



Инструкция пользования



COVID-19 (SARS-CoV-2) IgG ELISA - коронавирусная инфекция 2019 (SARS-CoV-2) IgG ИФА

Иммуноферментный анализ для качественного определения антител класса IgG против
коронавирусной инфекции 2019 (COVID-19) (SARS-CoV-2) в сыворотке или плазме крови человека

CE

IVD

Кат. ном. DECOV1901

96 лунок

Demeditec Diagnostics GmbH (Демедитек Диагностика ГмбХ) • Лизе-Майтнер-Штрассе 2 • 24145 Киль (Германия)
Тел.: +49 (0)431/71922-0 • Факс +49 (0)431/71922-55
info@demeditec.de • www.demeditec.com

Версия 16042020
ДЛБ
Обновлено 200423

Demeditec Diagnostics GmbH (Демедитек Диагностика ГмбХ) COVID-19 (SARS-CoV-2) IgG ИФА DECOV1901

12. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- В соответствии с пунктом 2 б статьи 1 Европейской директивы 98/79/ЕС использование медицинских приборов для диагностики in vitro предусмотрено изготовителем для обеспечения пригодности, характеристик и безопасности продукта. Поэтому процедура испытаний, информация, меры предосторожности и предупреждения в инструкции по применению должны строго соблюдаться. Наборы должны быть использованы с анализаторами и оборудованием, прошедшими валидацию. Любые изменения в составе и методике испытаний, а также для любого использования в сочетании с другими продуктами, не одобренными производителем, не должны происходить; Пользователь сам несет ответственность за такие изменения. Производитель не несет ответственности за ложные результаты и инциденты по этим причинам. Производитель не несет ответственности за какие-либо результаты путем визуального анализа образцов пациентов.
- Только для диагностики in vitro.
- Все материалы человеческого или животного происхождения должны рассматриваться как потенциально инфекционные.
- Все компоненты человеческого происхождения, используемые для производства этих реагентов, были протестированы на анти-HIV-антитела, анти-НСУ-антитела и HBsAg, и было обнаружено, что они не реактивны.
- Никакие реагенты или стрипы планшета из разных партий.
- Никакие реагенты других производителей не должны использоваться вместе с реагентами этого набора.
- Не используйте реагенты после истечения срока годности, указанного на этикетке.
- Используйте только чистые наконечники, дозаторы и лабораторную посуду.
- Не меняйте навинчивающиеся крышки флаконов с реагентами, чтобы избежать перекрестного загрязнения.
- Плотно закрывайте флаконы с реагентами сразу после использования, чтобы избежать испарения и микробного загрязнения.
- После первого открытия и последующего хранения проверьте флаконы с коньголом, стандартами и контролями на наличие микробного загрязнения перед использованием.
- Во избежание перекрестного загрязнения и ложно завышенных результатов вносите образцы пациентов и реагенты без разбавления точно на дно лунок.
- ИФА предназначен только для квалифицированного персонала, который знаком с хорошей лабораторной практикой.

12.1 Применение по технике безопасности для реагентов, содержащих опасные вещества

Реагенты могут содержать CMIT/MIT (3:1) или MIT (см. 4.1). Следовательно, применяются следующие указания по опасности и меры предосторожности.

Внимание	H317	Может вызывать аллергические реакции на коже
	P261	Избегать вдыхания паров, аэрозолей, капель
	P280	Носить защитные перчатки / защитную одежду
	P302+P352	ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ: промыть большим количеством воды с мылом.
	P333+P313	При появлении раздражения на коже или сыпи: обратиться к врачу.
	P362+P364	Удалить загрязненный и вымыть перед повторным использованием.

Дополнительная информация указана в паспорте безопасности.

12.2 Утилизация отходов

Остатки химических веществ и препаратов обычно считаются опасными отходами. Удаление этого вида отходов регулируется национальными и региональными законами и правилами. Обратитесь в местные органы власти или компании по управлению отходами, которые дадут советы по утилизации опасных отходов.

Demeditec Diagnostics GmbH (Демедитек Диагностика ГмбХ) • Лизе-Майтнер-Штрассе 2 • 24145 Киль (Германия)
Тел.: +49 (0)431/71922-0 • Факс +49 (0)431/71922-55
info@demeditec.de • www.demeditec.com

Версия 16042020
ДЛБ
Обновлено 200423

10.5 Кросс-реактивность
131 образец с активностью антител к потенциально перекрестно реагирующим параметрам (включая антитела к нескольким респираторным патогенам) был протестирован для оценки перекрестной реактивности анализа.

Положительные образцы с антителами к	Кол-во образцов	Положительный	Сомнительный	Отрицательный
Adenovirus	10	0	0	10
Parainfluenzavirus	9	0	0	9
Candida albicans	8	0	0	8
Bordetella pertussis	9	0	0	9
Influenzavirus A	9	0	0	9
Influenzavirus B	10	0	0	10
Enterovirus	10	0	0	10
Respiratory syncytial virus	10	1	0	9
Chlamydia pneumoniae	9	0	0	9
Legionella pneumophila	8	0	0	8
Mycoplasma pneumoniae	9	0	0	9
Haemophilus influenzae	3	0	0	3
Coronavirus, отличающийся от SARS-CoV-2	1	0	0	1
Rheumatoid Factor positive	26	0	0	26

Нельзя исключать перекрестные реакции с антителами к респираторно-синцитиальному вирусу. Для интерпретации результатов следует учитывать перекрестную реактивность с другими коронавирусами человека.

11. ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Бактериальное заражение или повторяющиеся циклы замораживания-оттаивания образцов могут влиять на значения поглощения.

1. ВВЕДЕНИЕ

В конце 2019 года в городе Ухань, провинция Хубэй, Китайская Народная Республика, появилось новое респираторное заболевание, которое вскоре быстро распространилось по стране и по всему миру. Возбудитель был идентифицирован как тяжелый острый респираторный синдром коронавируса 2 (SARS-CoV-2) (2019-nCoV), подобно близкородственному коронавирусу SARS (SARS-CoV), принадлежит к роду Betacoronavirus в семействе коронавирусов. Зoonотическим резервуаром вируса являются летучие мыши. Коронавирусы представляют собой положительные одноцепочечные РНК-вирусы, которые заражают людей, а также широкий спектр животных. Они ответственны за заболевание человека NL63, 229E, OC43 и HKU1 широко распространены, особенно в зимние месяцы. Они ответственны за одну треть всех острых респираторных заболеваний, обычно с легкими симптомами (простуда). Более 80% взрослых население имеют антитела против коронавируса человека. Иммунизит от предыдущих инфекций длится только в течение короткого периода времени. Следовательно, повторное заражение одним и тем же возбудителем возможно только через год. SARS-CoV-2 преимущественно передается при капельной инфекции через кашель или чихание и при тесном контакте с инфицированными пациентами. Теоретически также возможна инфекция слюной и фекально-оральной. Инфекция через конъюнктиву глаз.

Инкубационный период длится в среднем 5-6 дней (и максимум до 14 дней).

Клинические проявления заболевания COVID-19, связанного с SARS-CoV-2, включают лихорадку, кашель, проблемы с дыханием и усталость. У большинства пациентов инфекция проявляется симптомами легкой лихорадочной болезни с легкими инфильтратами в легких. Первоначальным клиническим признаком COVID-19, который позволяет выявлять нерегулярные течения, была пневмония. Но оказалось, что течение заболевания неспецифично и широко варьируется от бессимптомных течений до тяжелой пневмонии с леточной недостаточностью и летальным исходом. Тем не менее, основываясь на современных знаниях, около 80% заболеваний являются легкими или умеренными.

Несмотря на то, что тяжелые течения заболевания также встречаются у более молодых пациентов и людей без предшествующего заболевания, следующие группы людей имеют повышенный риск серьезных форм заболевания: пожилые люди (с неуклонно увеличивающимся риском от 50-60 лет), курящие и люди с определенными заболеваниями (сердечно-сосудистой системы или легких, пациенты с хроническими заболеваниями печени, сахарным диабетом, раком или пациенты с ослабленной иммунной системой) (например, из-за иммунодефицита или принимающие лекарства, которые подавляют иммунную систему).

В настоящее время не существует специального лечения или вакцины против инфекции SARS-CoV-2.

Вид	Заболевание	Симптомы	Механизм инфицирования
SARS-CoV-2 (тяжелый острый респираторный синдром коронавируса 2)	COVID-19	течение болезни неспецифично, разнообразно и сильно варьирует от бессимптомного течения до тяжелой пневмонии с легочной недостаточностью и летальным исходом	основной способ передачи: капельная инфекция; инфекции слюны и фекалий через конъюнктиву глаз теоретически возможны

Наличие патогена или инфекции может быть выявлено путем:
• Тестирование нуклеиновой кислоты (NAT): например, ОТ-ПЦР
• Серология: обнаружение антител, например, ELISA

2. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ

COVID-19 (SARS-CoV-2) IgG предназначен для качественного определения антител класса IgG к SARS-CoV-2 в сыворотке или плазме (цитрат, гепарин) крови человека с целью диагностики Коронавирусного заболевания и дополнения к прямому обнаружению патогенных микроорганизмов. Кроме того, серологию можно использовать для сбора эпидемиологической информации о распространенности SARS-CoV-2.

3. ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Качественное определение специфических антител осуществляется на технике ИФА (метод иммуноферментного анализа). На дно лунки микротитровального планшета нанесены специфические антигены, которые связываются с соответствующими антителами в образцах. После промывки связавшись с антителами, которые вносят меченный с пероксидазой хрена конъюгат. Данный конъюгат связывается со связанными антителами. Во время второй промывки несвязавшийся конъюгат вымывается. Сформированный конъюгат иммунный комплекс обнаруживается визуально с помощью ТМБ субстрата, который дает синее окрашивание. Интенсивность окрашивания пропорциональна количеству специфических антител в образце. Серная кислота, содержащаяся в стоп-растворе, вносит в лунки с целью остановки реакции, что вызывает желтое окрашивание. Абсорбция считывается при длине волны 450/620 нм с помощью микропланшетного считывателя.

10. ХАРАКТЕРИСТИКИ АНАЛИЗА

Результаты относятся к группам исследованных образцов; это не гарантированные спецификации. Для получения дополнительной информации о конкретных рабочих характеристиках, пожалуйста, свяжитесь с Demeditec Diagnostics GmbH (Демедитек Диагностика ГмбХ).

10.1 Точность

Внутригрупповой анализ			
Образцы	Кол-во	Среднее (E)	КВ (%)
#1	24	0.815	4.06
#2	24	0.782	4.28
#3	24	0.362	8.71
Межгрупповой анализ			
Образцы	Кол-во	Среднее (U)	КВ (%)
#1	12	16.43	7.37
#2	12	12.76	4.11
#3	12	7.05	8.65

10.2 Диагностическая специфичность

Диагностическая специфичность определяется как вероятность оценки отрицательного результата в отсутствие конкретного анализа. Инфекция SARS-CoV-2 появилась в декабре 2019 года в Ухане, Китай. Таким образом, ожидаемые значения распространенности для групп доноров крови в Германии и США до декабря 2019 года составляют 0%. Полученные положительные результаты соответствуют специфичности 99,24% (доверительный интервал 95%: 95,82% - 99,98%).

Образцы	Количество образцов (n)	Положительные	Сомнительные	Отрицательные	Специфичность	95% CI
Доноры крови Германия	83	0	1	82	100 %	
Доноры крови США	50	1	0	49	98,00 %	
Всего	133	1	1	131	99,24 %	95,82% - 99,98 %

10.3 Диагностическая чувствительность

Диагностическая чувствительность определяется как вероятность оценки положительного результата в присутствии конкретного анализа. Было протестировано 42 образца от 25 пациентов с положительной реакцией на РНК SARS-CoV-2 методом ОТ-ПЦР.

Дни после появления симптомов	Количество образцов (n)	Положительные	Сомнительные	Отрицательные	Специфичность (Сомнительные, вкл.)
0-5	13	1	0	12	7,69 %
6-8	10	4	0	6	40,00 %
9-11	10	4	0	6	40,00 %
≥12	9	9	0	0	100 %

10.4 Интерференция

Три клинических образца, демонстрирующих различную реактивность, были протестированы на наличие интерференции к каждому веществу, указанному в таблице ниже: положительный, отрицательный и серая зона. Все образцы демонстрировали изменение сигнала менее чем на 15% при тестировании с каждым потенциальным источником интерференции.

Интерферирующие вещества	Измеренная концентрация
Альбумин	60 мг/мл
Билирубин конъюгированный	0,4 мг/мл
Билирубин неконъюгированный	0,4 мг/мл
Холестерол	4 мг/мл
Гемоглобин	10 мг/мл
Триглицериды	15 мг/мл

4. МАТЕРИАЛЫ

4.1 Реагенты, содержащиеся в наборе

- 1. SOBB [MT] Микроигровый планшет**: 12 разборных лунк с нанесенными SARS-CoV-2 антигенами в многоразовом алюминиевом пакете.
- 2. SAM [DIL] IgG разбавитель образцов**: 1 флакон, содержащий 100 мл фосфатного буфера (10 mM) для разведения образцов; pH 7,2 ± 0,2; желтого цвета; готов к использованию; белая крышка; ≤ 0,0015 % (v/v) SMIT/MIT (3:1).
- 3. STOP [SOLN] Стоп-раствор**: 1 флакон, содержащий 15 мл серной кислоты, 0,2 моль/л; готов к использованию; красная крышка.
- 4. WASH [SOLN] Промывочный раствор (20x концентрат)**: 1 флакон, содержащий 50 мл 20-кратного концентрата буфера (0,2 M), pH 7,2 ± 0,2, для промывания лунок; белая крышка.
- 5. ENZ [CONJ] Ферментный конъюгат**: 1 флакон, содержащий 20 мл меченных пероксидазой антител к человеческим IgG в фосфатном буфере (10 mM); синего цвета; готов к использованию; черная крышка.
- 6. SUB [TMB] TMB субстратный раствор**: 1 флакон, содержащий 15 мл 3,3',5,5'-тетраметилбензидина (TMB), < 0,1% готов к использованию; желтая крышка.
- 7. CAL [C] Положительный контроль**: 1 флакон, содержащий 2 мл контроля; желтого цвета; готов к использованию; зеленая крышка.
- 8. CAL [B] Cut-off (пограничный) контроль**: 1 флакон, содержащий 3 мл контроля; желтого цвета; готов к использованию; зеленая крышка; ≤ 0,02 % (v/v) MIT.
- 9. CAL [A] Отрицательный контроль**: 1 флакон, содержащий 2 мл; желтого цвета; готов к использованию; синяя крышка; ≤ 0,0015 % (v/v) SMIT/MIT (3:1).

Об опасностях и мерах предосторожности см. 12.1.

Информация о потенциально опасных веществах указана в паспорте безопасности.

4.2 Материалы, содержащиеся в наборе

- 1 Клейкая пленка
- 1 Инструкция пользования
- 1 пакет для планшета

4.3 Материалы, необходимые для постановки анализа

- Микроплашетный ридер, считывающий абсорбцию при длине волны 450/620 nm
- Инкубатор 37 °C
- Ручное или автоматическое устройство для промывки лунок
- Пипетки для внесения объемов от 10 до 1000 µl
- Вortex (миксер)
- Деионизированная или дистиллированная вода
- Одноразовые пробирки

5. СТАБИЛЬНОСТЬ И ХРАНЕНИЕ

Хранить реагенты стабильными до конца срока годности, указанного на этикетках при хранении 2...8°C.

6. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Очень важно выдержать все реагенты и образцы при комнатной температуре (20...25°C) и перемешать перед началом постановки анализа!

6.1 Микроигровый планшет

Разборный планшет с нанесенными SARS-CoV-2 антигенами.

Сразу после взятия необходимого количества стрипов, оставшиеся стрипы поместить в пакет из алюминиевой фольги вместе с влагопоглотителем и хранить при 2...8°C.

6.2 Промывочный буфер (20x конц.)

Развести промывочный буфер в соотношении 1+19; напр.: 10 мл промывочного раствора + 190 мл свежей дистиллированной воды. Разведенный раствор стабилен 5 дней при комнатной температуре (20...25°C). Кристаллы в растворе растворяются при 37°C на водяной бане. Тщательно перемешать перед разведением.

6.3 ТМБ субстрат раствор

Реагент готов к использованию и стабилен при 2...8°C в защищенном от света месте. Раствор должен быть бесцветным или иметь слегка голубоватый оттенок. Если субстрат стал синего цвета, значит произошла контаминация, и субстрат непригоден.

7. ЗАБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

В данном анализе использовать образцы человеческой сыворотки или плазмы (цитрат, гепарин). Если анализ будет проведен в течение 5 дней после забора образцов, хранить образцы при 2...8°C; для более продолжительного хранения образцы заморозить в эликватах при (-70°C...-20°C). Если образцы хранятся в замороженном виде, тщательно перемешайте размороженные образцы перед тестированием. Избегайте повторного замораживания и оттаивания. Тепловая инaktivация образцов не рекомендуется.

7.1 Разведение образцов

Перед постановкой анализа все образцы нужно развести с помощью IgG разбавителя для образцов в соотношении 1+100. Внести 10 мкл образца и 1 мкл IgG разбавителя для образцов в пробирки, чтобы добиться разведения в соотношении 1+100 и тщательно перемешать с помощью вортекса.

8 ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

Перед проведением анализа изучите сертификат качества и инструкцию. Данное описание проведения теста подходит для ручной процедуры постановки реакции. Если используется автоматическая ИФА система, рекомендуется увеличить количество промывок с 3 раз до 5 раз и увеличить объем промывочного раствора с 300 µl до 350 µl. Обратите внимание на главу 12. Составить план постановки анализа. Выбрать необходимое количество стрипов. Для постановки анализа и поместите в указанном порядке и без каких-либо задержек.

Выполните все этапы анализа в указанном порядке и без каких-либо задержек. Для дозирования каждого стандарта/контроля и образца следует использовать чистый одноразовый пипетчик. Установите инкубатор на 37 ± 1 °C.

- 1) Внести 100 µl стандартов, контролей и разведенных образцов пациентов в предусмотренные для них лунки.
- 2) Оставить лунку A1 для бланка субстрата.
- 3) Накроить лунки клейкой пленкой.
- 4) **Инкубировать 1 час ± 5 мин при 37°C ± 1°C.** После инкубации удалить пленку, выкачать содержимое лунок и промыть каждую лунку 3 раза с помощью 300 µl промывочного раствора. Избегать переливов жидкости из лунок. Промежуток времени между промывками должен быть > 5 сек. После процесса промывки удалить остатки влаги, высушив перевернутую лунку о поверхность с бумажным полотенцем!
Примечание: Процесс промывки очень важен! Недостаточная точность в процессе промывки может привести к ложноотрицательным результатам!
- 5) Внести 100 µl конъюгата во все лунки кроме лунки A1 для бланка субстрата.
- 6) **Инкубировать 30 минут при комнатной температуре (20...25°C).** Избегать попадания прямых солнечных лучей.
- 7) Повторить шаг 4.
- 8) Внести 100 µl ТМБ субстрата во все лунки.
- 9) **Инкубировать ровно 15 минут при комнатной температуре (20...25°C) в темноте.**
- 10) Синий цвет развивается из-за ферментативной реакции.
- 11) Внести 100 µl Стоп-раствора во все лунки в точно таком же порядке и с тем же временным промежутком как вошел ТМБ субстрат. Образовавшееся во время инкубации синее окрашивание превращается в желтое.
- 12) Определить абсорбцию образцов при длине волны 450/620 нм в течение 30 минут после внесения стоп-раствора.

8.1 ИЗМЕРЕНИЕ

Настроить микропланшетный считыватель на ноль, используя **бланк субстрата** в лунке A1. Если по техническим причинам считыватель не может настроиться на ноль, используя бланк субстрата в лунке A1, нужно вычесть значение абсорбции лунки A1 из всех других значений абсорбции, измеренных в порядке, необходимом для получения результатов! **Измерить абсорбцию** всех лунок при длине волны 450 нм и записать значение абсорбции каждого контроля и образца в план.

Рекомендуется биохроматическое считывание при референсной длине волны 620 нм. Если требуется, рассчитать **среднее значение абсорбции** для всех дубликатов.

9. РЕЗУЛЬТАТЫ

9.1 Валидация анализа

Анализ проведен правильно при соблюдении следующих критериев:
Бланк субстрат: значение абсорбции < 0.100

Отрицательный контроль: значение абсорбции < 0.200 и < Cut-off

Cut-off контроль: значение абсорбции 0.150-1.300

Положительный контроль: значение абсорбции > Cut-off

Если результаты не соответствуют данным критериям, анализ не корректен и должен быть проведен повторно.

9.2 Калькуляция результатов

Cut-off - это среднее значение абсорбции cut-off-контроля.

Пример: значение абсорбции Cut-off контроля 0.44 + значение абсорбции Cut-off = 0.42 = 0.86/2 = 0.43

Cut-off = 0.43

9.2.1 Результаты в Единицах (Ед)

Среднее значение абсорбции образца x 10 = (Units = U) (Единицы = Ед)

Cut-off

Пример: $1.591 \times 10 = 37$ Ед (Единицы)

9.3 Интерпретация результатов

Cut-off	10 Ед	
Положительный	> 11 Ед	Антитела к возбудителю присутствуют. Был контакт с антигеном (патоген или вакцина).
Сомнительный	9-11 Ед	Антитела против возбудителя не могли быть обнаружены четко. Рекомендуется повторить тест со свежим образцом через 2-4 недели. Если результат при повторной постановке анализа сомнительный, образец считается отрицательным .
Отрицательный	< 9 Ед	Образец не содержит антител к возбудителю. Контакт с антигеном (патогеном или вакциной) маловероятен.
Диагностика инфекционного заболевания		Диагностика инфекционного заболевания не должна устанавливаться на основании результатов одного теста. Точный диагноз должен учитывать историю болезни, симптоматику, а также серологические данные. У пациентов с ослабленным иммунитетом и новорожденных серологические данные имеют ограниченное значение.

9.3.1 Изотипы антител и состояние инфекции

Серология	Значение
IgM	Характеристика ответа первичного антитела Высокий титр IgM: → указывает на текущую или совсем недавнюю инфекцию Следует после IgM
IgG	Характеристика ответа вторичного антитела Может сохраняться в течение нескольких лет Высокий титр IgG с низким титром IgM: → указывает на перенесенную инфекцию
IgA	Вырабатывается в слизистых оболочках по всему телу (→ защитный барьер) Обычно производится на ранних стадиях инфекции