

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

**НАБОР ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
ИММУНОГЛОБУЛИНОВ КЛАССА G (IgG) К RBD-ДОМЕНУ
S-БЕЛКА ВИРУСА SARS-COV-2 В СЫВОРОТКЕ/ПЛАЗМЕ КРОВИ
ЧЕЛОВЕКА ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ МЕТОДОМ –
«SARS-COV-2-IgG-ELISA-RBD-Q»
ПО ТУ 21.10.60-003-83076696-2021
СЕРИЯ: 3P.8.1.ha**



Instruction for use

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ **REF** AL-EL-12

ТУ №21.10.60-003-83076696-2021

ДАТА ВВЕДЕНИЯ В ДЕЙСТВИЕ -2021-_____



Для 96 исследований



Для *in vitro* диагностики



ООО «Аллель»

123458, г. Москва, ул. Твардовского,
Д. 8, пом. V, ком. 8
Тел.: +7 (495) 780-92-96
e-mail: lab@allele.tech

Оглавление	
1. Общая характеристика набора	3
2. Назначение набора	4
3. Принцип метода	5
4. Область применения набора	5
5. Потенциальные пользователи	6
6. Показания и противопоказания к применению набора	6
7. Риски применения набора	6
8. Анализируемые образцы	6
9. Подготовка анализируемых образцов для исследования	6
10. Состав набора	7
11. Необходимое дополнительное оборудование, не входящее в состав набора	8
12. Требования к упаковке и маркировке набора	8
13. Функциональные (технические) характеристики	9
14. Предупреждения и рекомендации при работе с набором	10
15. Требования безопасности	11
16. Утилизация отходов	12
17. Проведение иммуноферментного анализа	13
18. Обсчет и интерпретация результатов	14
19. Условия хранения и транспортировки	16
20. Гарантии производителя	17
21. Порядок подачи рекламаций	17
22. Краткая схема проведения анализа "SARS-CoV-2-IgG-ELISA-RBD-Q" 18	
23. Список обозначений	19

1. Общая характеристика набора

Полное наименование	"Набор для количественного определения иммуноглобулинов класса G (IgG) к RBD-домену S-белка вируса SARS-CoV-2 в сыворотке/плазме крови человека иммуноферментным методом" – «SARS-CoV-2-IgG-ELISA-RBD-Q» по ТУ 21.10.60-003-83076696-2021 СЕРИЯ: ЗР.8.1.1а
Сокращенные наименования	Набор реагентов "SARS-CoV-2-IgG-ELISA-RBD-Q", Набор "SARS-CoV-2-IgG-ELISA-RBD-Q", "SARS-CoV-2-IgG-ELISA-RBD-Q"
Каталожный номер	AL-EL-12
Срок годности набора	12 месяцев
Диапазон обнаружения	Количественный: диапазон обнаружения 1-320 ВАУ/мл
Диагностические характеристики	Диагностическая чувствительность – 99,0% ДИ: 96,4%; 100,0% Диагностическая специфичность - 99,0% ДИ: 96,4%; 100,0%
Контрольные образцы	Отрицательный контроль К- (<10 ВАУ/мл) и положительный контроль К+ (70 до 120 ВАУ/мл), калибраторы: (К1) (0 ВАУ/мл), К2 (20 ВАУ/мл), К3 (40 ВАУ/мл), К4 (80 ВАУ/мл), К5 (160 ВАУ/мл), К6 (320 ВАУ/мл)
Общее время проведения анализа	75 минут
Схема проведения анализа	Двухстадийный
Объем биологического материала для анализа (сыворотка/плазма (ЭДТА-К2, ЭДТА-К3) крови)	5 мкл
Количество определений	Набор рассчитан на 96 определений включая контроли. Для ручных и автоматизированных методик
Готовность компонентов набора к использованию	Требуется предварительная подготовка рабочего раствора промывочного буфера (ПБф). Остальные компоненты набора готовы к использованию.
Упаковка	Иммуносорбент (ИС) упакован в пластиковый фольгированный пакет с замком типа «zip lock», с влагопоглотителем (силикагель). Планшет для дополнительного разведения образцов (ПДР) упакован в полиэтиленовый пакет с замком типа «zip lock», жидкие реагенты дозированы в пластмассовые флаконы с навинчивающимися крышками; флаконы с реагентами, пакет с иммуносорбентом (ИС), пакет с планшетом для дополнительного разведения образцов (ПДР), пленка для заклеивания и краткая

	инструкция по применению упакованы в картонную коробку с вкладышем (ложементом).
Эксплуатационная документация	Инструкция по применению набора SARS-CoV-2-IgG-ELISA-RBD-Q

2. Назначение набора

2.1. Набор «SARS-CoV-2-IgG-ELISA-RBD-Q» предназначен для количественного определения иммуноглобулинов класса G к рецептор-связывающему домену (RBD) S-белка коронавируса SARS-CoV-2 в сыворотке или плазме крови человека и рекомендуется для *in vitro* диагностики и проведения эпидемиологических исследований.

Функциональное назначение:

Набор может применяться для оценки гуморального иммунного ответа на текущую или перенесенную инфекцию, вызванную коронавирусом SARS-CoV-2, определения уровня поствакционного иммунитета вакцинами на основе S-белка после иммунизации вакцинами: Гам-КОВИД-Вак (Комбинированная векторная вакцина для профилактики коронавирусной инфекции, вызываемой SARS-CoV-2) рег. №: ЛПИ-006395; Спутник Лайт (Векторная вакцина для профилактики коронавирусной инфекции, вызываемой SARS-CoV-2) рег. №: ЛПИ-006993; КовиВак (Вакцина коронавирусная инактивированная цельновирионная концентрированная очищенная), рег. №: ЛПИ-006800-190221, а также в качестве вспомогательного средства при диагностике коронавирусной инфекции COVID-19.

Набор рассчитан на проведение анализа 96 образцов, включая контрольные и калибровочные образцы. Возможно дробное использование набора.

2.2. Актуальность проблемы

Широкое распространение новой коронавирусной инфекции COVID-19, вызываемой вирусом SARS-CoV-2, поставило перед медицинским сообществом сложные задачи, связанные с быстрой и достоверной диагностикой и эффективным лечением пациентов с данной инфекцией. К наиболее опасным осложнениям, связанным с высоким уровнем смертности среди пациентов с COVID-19, находящихся под наблюдением в отделениях интенсивной терапии, относится острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС). Основную роль в патогенезе ОРДС играет избыточный ответ иммунной системы, в результате чего может развиваться синдром системной воспалительной реакции (цитокиновый шторм).

В ходе вирусного заболевания в организме происходит выработка антител к компонентам вирусных частиц. Выявление и количественное определение этих антител подтверждает перенесенное заболевание или бессимптомное носительство и свидетельствует о наличии иммунитета.

2.1. Методы диагностики новой коронавирусной инфекции COVID-19

Первоначально факт инфицирования SARS-CoV-2 может быть подтвержден выявлением РНК возбудителя в биологических пробах пациента, таких как бронхоальвеолярный лаваж, мокрота, мазки из носоглотки и ротоглотки. РНК SARS-CoV-2 может быть детектирована с первых дней после заражения.

Коронавирус SARS-CoV-2 содержит 4 белка: спайковый (S), оболочечный (E), нуклеокапсидный (N) и мембранный (M). S-белок располагается на поверхности вируса,

часть этого белка, называемая RBD-домен, связывается с рецепторами ангиотензин-превращающего фермента (ACE2) на поверхности клеток различных тканей (в том числе на эпителии легочных альвеол и на слизистой ротовой полости) и начинать, таким образом, процесс внедрения вируса в клетку. При связывании антител с RBD-доменом – вирус теряет способность проникать в клетки, т.е. происходит нейтрализация вируса.

Специфические антитела IgG появляются в крови пациентов с SARS-CoV-2 уже через 12 дней после появления симптомов и могут быть обнаружены на протяжении длительного времени, при этом титр специфических антител IgG в фазе выздоровления примерно в 4 раза выше, чем в острой фазе. Определение уровня специфических IgG может использоваться в качестве критерия диагностики у пациентов с подозрением на COVID-19 с отрицательным анализом на наличие нуклеиновых кислот, для выявления бессимптомных и стертых форм COVID-19, определения продолжительности и интенсивности иммунитета к SARS-CoV-2, а также для определения потенциальных доноров плазмы, которая может быть использована в терапии тяжелых форм COVID-19.

3. Принцип метода

Набор «SARS-CoV-2-IgG-ELISA-RBD-Q» представляет собой тест-систему на основе метода непрямого твердофазного иммуноферментного анализа. На дне лунок полистиролового разборного / неразборного планшета нанесен рекомбинантный антиген вируса SARS-CoV-2 (белок RBD, полученный в культуре эукариотических клеток), который во время процесса инкубации взаимодействует с антителами к SARS-CoV-2, присутствующими в исследуемом образце. Далее, к образовавшемуся иммунному комплексу добавляют меченые ферментом (пероксидазой хрена) антитела к иммуноглобулинам человека класса G (IgG). После проведения субстрат-ферментативной реакции с участием хромогена (тетраметилбензидина, ТМБ), проводят измерение величины оптической плотности растворов в лунках.

В планшет вносят образцы, разбавленные раствором для разведения сывороток, положительный и отрицательный контроли, а также калибраторы (растворы, содержащие рекомбинантный химерный IgG человека (или его фрагменты) к RBD-домену SARS-CoV-2 в определенной концентрации). На основании полученных значений оптических плотностей калибраторов строится калибровочный график, по которому определяется концентрация анализируемых IgG в положительном контрольном образце и анализируемых образцах.

4. Область применения набора

Набор «SARS-CoV-2-IgG-ELISA-RBD-Q» предназначен для использования в клинической лабораторной диагностике. Набор «SARS-CoV-2-IgG-ELISA-RBD-Q» используется для количественного определения иммуноглобулинов класса G к рецептор-связывающему домену (RBD) S-белка (spike) коронавируса SARS-CoV-2 у всех лиц без ограничения пола и возраста с симптомами ОРВИ или без. Набор «SARS-CoV-2-IgG-ELISA-RBD-Q» предназначен исключительно для профессионального использования. Только для диагностики *in vitro*. Для медицинских организаций независимо от организационно-правовой формы.

5. Потенциальные пользователи

Для выполнения анализа с использованием данного набора реагентов необходимо участие специалистов не моложе 18 лет с высшим или средним медицинским, биологическим или иным образованием, не имеющих медицинских противопоказаний к вакцинации, лечению специфическими препаратами и к работе в средствах индивидуальной защиты. Персонал должен иметь навыки работы с биохимическими реактивами и современным лабораторным оборудованием.

6. Показания и противопоказания к применению набора

Показанием к применению Набора «SARS-CoV-2-IgG-ELISA-RBD-Q» является необходимость количественного определения иммуноглобулинов класса G к рецептор-связывающему домену (RBD) S-белка (spike) коронавируса SARS-CoV-2 в сыворотке или плазме крови человека в качестве помощи в диагностике инфекции COVID-19.

Противопоказаний и побочных эффектов при работе с набором «SARS-CoV-2-IgG-ELISA-RBD-Q» не выявлено. Набор «SARS-CoV-2-IgG-ELISA-RBD-Q» предназначен только для однократного применения по назначению.

7. Риски применения набора

Несмотря на то, что иммуноферментный анализ является высокоспецифичным и высокочувствительным методом, в редких случаях возможны ложноположительные и ложноотрицательные результаты, так как ни один из известных методов тестирования не может дать полной гарантии положительного и отрицательного результата анализа.

Причиной получения некорректных результатов может быть несоблюдение требований и процедур, описанных в настоящей инструкции, в том числе: нарушение целостности упаковки при транспортировании, использование набора с истекшим сроком годности или условий хранения набора, нарушение условий хранения и транспортирования образцов.

Диагноз инфекционного заболевания не должен быть установлен на основании результатов однократного тестирования с помощью набора «SARS-CoV-2-ИФА-IgG-квант», а определен компетентным специалистом в совокупности с результатами других лабораторных исследований, анамнезом пациента.

8. Анализируемые образцы

8.1. Для проведения иммуноферментного анализа допустимо использование нативных образцов сыворотки, плазмы (ЭДТА-К2, ЭДТА-К3) крови человека. Аналитический объем образца - 5 мкл образцов сыворотки или плазмы крови. Требуемый температурный режим хранения образцов сыворотки и плазмы: +2...+8 °С до 5 дней или -18...-22 °С до 6 месяцев.

8.2. Интерферирующие вещества.

С достоверным результатом могут быть исследованы образцы, содержащие до 50 мг/дл триглицеридов (гиперлипидемия), гемоглобин до 1000 мг/дл (гемолизированные образцы), билирубин до 60 мг/дл (иктеричные образцы).

9. Подготовка анализируемых образцов для исследования

Перед постановкой исследования с использованием набора «SARS-CoV-2-IgG-ELISA-RBD-Q» образцы, хранившиеся в холодильнике или морозильной камере, необходимо разморозить при температуре +18...+25 °С и тщательно перемешать. Пробы,

содержащие агрегаты или осадок, необходимо подвергать центрифугированию в течение 5 минут на скорости 3000 об/мин. Не допустимо использовать для исследования образцы с выраженным гемолизом или хилезом, а также образцы, в которых присутствует бактериальный рост. Не допустимо проводить повторные циклы замораживания/оттаивания образцов.

10. Состав набора

Наименование	Объем, мл	Кол-во, шт.	Описание
Иммуносорбент, планшет 96-луночный, полистироловый, разборный 12 стрипов*8 лунок / неразборный, 96 лунок (ИС)	-	1	планшет с иммобилизованным рекомбинантным антигеном вируса SARS-CoV-2 в пластиковом фольгированном пакете с замком типа «zip lock», с влагопоглотителем, готов к использованию
Промывочный буфер, 25х концентрат, (ПБф)	29	1	прозрачная бесцветная жидкость
Раствор для разведения сыворотки, (РРС)	17	1	прозрачная жидкость фиолетового цвета
Моноклональные антитела к IgG человека, конъюгированные с пероксидазой хрена (конъюгат)	17	1	прозрачная жидкость светлорозового или светлооранжевого цвета
Раствор тетраметилбензидина в субстратном буфере (ТМБ)	17	1	бесцветная или бледно-желтая прозрачная жидкость
0,5М раствор серной кислоты (Стоп-реагент)	17	1	прозрачная бесцветная жидкость
Положительный контрольный образец (К+) (70 – 120 ВАУ/мл) *	0,8	1	прозрачная жидкость светлорозового цвета
Отрицательный контрольный образец (К-) **	0,8	1	прозрачная жидкость светложелтого цвета
Калибратор 1 (0 ВАУ/мл) (К1)	0,8	1	прозрачная бесцветная жидкость
Калибратор 2 (20 ВАУ/мл) (К2)*	0,8	1	прозрачная бесцветная жидкость
Калибратор 3 (40 ВАУ/мл) (К3)*	0,8	1	прозрачная бесцветная жидкость
Калибратор 4 (80 ВАУ/мл) (К4)*	0,8	1	прозрачная бесцветная жидкость
Калибратор 5 (160 ВАУ/мл) (К5)*	0,8	1	прозрачная бесцветная жидкость
Калибратор 6 (320 ВАУ/мл) (К6)*	0,8	1	прозрачная бесцветная жидкость

Планшет для дополнительного разведения исследуемых образцов, разборный 4 стрипов*24 лунок / неразборный, 96 лунок (ПДР)	-	1	планшет в полиэтиленовом пакете с замком типа «zip lock»
Пленка для заклеивания планшета	-	3	-
Краткая инструкция по применению набора «SARS-CoV-2-IgG-ELISA-RBD-Q»	-	1	-

* Субстанция, содержащая рекомбинантный химерный IgG человека (или его фрагменты) к антигенам SARS-CoV-2. Метрологическая прослеживаемость компонентов «К1», «К2», «К3», «К4», «К5» и «К6» определена в соответствии ГОСТ ISO 17511-2011. Калибраторы аттестованы относительно стандарта WHO International Standard FIRST WHO International Standard for anti-SARS-COV-2, NIBSC code: 20/136. Единица измерения стандарта - BAU (binding antibody units – “единицы связывающих антител”).

** Субстанция, не содержащая нативный IgG человека (или его фрагменты) к антигенам SARS-CoV-2. Контрольный биологический материал для приготовления субстанции (К-) инактивирован, не содержит HBsAg; антител к антигенам ВИЧ 1,2; антител к ВГС.

11. Необходимое дополнительное оборудование, не входящее в состав набора

- 11.1. Спектрофотометр, позволяющий проводить измерение оптической плотности растворов в лунках планшета на длинах волн 450 нм и 620 - 650 нм;
- 11.2. Термостатируемый шейкер орбитального типа, поддерживающий температуру (37±1) °С;
- 11.3. Промывочное устройство для планшетов (допускается промывка планшетов в ручном режиме с помощью многоканальных пипеток);
- 11.4. Дозаторы одноканальные и/или многоканальные со сменными наконечниками, объемом до 10 мкл; до 200 мкл; до 1000 мкл;
- 11.5. Одноразовые ванночки для реагентов;
- 11.6. Холодильник фармацевтический, температурный режим 2...8 °С;
- 11.7. Цилиндр мерный, вместимостью до 100 мл, до 1000 мл;
- 11.8. Лабораторная фильтровальная бумага;
- 11.9. Таймер;
- 11.10. Дистиллированная или деионизованная вода.

12. Требования к упаковке и маркировке набора

- 12.1. Упаковка
 - 12.1.1. Внешняя и внутренняя упаковка набора должна быть целостной, без деформаций. При переворачивании флаконов с завинчивающейся крышкой не должно наблюдаться протечек.
 - 12.1.2. Флаконы с реагентами, контрольными положительным (К+) и отрицательным контрольными образцами (К-) и Калибраторами 1-6, пакет с планшетом (ИС), пакет с планшетом для дополнительного разведения (ПДР) и инструкция по применению упакованы в картонную коробку с вкладышем (ложементом) из картона.

- 12.1.3. Планшет (ИС) упакован в пакет из комбинированного материала с замком, внутрь каждого пакета вложен влагопоглотитель технический фасованный.
- 12.1.4. Планшет для дополнительного разведения (ПДР) упакован в полиэтиленовый пакет с замком.
- 12.1.5. К+ , К- и Калибраторы 1-6 дозированы во флаконы вместимостью 2 мл, резьбовые, конические с навинчивающейся крышкой.
- 12.1.6. Конъюгат, РРС, ТМБ, Стоп-реагент дозированы в пластмассовые с навинчивающейся крышкой флаконы вместимостью 20 мл.
- 12.1.7. ПБф (концентрат x25) дозирован в пластмассовый с навинчивающейся крышкой флакон вместимостью 30 мл.
- 12.2. Маркировка
- 12.2.1. Графическое оформление флаконов с реагентами, упаковки иммуносorbента, полиэтиленовых пакетов с замком или коробки соответствует ГОСТ Р 51088-2013 и ГОСТ Р ИСО18113-2-2015.
- 12.2.2. На каждый флакон с компонентом набора и пакет с ИС наклеена черно-белая или многоцветная самоклеящаяся этикетка, с указанием: сокращенного наименования предприятия-изготовителя, сокращенного наименования набора реагентов, сокращенного наименования реагента, объема реагента (для жидких реагентов), номера серии (партии, LOT) набора, срока годности (годен до) и условий хранения, предупредительной надписи: «Только для диагностики *in vitro*» («IVD»);
- 12.2.3. На пакетах с ИС, ПДР, флаконах с Конъюгатом, РРС, ПБф, ТМБ, К+, К-, К1 – К6 и Стоп-реагентом должно быть указано торговое наименование набора реагентов.
- 12.2.4. На каждом наборе (коробке) или на этикетке, наклеенной на каждый набор (коробку), нанесена маркировка с указанием в соответствии с ГОСТ Р 51088-2013: наименования предприятия-изготовителя, юридического адреса, телефона, адреса электронной почты, ссылки на сайт производителя в виде QR-кода, полного и сокращенного наименования набора реагентов, состава набора (наименование компонентов, количество, объем), каталожный номер набора, количества определений, на которое рассчитан набор (включая контрольные образцы), номера серии (партии, LOT) набора, срока годности (годен до) и условий хранения, предупредительных надписей: «Контрольный биологический материал инактивирован: не содержит р24 ВИЧ-1, HBsAg, антитела к антигенам ВИЧ 1,2, антитела к ВГС», «Только для диагностики *in vitro*» («IVD»), «Для профессионального использования», «Верх», «Обратитесь к инструкции по применению»; ссылки на скачивание полной версии инструкции к набору, на сайте производителя в виде QR-кода, регистрационного номера, номера настоящих технических условий.

13. Функциональные (технические) характеристики

Аналитическая чувствительность (нижний порог обнаружения, «LOD»)	1 ВАУ/мл
Линейность	В пределах 90-110% в диапазоне концентраций 10-320 ВАУ/мл.
Воспроизводимость	Коэффициент вариации не более 8%.

Тест на «открытие»	В пределах 90-110%.
Аналитическая специфичность (перекрестная реактивность)	Перекрестные реакции с другими патогенными представителями семейства коронавирусов а также вирусами HBV, HCV, HIV-1, HIV-2, Adenovirus, Human Metapneumovirus (hMPV), Parainfluenza virus 1-4, Influenza A, Influenza B, Enterovirus 71, Respiratory syncytial virus, Rhinovirus, Chlamydia pneumoniae, Streptococcus pneumonia, Mycobacterium tuberculosis, Mycoplasma pneumoniae, вирусом Эпштейна-Барра отмечены не были.
Диагностические характеристики	Диагностическая чувствительность – 99,0% Доверительный интервал: 96,4%; 100,0% Диагностическая специфичность - 99,0% Доверительный интервал: 96,4%; 100,0%
Биологические препараты, входящие в состав набора	<u>Положительный контрольный образец</u> – раствор, содержащий рекомбинантный химерный IgG человека к RBD-домену S-белка вируса SARS-CoV-2. <u>Отрицательный контрольный образец</u> – субстанция, не содержащая нативный IgG человека к RBD-домену S-белка вируса SARS-CoV-2. Контрольный биологический материал инактивирован (проводится патогенредукция нагреванием при температуре (56±1) °C в течение 3 ч.): не содержит р24 ВИЧ-1, HBsAg, антитела к антигенам ВИЧ 1,2, антитела к ВГС. <u>Калибраторы 2–6</u> – растворы, содержащие рекомбинантный химерный IgG человека (или его фрагменты) к RBD-домену S-белка вируса SARS-CoV-2.

14. Предупреждения и рекомендации при работе с набором

ВНИМАНИЕ! Для получения точных результатов исследования строго следуйте инструкции. Производитель не несет ответственности за некорректные результаты исследований, полученные вследствие несоблюдения требований инструкции.

- 14.1. Не используйте совместно реагенты наборов разных серий (партий, LOT) и наборов других производителей. Не используйте реагенты после истечения срока годности;
- 14.2. Для приготовления растворов и проведения иммуноферментного анализа следует использовать чистую мерную посуду и автоматические пипетки с погрешностью измерения объемов не более 5%;
- 14.3. Недопустимо проводить забор реагентов для раскапывания планшета непосредственно из флакона. Налейте необходимое количество раствора в ванночку

- для реагентов, откуда перенесите требуемое количество реагента в планшет. Недопустимо сливать остатки реагентов из ванночки обратно во флакон;
- 14.4. Используйте сменные одноразовые наконечники для каждого реагента и каждого образца, для предотвращения перекрестного загрязнения;
 - 14.5. Используйте только рекомендованный объем образца, как указано в инструкции, в противном случае, это может повлиять на достоверность результата;
 - 14.6. На ферментную активность конъюгата могут влиять пыль и химические реагенты, такие как гипохлорит натрия, кислоты, щелочи и т.п. Не проводите анализ в присутствии этих веществ;
 - 14.7. Не допустимо воздействие света на раствор хромогена (ТМБ);
 - 14.8. Убедитесь, что температура в орбитальном шейкере термостате равна +37⁰С;
 - 14.9. Избегайте длительных перерывов между шагами анализа, соблюдайте одинаковые условия для всех лунок;
 - 14.10. Не допускайте высыхания лунок после промывания, не допускайте формирования пузырей при добавлении реагентов;
 - 14.11. Не касайтесь дна и поверхности лунок, отпечатки пальцев и царапины могут влиять на точность считывания;
 - 14.12. При считывании результатов на спектрофотометре убедитесь, что в лунках нет пузырей.

15. Требования безопасности

Внимание! Все образцы сыворотки и плазмы крови человека должны рассматриваться как потенциально инфекционные.

- 15.1. Лаборатории, выполняющие исследования по определению IgG к коронавирусу SARS-CoV-2, обязаны обеспечить безопасность работы в соответствии с требованиями законодательства в сфере санитарно-эпидемиологического благополучия. Работа с исследуемыми образцами, при необходимости, должна проводиться с соблюдением требований ГОСТ Р 52905-2007.
- 15.2. Потенциальный риск применения набора реагентов по Номенклатурной классификации медицинских изделий, утвержденной Приказом Минздрава Российской Федерации № 4н от 6 июня 2012 года (в редакции Приказа Минздрава России от 25.09.2014 N 557н) – класс 2б.
- 15.3. Набор реагентов предназначен только для профессионального использования. Работу следует проводить в специально оборудованном помещении лаборатории, отвечающей требованиям ГОСТ Р 52905-2007. При работе с набором реагентов соблюдать требования «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» (утв. Минздравом СССР 17.01.1991).
- 15.4. При работе с набором реагентов и исследуемыми образцами использовать индивидуальные средства защиты: маска, халат, головной убор, резиновые или пластиковые перчатки, специальную обувь, защитные очки или щиток), так как образцы сыворотки или плазмы крови следует рассматривать как потенциально инфицированный биоматериал. Рабочее место дезинфицировать в соответствии с требованиями СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней» и МУ

287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

- 15.5. Необходимо одновременно обеспечить и соблюдать персоналом правила биологической безопасности и требования к организации и проведению данных работ с целью предотвращения контаминации дезинфектантом или пероксидазой хрена, содержащейся в растворе конъюгата, исследуемых проб, помещений и оборудования.
- 15.6. Обрабатывать руки после работы с набором реагентов и образцами в соответствии с действующей нормативной документацией.
- 15.7. Все компоненты набора реагентов, за исключением стоп-реагента, являются нетоксичными. Стоп-реагент обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания стоп-реагента на кожу и слизистые. В случае попадания промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.

16. Утилизация отходов

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».

- 16.1. Промывочные растворы необходимо собрать в специальный контейнер, обработать дезинфицирующими средствами, разрешенными для применения на территории РФ в установленном порядке и утилизировать как отходы класса Б.
- 16.2. Твердые отходы, собранные в специальный контейнер, необходимо обеззараживать в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 и утилизировать как отходы класса Б.
- 16.3. Неиспользованные наборы реагентов с истекшим сроком годности перед утилизацией необходимо разукomплектовать.
 - 16.3.1. Неиспользованный концентрат промывочного раствора следует утилизировать, как отходы класса А.
 - 16.3.2. Неиспользованные положительные и отрицательные контроли, калибраторы, конъюгат, раствор для разведения сыворотки и иммуносорбент необходимо обеззараживать и утилизировать, как медицинские отходы класса Б.
 - 16.3.3. Неиспользованные концентрат ТМБ-хромогена и Стоп-реагент следует утилизировать, как отходы класса Г.
 - 16.3.4. Все использованные в процессе проведения иммуноферментного анализа материалы (наконечники, флаконы, планшеты, контейнеры образцов) и рабочее место должны быть продезинфицированы в соответствии с требованиями МУ-87-113.
- 16.4. Утилизация наборов реагентов и использованных материалов проводится специализированными организациями, которые имеют лицензию на право утилизации медицинских отходов.

17. Проведение иммуноферментного анализа

17.1. Ручная методика проведения исследования

17.1.1. Поместите реагенты в комнатную температуру (20 - 25⁰С) за 15-30 минут до начала анализа.

17.1.2. Приготовьте рабочий раствор промывочного буфера.

ВНИМАНИЕ! При наличии во флаконе концентрата промывочного буфера осадка солей, флакон следует выдержать при 37 °С до полного растворения.

Содержимое флакона с 25х концентратом промывочного буфера необходимо развести дистиллированной водой в соответствии с «таблицей разведения ПБф». Используйте только чистые пробирки для разбавления промывочного буфера.

Таблица разведения ПБф:

Количество используемых стрипов ИС	25х концентрат, мл	dH ₂ O, мл	Общий объем, мл
1	2	48	50
2	4	96	100
3	6	144	150
4	8	192	200
5	10	240	250
6	12	288	300
7	14	336	350
8	16	384	400
9	18	432	450
10	20	480	500
11	22	528	550
12	24	576	600

17.1.3. Извлеките необходимое количество стрипов ИС из планшета. Поместите стрипы в держатель. Для каждой постановки требуется добавить к исследуемым образцам Калибраторы 1-6 (К1–К6) и два контроля: отрицательный контроль (К-) и положительный контроль (К+) (см. образец схемы планшета для постановки). Неиспользованные стрипы поместить обратно в фольгированный пакет содержащий силикогель, плотно закрыть замок и хранить при температуре +2...+8 °С не более 2 месяцев.

Образец схемы планшета для постановки для 16 образцов:

	1	2	3	4
A	К-	Образец №1	Образец №9	-
B	К+	Образец №2	Образец №10	-
C	К1	Образец №3	Образец №11	-
D	К2	Образец №4	Образец №12	-
E	К3	Образец №5	Образец №13	-
F	К4	Образец №6	Образец №14	-
G	К5	Образец №7	Образец №15	-

Н	К6	Образец №8	Образец №16	-
---	----	------------	-------------	---

- 17.1.4. Во все лунки, кроме контрольных К+, К- и К1–К6 добавьте 95 мкл раствора для разведения сыворотки (PPC);
- 17.1.5. Во все лунки, кроме контрольных К+, К- и К1–К6 добавьте 5 мкл исследуемых образцов и тщательно пропипетируйте. В лунку К+ добавьте 100 мкл положительного контрольного образца (К+), в лунки К- добавьте 100 мкл отрицательного контрольного образца (К-), в лунки К1–К6 добавьте по 100 мкл соответствующего калибратора;
- 17.1.6. Инкубация №1: заклейте планшет пленкой и инкубируйте 30 минут при температуре +37⁰С. Необходимо использовать термостатируемый шейкер орбитального типа, частота оборотов – 400 RPM;
- 17.1.7. Промывка №1: после окончания инкубации, снимите и выбросьте пленку. Промойте лунки планшета 5 раз промывочным буфером (ПБф) промывочным устройством для планшетов или в ручном режиме, внося по 300 мкл раствора в каждую лунку. Каждый раз выдержите лунки в наполненном состоянии 30-60 секунд. После конечного (пятого) промывания переверните планшет на бумажное полотенце (фильтровальную бумагу) и постучите планшетом для удаления жидкости;
- 17.1.8. Добавьте во все лунки по 100 мкл конъюгата;
- 17.1.9. Инкубация №2: заклейте планшет пленкой и инкубируйте 30 минут при температуре +37⁰С. Необходимо использовать термостатируемый шейкер орбитального типа, частота оборотов – 400 RPM;
- 17.1.10. Промывка №2: после окончания инкубации, снимите и выбросьте пленку. Промойте лунки планшета 5 раз промывочным буфером (ПБф) промывочным устройством для планшетов или в ручном режиме, внося по 300 мкл раствора в каждую лунку. Каждый раз выдержите лунки в наполненном состоянии 30-60 секунд. После конечного (пятого) промывания переверните планшет на бумажное полотенце (фильтровальную бумагу) и постучите планшетом для удаления жидкости;
- 17.1.11. Проявление цветовой реакции: Внесите 100 мкл хромогена (ТМБ) в каждую лунку, перемешайте пипетированием. Инкубируйте планшет в темноте в течение 15 минут при температуре +37⁰С.
- 17.1.12. Остановка реакции: внесите по 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку и перемешайте пипетированием. Проводите измерение оптической плотности не позднее, чем через 10 мин после внесения стоп-реагента.

ВНИМАНИЕ! Остатки растворов из ванночек утилизировать, не сливать во флаконы с исходным раствором.

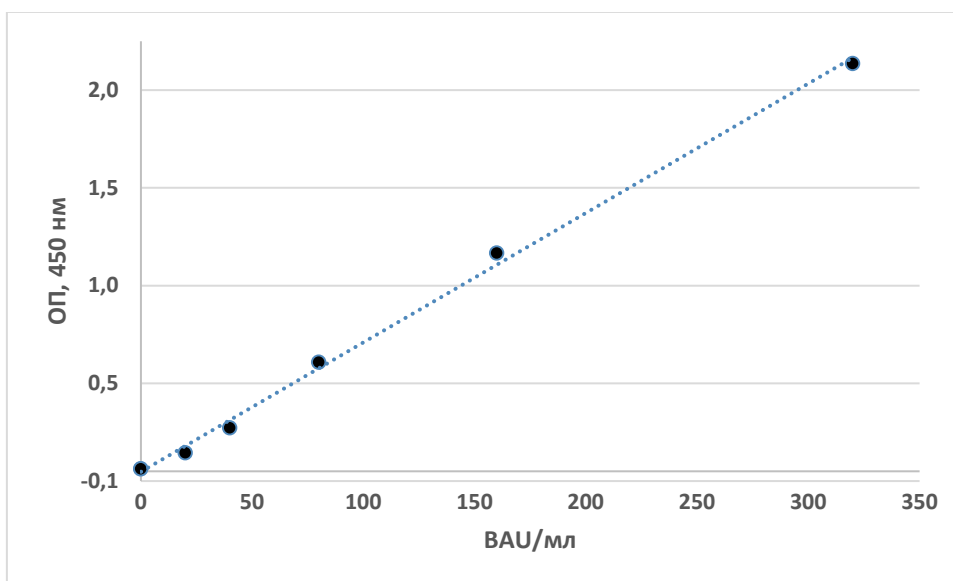
- 17.1.13. Измерить величину оптической плотности (ОП) растворов в лунках на спектрофотометре при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения– 620-650 нм.

Допускается измерение при одной длине волны - 450 нм без длины волны сравнения.

18. Обсчет и интерпретация результатов

Для определения концентрации антител в исследуемых образцах строится калибровочная кривая методом «от точки к точке» (point-to-point). По оси Y откладывают значения измеренной оптической плотности шести калибраторов, по оси X –

соответствующие концентрации антител в ВАУ/мл в этих калибраторах. При компьютерной обработке данных также используется способ построения калибровочной кривой «от точки к точке». Ниже приведен пример типичной калибровочной кривой, не используйте эту кривую для определения концентрации антител в образцах пациентов.



Калибровочная кривая строится с использованием сервиса компании производителя (<https://corp.alleltech.com/test-chart.html>), автоматически на измерительном приборе или на миллиметровой бумаге.

Если значение оптической плотности исследуемых образцов превышает значение оптической плотности калибратора 6 (320 ВАУ/мл), результат записывают как «>320 ВАУ/мл». Для определения концентрации IgG в таких образцах необходимо провести дополнительное разведение анализируемого образца в 10 раз. Для этого в лунку планшета для дополнительного разведения (ПДР) образцов, например, А1 внести 90 мкл РРС. Затем в лунку А1 внести 10 мкл образца исследуемой сыворотки (плазмы), тщательно перемешать. В лунке А1 ПДР таким образом получено разведение исследуемого образца сыворотки (плазмы) в 10 раз. Дальнейшие действия выполнить в соответствии с пунктами 16.1.3-16.1.13. Вычисленное значение концентрации IgG в этом случае следует умножить на коэффициент 10. В случае получения результата «>320 ВАУ/мл» (по калибровочной кривой), результат записывают как «>3200 ВАУ/мл» и проводят дополнительное разведение образца.

Для определения концентрации IgG в образцах исследуемой сыворотки (плазмы) с результатом «>3200 ВАУ/мл» необходимо повторить анализ с дополнительным разведением образца в 100 раз. Для этого в две лунки ПДР, например, А2 и А3, внести по 90 мкл РРС. В лунку А2 внести 10 мкл образца исследуемой сыворотки (плазмы), тщательно перемешать. Отобрать из этой лунки 10 мкл образца, перенести в лунку А3, тщательно перемешать. В лунке А3 получено разведение исследуемого образца сыворотки (плазмы) в 100 раз. Дальнейшие действия выполнить в соответствии с пунктами 17.1.3-17.1.13. Полученное значение концентрации IgG в этом случае следует умножить на коэффициент 100.

БИОЛОГИЧЕСКИЙ РЕФЕРЕНТНЫЙ ИНТЕРВАЛ

Интерпретация результата	Концентрация антител ВАУ /мл
Отрицательный результат	< 10
Пограничный* результат	10 – 20
Положительный результат	> 20

*в случае получения пограничного значения однозначная интерпретация результата невозможна. Рекомендуется повторное проведение тестирования пациента спустя 1- 2 недели с помощью набора «SARS-CoV-2-IgG-ELISA-RBD-Q».

При использовании набора «SARS-CoV-2-IgG-ELISA-RBD-Q», в каждой лаборатории рекомендуется уточнить значения, соответствующие референсному диапазону, с учетом особенностей популяции.

При постановке анализа в дубликатах следует использовать среднее из значений в двух лунках. Если два значения существенно отличаются друг от друга (более 20%), анализ образца следует повторить.

При использовании разных вариантов измерения оптической плотности образцов (при основной длине волны – 450 нм; длине волны сравнения– 620-650 нм или осн.длина волны– 450 нм; длина волны сравнения –отсутствует) результаты исследований считают достоверными, если будут выполнены следующие условия:

- соотношение оптических плотностей калибраторов 1–6 (K1–K6) соответствует условию $ОП(K1) < ОП(K2) < ОП(K3) < ОП(K4) < ОП(K5) < ОП(K6)$;
- вычисленное по калибровочному графику значение концентрации IgG к SARS-CoV-2 в отрицательном контрольном образце (K-) менее 10 ВАУ/мл;
- вычисленное по калибровочному графику значение концентрации IgG к SARS-CoV-2 в положительном контрольном образце (K+) находится в диапазоне от 70 до 120 ВАУ/мл.

19. Условия хранения и транспортировки

- 19.1. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно осуществляться при температуре +2 ...+8°C в течение всего срока годности в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.
- 19.2. Транспортировать набор реагентов следует крытым транспортом (автомобильным, железнодорожным либо воздушным) в термоконтейнере при температуре +2 ...+8°C. Не допускать замораживания.
- 19.3. В случае дробного использования Набора компоненты следует хранить следующим образом:
 - 19.3.1. Неиспользованные стрипы иммуносорбента (ИС) необходимо плотно закрыть в пластиковый фольгированный пакет содержащий силикагель, входящий в комплект, закрыть замок на пакете и хранить при температуре +2...+8 °C не более 2х месяцев;
 - 19.3.2. Раствор для разведения сыворотки, конъюгат, хромоген (ТМБ), стоп-реагент после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °C не более 2х месяцев;
 - 19.3.3. Контрольные образцы (K+, K-) и калибраторы (K1 – K6) после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °C не более 2х месяцев;
 - 19.3.4. Неиспользованные стрипы Планшета для дополнительного разведения (ПДР)

поместить в полиэтиленовый пакет, входящий в комплект, закрыть замок на пакете, хранить при температуре (+2...+25 °С) в течение всего срока годности набора;

19.3.5. Концентрат промывочного буфера (ПБф) после вскрытия флакона следует хранить при температуре +2...+8 °С не более 2-х месяцев.

20. Гарантии производителя

Предприятие-производитель гарантирует соответствие функциональных характеристик набора реагентов требованиям, указанным в технической и эксплуатационной документации, в течение установленного срока годности при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и применения. Срок годности набора «SARS-CoV-2-IgG-ELISA-RBD-Q» составляет 12 месяцев с даты изготовления набора. Требования к транспортировке, хранению и применению набора «SARS-CoV-2-IgG-ELISA-RBD-Q» указаны в п. 19 настоящей инструкции.

21. Порядок подачи рекламаций

Рекламации на специфические и физические свойства тест-системы направлять в адрес предприятия-изготовителя: ООО «Аллель», 123458, РФ, г. Москва, Твардовского, дом 8, пом V, ком 8 Тел. +7(495)780-92-96, lab@allele.tech, <https://alleltech.com/>

22. Краткая схема проведения анализа "SARS-CoV-2-IgG-ELISA-RBD-Q"


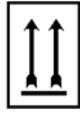


КРАТКАЯ ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

НАБОР ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ КЛАССА G (IGG) К RBD-ДОМЕНУ S-БЕЛКА ВИРУСА SARS-COV-2 В СЫВОРОТКЕ/ПЛАЗМЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ МЕТОДОМ- «SARS-COV-2-IGG-ELISA-RBD-Q» ПО ТУ 21.10.60-003-83076696-2021



23. Список обозначений

Символ	Значение символа
	Производитель
	Дата производства
	Номер по каталогу
	Номер серии
	Использовать до (год*месяц)
	Температурный диапазон хранения
	Только для <i>in vitro</i> диагностики
	Внимание
	Ознакомьтесь с инструкцией по применению
	Количество анализов
	Планшет иммуносорбент
	Планшет для дополнительного разведения
	Положительный контрольный образец
	Отрицательный контрольный образец

К1: 0 ВАУ/мл	Калибровочный образец 1
К2: 20 ВАУ/мл	Калибровочный образец 2
К3: 40 ВАУ/мл	Калибровочный образец 3
К4: 80 ВАУ/мл	Калибровочный образец 4
К5: 160 ВАУ/мл	Калибровочный образец 5
К6: 320 ВАУ/мл	Калибровочный образец 6
Конъюгат	Конъюгат
ТМБ	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ)
ПБф x25	Концентрат отмывочного раствора
Стоп-реагент	Стоп-реагент
PPC	Дилуент (раствор для разведения сыворотки)
	Хрупкое, обращаться осторожно
	Верх
	Беречь от влаги
	Не кантовать