дата регистрации 19.02.2021 г.

- вакцина для профилактики COVID-19 («Спутник Лайт»), дата регистрации 06.05.2021 г.

Набор реагентов «ИФА-SARS-CoV-2-AT-G Количественный» не используется для оценки поствакцинального иммунитета вакцинами на основе пептидных антигенов: (AZURITE), производитель "Дайнекс Текнолоджис", США РУ №ФСЗ 2009/03660, вакцина на основе пептидных антигенов («ЭпиВакКорона»), дата регистрации 13.10.2020 г., вакцина на основе пептидных антигенов («ЭпиВакКорона-Н»), дата регистрации 26.08.2021 г.

"Ноок-эффект" отсутствовал до концентрации 5600 BAU/мл антител класса G к SARS-CoV-2 в исследуемом образце.

Эквивалентность образцов сыворотки и плазмы крови человека.

Исследование 50 положительных по содержанию IgG к SARS-CoV-2 парных образцов сыворотки и плазмы крови, полученных от 25 пациентов с COVID-19, и 50 отрицательных в отношении COVID-19 парных образцов сыворотки и плазмы крови, полученных от 25 доноров крови, показало эквивалентность сыворотки и плазмы крови.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор биологически безопасен, однако с исследуемыми образцами необходимо обращаться как с потенциально инфицированным материалом.

Потенциальный риск применения набора – класс 2Б (Приказ МЗ РФ №4н от 6 июня 2012 г.).

Меры предосторожности при работе с набором – соблюдение правил Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений" (Утв. Минздравом СССР 17 января 1991 г.), ГОСТ Р 52905–2007 (ИСО 15190:2003).

РПРО и РРО содержат натрия азид в безопасной концентрации¹. Стоп-реагент при попадании на незащищенную кожу и слизистые может вызывать химические ожоги. В случае попадания на кожу – немедленно промойте пораженный участок водой.

Набор реагентов, в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 "Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий" относится классу А - отходы, не имеющие контакта с биологическими жидкостями пациентов, инфекционными больными и классу Б (эпидемиологически опасные отходы) – инфицированные и потенциально инфицированные отходы, материалы и инструменты, предметы, загрязненные кровью и/или другими биологическими жидкостями.

Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию 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".

Перечень рисков, идентифицированных в процессе анализа риска, и описание способов управления этими рисками в целях снижения их до допустимого уровня представлен отдельным документом (см. Анализ рисков).

СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

Оборудование и материалы (для "ручной" постановки)

¹ ПДКв = 0,05 мг/л (по азид-иону) http://toxi.dyndns.org/base/nonorganic/Nitrogenium1/Azid_natrija.htm

- Дозаторы пипеточные с двойным термостатированным цветным корпусом с фиксированными и переменными объемами доз, одно- и многоканальные «Колор»;
- Мерный цилиндр (стакан) вместимостью 1000 мл для приготовления отмывающего раствора.
- Дозаторы пипеточные, одно- и многоканальные «Лайт»;
- Спектрофотометр вертикального сканирования для 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;
- Центрифуга лабораторная на 2,5-3,0 тыс. об/мин;
- Шейкер термостат медицинский орбитального типа, позволяющий осуществлять встряхивание при 700 об/мин и температуре 37 ± 1 °C;
- Холодильник бытовой;
- Фильтровальная бумага;
- Вода очищенная (дистиллированная или деионизированная);
- 70 %-ный раствор спирта этилового и 6 %-ный раствор перекиси водорода (дез. растворы) или растворы иных дезинфектантов, разрешенных к применению СП 1.32322-08, кроме хлорсодержащих.
- ИФА-анализатор.

Подготовка компонентов для анализа

Внимание! Соблюдение указанных ниже требований позволит избежать искажения результатов ИФА.

Перед работой извлечь набор из холодильника, вскрыть упаковку и выдержать все реагенты перед проведением анализа не менее 30 мин при температуре от 18 до 26 °C.

Нельзя использовать реагенты из наборов разных серий или смешивать их при постановке ИФА, кроме унифицированных реагентов (ФСБ-Т(х25), РИ, РПРО, стоп-реагент).

Нельзя использовать реагенты из наборов других производителей.

После использования необходимо каждый флакон с реагентом закрывать своей крышкой.

При подготовке растворов и проведении ИФА использовать только одноразовые накопечники для дозаторов пипеточных.

При использовании автоматического промывателя планшетов необходимо следить за чистотой емкости для промывочного раствора и соединительных шлангов во избежание образования микробного пророста и контаминации промывочного раствора. Для предотвращения засорения игл промывателя необходимо ежедневно проводить процедуру промывки устройства водой очищенной. Еженедельно необходимо проводить замачивание промывателя в 70% этиловом спирте или другом растворе, рекомендованном в инструкции к прибору.

При проведении промывки планшета промывочным раствором необходимо визуально контролировать наполнение лунок и аспирацию жидкости из них.

Дезинфекцию посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми образцами, необходимо проводить при помощи средств, не влияющих на результаты ИФА (не содержащих активный кислород и хлор).

При многократном использовании емкостей для конъюгата необходимо промыть их проточной водой и ополоснуть водой очищенной. При многократном использовании емкостей для раствора индикаторного необходимо промыть их проточной водой, затем 70% этиловым спиртом и ополоснуть водой очищенной. Нельзя обрабатывать емкости для многократного использования дезинфицирующими растворами и моющими средствами.

Запрещается использовать одну и ту же емкость для конъюгата и раствора индикаторного.

Дозаторы пипеточные и рабочие поверхности необходимо обрабатывать только 70% этиловым спиртом. Нельзя использовать перекись водорода и хлорамин.

Нельзя повторно использовать планшет разборный для предварительного разведения исследуемых образцов.

При проведении ИФА необходимо избегать воздействия прямого солнечного света на реагенты набора.

Необходимо избегать контакта раствора индикаторного с металлами и ионами металлов.

Не допускается принимать пищу, пить, курить или пользоваться косметикой в помещении, где проводится ИФА.

Предварительное разведение исследуемых образцов

Исследуемые образцы сыворотки (плазмы) развести 1:10 в лунках планшета для предварительного разведения исследуемых образцов. Для этого внести в лунки по 90 мкл РПРО и добавить по 10 мкл исследуемых образцов, тщательно перемешать пипетированием. При этом розовый цвет должен измениться на желтовато-оранжевый. Если изменения цвета не произошло, анализ образца может дать неправильный результат. При разведении плазмы допустимо незначительное изменение цвета раствора.

Рабочее разведение (1:100) готовить непосредственно в лунках иммуносорбента (см. раздел «Проведение ИФА» ("ручная постановка"), п. 2).

Предварительные разведения образцов (1:10) хранить не более 6 ч при температуре от 18 до 26 °С.

Контрольный образец КО и калибровочные пробы КП₁₋₄ не требуют предварительного разведения.

Приготовление рабочего промывочного раствора

Готовить не позднее, чем за 15 мин до проведения анализа.

При выпадении осадка солей в ФСБ-Т(х25) прогреть его при температуре 37 °С до полного растворения осадка и перед разведением охладить до температуры 26 °С.

В зависимости от числа используемых стрипов отобрать необходимый объем концентрата (ФСБ-Т) и довести его водой очищенной до объема, указанного в табл. 1

Таблица 1

Реагент	Объем реагента, мл, настрипов											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
ФСБ-Т(х25)	3	7	10	13	17	20	23	27	30	33	37	40
Вода очи- щенная	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 до 8 °С не более 190 сут, при температуре от 18 до 26 °С – не более 30 сут.

Приготовление остальных реагентов

Иммуносорбент, КО, КП₀, КП₁₀, КП₁₂₅, КП₅₀₀, РПРО, РРО, конъюгат, РИ, стоп-реагент – готовы к применению. РПРО и РРО перед использованием тщательно перемешать.

Проведение ИФА ("ручная" постановка)

Внимание! Соблюдение указанных ниже температуры и времени инкубации планшетов на каждой стадии постановки крайне важно для получения достоверных результатов.

1. Извлечь из пакета планшет, вскрыв его выше замка «zip-lock» и установить на рамку необходимое для проведения ИФА количество стрипов. Неиспользованные стрипы немедленно поместить обратно в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух, плотно закрыть «zip-lock» и поместить в холодильник. Хранение вскрытого иммуносорбента возможно при температуре 2-8 °С до истечения срока годности набора.

2. В лунки планшета внести по 100 мкл калибровочных проб КП₀, КП₁₀, КП₁₂₅, КП₅₀₀ и контрольный образец КО.

Примечание. При отсутствии возможности измерения результатов при 405 нм измерение проводить при 450 нм. В данном случае не использовать калибровочную пробу КП₅₀₀.

В остальные лунки внести по 90 мкл РРО и по 10 мкл исследуемых образцов, предварительно разведенных 1:10 (см. раздел «Предварительное разведение исследуемых образцов»); содержимое лунок перемешать пипетированием. Конечное разведение каждого исследуемого образца в лунке составляет 1:100.

Общее время внесения образцов не должно превышать 15 мин.

3. Планшет заклеить клейкой пленкой, инкубировать 30 мин в термостатируемом шейкере при температуре 37 ± 1 °C с интенсивностью перемешивания 700 об/мин.

4. По окончании инкубации снять клейкую пленку и поместить ее в емкость с дезинфицирующим раствором. С помощью промывателя удалить содержимое лунок, 3 раза промыть планшет промывочным раствором, внося в лунки не менее 350 мкл раствора. При наличии промывателя, позволяющего производить промывку в режиме "Overflow", использовать именно этот режим. По окончании промывки остатки раствора удалить из лунок, постукивая перевернутым планшетом по сложенной в несколько слоев фильтровальной бумаге.

5. Во все лунки планшета внести по 100 мкл конъюгата.

6. Планшет заклеить клейкой пленкой, инкубировать 30 мин в термостатируемом шейкере при температуре 37 ± 1 °C с интенсивностью перемешивания 700 об/мин.

7. С помощью промывателя удалить содержимое лунок, 3 раза промыть планшет как указано в п. 4.

8. Во все лунки внести по 100 мкл раствора индикаторного и немедленно поместить планшет в защищенное от света место.

Инкубировать 25 мин при температуре от 18 до 26 °C.

Не использовать клейкую пленку на данном этапе!

9. Во все лунки (в той же последовательности, с которой вносился раствор индикаторный) внести по 100 мкл стоп-реагента, осторожно (постукиванием по планшету) перемешать содержимое лунок и не более чем через 10 мин приступить к учету результатов.

Регистрация и учет результатов

1. Результаты ИФА регистрировать с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность (ОП) при двух длинах волн – 405 нм и 620-655 нм.

Примечание. 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.

При отсутствии в спектрофотометре референс-фильтра на 620-655 нм оптическую плотность (ОП) измерять при одной длине волны – 405 или 450 нм.

2. Построить в линейных координатах калибровочный график зависимости значения оптической плотности от концентрации IgG к SARS-CoV-2 в калибровочных пробах (BAU/мл).

В случае качественного учета результатов интерпретировать полученные в BAU/мл результаты следующим образом:

Исследуемые образцы учитывать как положительные (содержащие антитела к SARS-CoV-2) при $ОП_{обр} > 10$ BAU/мл.

Исследуемые образцы учитывать как отрицательные (не содержащие антитела к SARS-CoV-2) при $ОП_{обр} < 10$ BAU/мл.

3. Результаты ИФА учитываются при следующих условиях:

При измерении ОП при основной длине волны 405 нм:

- $ОП_{КП_0} < 0,05$;

- $ОП_{КП_{10}} / ОП_{КП_0} \geq 1,5$, где $ОП_{КП_{10}}$ и $ОП_{КП_0}$ – значения оптической плотности в лунках с калибровочными пробами 10 и 0 BAU/мл;

- $ОП_{КП_{500}} > 1,5$, где $ОП_{КП_{500}}$ – значение оптической плотности в лунке с калибровочной пробой 500 BAU/мл;

- рассчитанное по калибровочному графику значение концентрации IgG к SARS-CoV-2 в контрольном положительном образце соответствует пределам, указанным на этикетке флакона.

При измерении ОП при основной длине волны 450 нм:

- $ОП_{КП_0} < 0,1$;

- $ОП_{КП_{10}} / ОП_{КП_0} \geq 1,5$, где $ОП_{КП_{10}}$ и $ОП_{КП_0}$ – значения оптической плотности в лунках с калибровочными пробами 10 и 0 BAU/мл;

- $ОП_{КП_{125}} > 1,5$, где $ОП_{КП_{125}}$ – значение оптической плотности в лунке с калибровочной пробой 125 BAU/мл;

- рассчитанное по калибровочному графику значение концентрации IgG к SARS-CoV-2 в контрольном положительном образце соответствует пределам, указанным на этикетке флакона.

4. Если $ОП_{обр} > ОП_{КП_{500}}$ (при измерении при основной длине волны 405 нм) или $ОП_{обр} > ОП_{КП_{125}}$ (при измерении при основной длине волны 450 нм), где $ОП_{обр}$ – значение оптической

плотности в лунке с исследуемым образцом, результат анализа следует выражать «более 500 BAU/мл» или «более 125 BAU/мл» соответственно.

Для определения концентрации IgG к SARS-CoV-2 в таких образцах при их подготовке для анализа (см. раздел «Предварительное разведение исследуемых образцов») 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 РПО. 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 «Проведение ИФА». Вычисленное значение концентрации IgG к SARS-CoV-2 в данном случае следует умножить на 10.

Если вновь $ОП_{обр.} > ОП_{КП_{500}}$ (при измерении при основной длине волны 405 нм) или $ОП_{обр.} > ОП_{КП_{125}}$ (при измерении при основной длине волны 450 нм), результат анализа следует выражать «более 5000 BAU/мл» или «более 1250 BAU/мл» соответственно. Для определения концентрации IgG к SARS-CoV-2 в таких образцах при их подготовке для анализа (см. раздел «Предварительное разведение исследуемых образцов») 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 $ОП_{обр.} < ОП_{КП_{10}}$, результат анализа следует выражать «менее 10 BAU/мл».

ПОСТАНОВКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИФА-АНАЛИЗАТОРОВ

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

ОГРАНИЧЕНИЯ

Набор реагентов нельзя использовать для постановки диагноза коронавирусная инфекция SARS-CoV-2. Результаты тестирования на антитела **не должны** использоваться в качестве единственного основания для подтверждения или исключения инфицирования SARS-CoV-2 или для информирования о статусе инфекции. Для постановки диагноза необходимо использовать комплекс клинических и лабораторных исследований.

Набор реагентов выявляет антитела класса G к коронавирусу SARS-CoV-2 только в сыворотке или плазме крови человека.

На начальной стадии развития коронавирусной инфекции COVID-19 (от первого дня до 14-го с момента проявления первых симптомов COVID-19) может быть получен ложноотрицательный результат ИФА, так как титр антител класса G в анализируемых образцах может быть ниже определяемого уровня. Поэтому при подозрении на заражение коронавирусной инфекцией COVID-19 рекомендуется в дальнейшем провести тест повторно через две недели.

Антитела класса G к коронавирусу SARS-CoV-2 могут быть не выявлены при некоторых иммуносупрессиях.

Наличие или отсутствие антител класса G к коронавирусу SARS-CoV-2 не коррелирует с наличием или отсутствием РНК коронавируса SARS-CoV-2.

При установлении диагноза следует учитывать эпидемиологические и клинические проявления заболевания, а также результаты других лабораторных тестов (в частности, ПЦР исследования).

СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности набора – 2 года. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ

Хранение

Замораживание не допускается.

Хранение наборов должно осуществляться в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8 °C в течение всего срока годности.

Допускается хранение ФСБ-Т(х25) и стоп-реагента при температуре 2-30 °С.

После вскрытия упаковок неиспользованные реагенты допускается хранить в плотно закрытых упаковках в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности.

Транспортирование

Замораживание не допускается. Транспортирование наборов – при температуре от 2 до 8 °С транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. Допускается транспортирование при температуре от 9 до 26 °С в течение 15 сут.; при температуре от 26 до 30 °С – в течение 5 сут.

УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для учреждений здравоохранения.

ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для количественного выявления антител класса G к SARS-CoV-2» «ИФА-SARS-CoV-2-AT-G Количественный», соответствует ТУ 21.20.23-328-70423725-2021 с изм.№1, Национальным стандартам РФ и нормативным документам в части требований безопасности и эффективности.

Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

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

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

По вопросам, касающимся качества набора «ИФА-SARS-CoV-2-AT-G Количественный», следует обращаться по адресу: 142530 Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1-1а, Закрытое Акционерное Общество «ЭКОлаб» (ЗАО "ЭКОлаб"); 8(49643) 3-23-11; 3-30-93; тел./ факс (49643)3-30-85; тел. 8-800-333-33-47, ekolab-sekretar@mail.ru.

При предъявлении рекламации по поводу несоответствия физических и специфических характеристик набора реагентов заявленным для проведения объективного расследования производителем причин несоответствия потребитель должен предоставить:

1. набор реагентов той серии, на которую предъявляется рекламация;
2. спорные образцы исследуемого материала пациентов (сыворотка, плазма и пр.);
3. протоколы анализа с указанием наименования, серии и сроков годности использованного набора реагентов.
4. протоколы исследования с использованием других методов/наборов реагентов с указанием серии, сроков годности, производителя примененных наборов реагентов.

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ НА УПАКОВКЕ И ЭТИКЕТКАХ

IVD	Только для диагностики <i>in vitro</i>
	Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению

	Биологическая опасность
	Хранить при температуре

Директор ЗАО "ЭКОлаб" по научной работе

С.Г. Марданлы

Генеральный директор

ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

«02» 08 2022 г.

П.К. Варнавичус



КРАТКАЯ СХЕМА ИФА
(«ИФА-SARS-CoV-2-АТ-Г Количественный»)

Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!

Внести	в лунку А1 – по 100 мкл КР ₀ , в лунку В1 – по 100 мкл КР ₁₀ , в лунку С1 – по 100 мкл КР ₁₂₅ , в лунку D1 – по 100 мкл КР ₅₀₀ , в лунку Е1 – 100 мкл КО в остальные лунки по 90 мкл РРО и по 10 мкл предварительно разведенных исследуемых образцов
Инкубация	30 мин, 37 °С, 700 об/мин
Промыть	3 раза промывочным раствором
Внести	во все лунки по 100 мкл конъюгата
Инкубация	30 мин, 37 °С, 700 об/мин
Промыть	3 раза промывочным раствором
Внести	по 100 мкл раствора индикаторного в каждую лунку
Инкубация	25 мин, 18-26 °С, 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 13 ЛИСТОВ
В КОЛИЧЕСТВЕ

« 02 » 08 2022 г.

Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавигус П.К.



Пронумеровано, пронумеровано
и скреплено печатью

13 лист 06
Ген. директор ЗАО "ЭКОлаб"
Гашенко Т.Ю.
" 02 " 08 2022 г.

