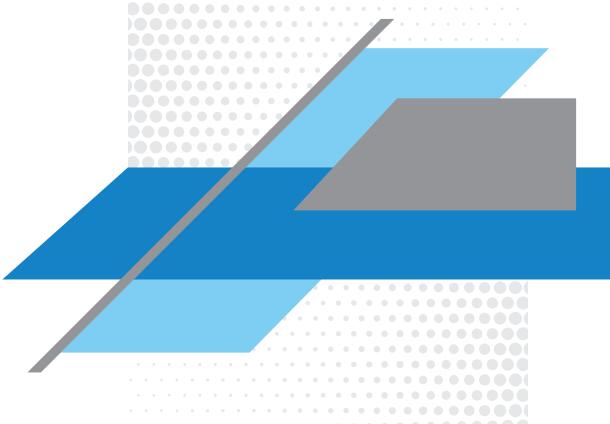




# SARS-CoV-2 IgM swift

IФА-набір для якісного виявлення антитіл  
класу IgM до нуклеокапсидного та "шипового" антигенів  
вірусу SARS-CoV-2

Інструкція із застосування





# EQUI SARS-CoV-2 IgM swift

ІФА-набір для якісного виявлення антитіл класу IgM до нуклеокапсидного та "шипового" антигенів вірусу SARS-CoV-2

## 1. ПРИЗНАЧЕННЯ

ІФА-набір «EQUI SARS-CoV-2 IgM swift» призначений для якісного виявлення антитіл класу IgM до нуклеокапсидного та "шипового" антигенів вірусу SARS-CoV-2 у сироватці чи пазмі крові людини методом імуноферментного аналізу (ІФА) з метою діагностики COVID-19. Процедура аналізу розрахована як для ручної постановки з автоматичними піпетками та стандартним обладнанням, так і для автоматичного імуноферментного аналізатора «відкритого» типу.

**Цільова група:** пацієнти з симптомами ГРВІ, особи, які перебували в контакті з хворими на COVID-19, медичні працівники та інші особи, що перебувають у епідеміологічній зоні.

**Застосування:** ІФА-набір застосовується у клінічних діагностичних лабораторіях та інших установах, які працюють в області *in vitro* діагностики.

## 2. КЛІНІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ

SARS-CoV-2, який є причиною захворювання COVID-19, належить до родини коронавірусів (*Coronaviridae*) – сферичних РНК-вмісних вірусів діаметром 80-160 нм. Геном коронавірусів – однониткова лінійна молекула нефрагментованої РНК, що кодує 4 основних структурних білки вірусу: S-білок – глікопротеїн, який формує шипи на поверхні вірусних часток; M-білок – мембраний; N-білок – нуклеокапсидний; E-білок – оболонковий. Білки N та S є основними імуногенними білками CoV.

SARS-CoV-2 за способом передачі та симптомами подібний до SARS-CoV та ряду інших респіраторних захворювань. Так, симптоми є типовими для вірусної пневмонії та включають підвищення температури, сухий кашель, біль у горлі та головний біль. Більшість випадків зараження супроводжується легким протіканням або проявами середньої тяжкості, однак є випадки з тяжким протіканням із задишкою та утрудненим диханням. Також у інфікованих SARS-CoV-2 може розвиватись гострий дихальний дистрес-синдром. Найбільша вірогідність тяжкого протікання хвороби серед людей похилого віку, особливо серед тих, у кого є супутні захворювання, включаючи серцево-судинні захворювання та діабет.

Встановлення точного діагнозу COVID-19 має важливе значення не тільки для забезпечення належного лікування пацієнтів, але і для полегшення виявлення інфікованих SARS-CoV-2 людей, у тому числі безсимптомних носіїв, яких потрібно ізолявати для обмеження поширення вірусу. Оскільки на чутливість ПЛР-аналізу для виявлення SARS-CoV-2 може впливати гетерогенність зразків матеріалу з респіраторного тракту та анатомічне місце збору проби (мазок з горла, слина або ендотрахеальний аспірат), існує нагальна потреба у розробці альтернативних засобів діагностики.

Виявлення антитіл до SARS-CoV-2 методом ІФА має високе діагностичне значення. Антитіла класів IgM та IgA починають виявлятися в середньому на 5 день від появи симптомів, їх рівень зростає до 14 днів. Антитіла класу IgG починають виявлятися на 0-7 дні, їх концентрація зростає з 8 по 21 день, після чого виходить на плато. В останніх дослідженнях тестування на наявність антитіл було визнано більш чутливим, ніж виявлення вірусної нуклеїнової кислоти, починаючи приблизно з 8-го дня від появи симптомів. Є дані, що концентрація антитіл класу IgM до SARS-CoV-2 має кореляцію з виявленням РНК вірусу. Поєднання виявлення антитіл класів IgM та IgG до SARS-CoV-2 з ПЛР тестом може бути найкращим лабораторним показником для діагностики на даний час.

Виявлення антитіл методом ІФА буде також актуальним для пізніх стадій зараження після елімінації вірусу, оскільки дає змогу визначити наявність протективного імунітету в осіб, що перехворіли чи були вакциновані, а також моніторити ступінь поширення вірусу та наявність імунітету населення на суспільному рівні. Тому тестування на наявність антитіл може бути доречним у таких умовах: 1) діагностика пацієнтів, які звертаються

за медичною допомогою через 7 і більше днів від появи симптомів; 2) контактне відстеження; 3) виявлення безсимптомних носіїв; 4) визначення імунного статусу та ризику зараження; 5) сероепідеміологічні дослідження для визначення ступеня поширення COVID-19.

### 3. ПРИНЦИП АНАЛІЗУ

Визначення антитіл класу IgM до SARS-CoV-2 в ІФА-наборі «EQUI SARS-CoV-2 IgM swift» базується на принципі «непрямого» твердофазного ІФА у двоетапній інкубації. У лунках планшета засорбовано рекомбінантні антигени SARS-CoV-2 – субодиниця S1 “шипового” антигена та нуклеокапсидний (NP) антиген. Під час першого етапу інкубації досліджуваних зразків у лунках планшета ІФА специфічні до SARS-CoV-2 антитіла, якщо вони присутні у зразках, зв’язуються з антигенами на твердій фазі. Лунки відмиваються для видалення незв’язаних антитіл, залишаються лише специфічні комплекси антиген-антитіло. Після цього додається кон’югат антивидових анти-IgM моноклональних антитіл з пероксидазою хрону, який зв’язується з імунними комплексами на твердій фазі. Незв’язані компоненти видаляються під час відмивання. Комpleкси антиген-антитіло виявляються шляхом додавання розчину хромогену 3,3',5,5'-тетраметилбензидину (ТМБ) з перекисом водню. Після 15-ти хвилинної інкубації реакція зупиняється додаванням стоп-розчину. Оптична густина (ОГ) в лунках визначається на спектрофотометрі при довжині хвилі 450/620-695 нм. Інтенсивність жовтого забарвлення пропорційна кількості антитіл у зразку.

## 4. МАТЕРІАЛИ ТА ОБЛАДНАННЯ

### 4.1. Склад набору

		<b>Планшет ІФА</b>
<b>STRIPS</b>	1 x 96 лунок	У кожній лунці планшета засорбовано рекомбінантні антигени SARS-CoV-2 – субодиниця S1 “шипового” антигена та нуклеокапсидний (NP) антиген. Лунки можна відокремлювати. Після першого відкриття зберігайте невикористані стрипи в упаковці за температури 2-8°C не більше 3 місяців
<b>CONTROL +</b>	1 x 0,2 ml	<b>Позитивний контроль</b> Розчин імуноглобулінів, специфічних до SARS-CoV-2, з консервантом (рожевий). Зберігати за температури 2-8°C
<b>CONTROL -</b>	1 x 0,6 ml	<b>Негативний контроль</b> Негативна сироватка крові людини з консервантом (жовтий). Зберігати за температури 2-8°C
<b>DIL SAMPLE</b>	1 x 12 ml	<b>Розчин для розведення сироваток</b> Буферний розчин з екстрактом молока, дегтергентом та консервантом (коричневий). Зберігати за температури 2-8°C
<b>SOLN CONJ</b>	1 x 13 ml	<b>Розчин кон’югату (готовий до використання)</b> Буферний розчин моноклональних антитіл до IgM людини, кон’югованих з пероксидазою хрону, зі стабілізаторами та консервантом (бузковий). Зберігати за температури 2-8°C
<b>SOLN TMB</b>	1 x 13 ml	<b>Розчин ТМБ (готовий до використання)</b> Розчин ТМБ, $H_2O_2$ , стабілізатор, консервант (безбарвний). Зберігати за температури 2-8°C

[TWEEN|WASH|20x] 1 x 50 ml

#### **Розчин для промивання TWEEN (20x концентрат)**

20-ти кратний концентрат фосфатного буфера з Твіном-20 (безбарвний). Розвести розчин для промивання TWEEN (20x) 1:20 дистильована або деіонізована водою (наприклад, 5 ml концентрату + 95 ml води для 8 лунок) перед використанням. Розведений розчин зберігати за температури 2-8°C не більше 7 діб

[SOLN|STOP] 1 x 13 ml

#### **Стоп-розчин (готовий до використання)**

Розчин 0,5 mol H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (безбарвний). Зберігати за температури 2-8°C

До складу набору також входять: клейка плівка (2 шт.), схема внесення зразків (1шт.), лист контрольних випробувань та інструкція із застосування.

### **4.2. Додаткові реактиви, матеріали та обладнання**

Автоматичні піпетки змінного об'єму на 10–1000 µl та наконечники до них, мірний лабораторний посуд (10–1000 ml), деіонізована або дистильована вода, термостат на 37°C, автоматичний або напівавтоматичний промивач планшетів (вошер), спектрофотометр (рідер) для мікропланшетів на 450/620–695 nm, відповідні контейнери для відходів потенційно зараженого матеріалу, таймер, фільтрувальний папір, одноразові неопудрені рукавички, дезінфікуючі засоби.

## **5. ЗАСТЕРЕЖЕННЯ ТА ТЕХНІКА БЕЗПЕКИ**

### **5.1. Застереження**

Перед проведенням аналізу уважно ознайомтеся з інструкцією із застосування. До стовірність результату залежить від чіткого слідування процедурі аналізу.

- не використовуйте компоненти ІФА-набору після закінчення строку придатності;
- не використовуйте під час аналізу та не змішуйте компоненти різних серій, компоненти з наборів різних нозологій або реагенти інших виробників у поєднанні з набором «EQUI SARS-CoV-2 IgM swift»;
- не заморожуйте ІФА-набір чи його компоненти;
- після використання реагенту закривайте кожен флакон своєю кришкою;
- під час промивання контролуйте наповнення та повну аспірацію розчину з лунок;
- кожного разу використовуйте новий наконечник піпетки для внесення зразків або реагентів;
- уникайте потрапляння прямих сонячних променів на реагенти ІФА-набору;
- [SOLN|TMB] має бути безбарвним перед використанням. Якщо розчин забарвлений у синій або жовтий колір, його не можна використовувати. Уникайте контакту [SOLN|TMB] з металами або іонами металів. Для роботи використовуйте лише чистий, ретельно виполосканий дистильована водою посуд;
- не використовуйте реагенти, колір яких не відповідає вказаному в пункті 4.1.;
- у жодному разі не використовуйте один і той же посуд для [SOLN|CONJ] та [SOLN|TMB];
- не проводьте візуальний облік результатів аналізу (без використання рідера);
- додаткове обладнання, яке перебуває в безпосередньому контакті з біологічним матеріалом або компонентами набору, вважається забрудненим і потребує очищення та знезараження;
- ІФА-набір призначений для 96 аналізів. Компоненти після використання та залишки невикористаних компонентів мають бути утилізовані.

### **5.2. Техніка безпеки**

- всі реагенти набору призначенні лише для лабораторного професійного застосування *in vitro* діагностиці та можуть використовуватись тільки кваліфікованим персоналом;
- постановку аналізу проводити лише в одноразових неопудреніх рукавичках та захисних окулярах;

- не допускається приймати їжу, пити, палити або користуватися косметикою у кімнаті проведення тесту;
- не піpetувати розчини ротом;
- контролі IФА-набору «EQUI SARS-CoV-2 IgM swift» протестовані та визнані негативними на HBsAg та антитіла до ВІЛ1/2, ВГС, Treponema pallidum, однак поводиться із контролями та досліджуваними зразками слід як із потенційно небезпечним інфекційним матеріалом;
- деякі компоненти набору містять низькі концентрації шкідливих речовин та можуть спричинити подразнення шкіри та слизових оболонок. При потраплянні **[SOLNTMB]**, **[SOLNSTOP]** та **[SOLNICONJ]** на слизові оболонки чи шкіру необхідно негайно промити уражене місце великою кількістю води;
- у разі розбрізкування розчинів, що не містять кислоту, наприклад сироваток, обробити поверхню дезінфікуючим засобом, а потім витерти насухо фільтрувальним папером. В іншому випадку кислоту спочатку потрібно нейтралізувати розчином бікарбонату натрію, а потім витерти поверхню, як описано вище.

### **5.3. Інактивація та утилізація відходів**

- рідкі відходи слід інактивувати, наприклад, розчином перекису водню у кінцевій концентрації 6% упродовж 3 годин за кімнатної температури, або гіпохлоритом натрію у кінцевій концентрації 5% протягом 30 хвилин, або іншими дозволеними дезінфікуючими засобами;
- тверді відходи слід інактивувати шляхом автоклавування за температури стерилізації не менше 150°C;
- не автоклавуйте розчини, що містять азид натрію або гіпохлорит натрію;
- утилізацію інактивованих відходів проводити згідно з чинним національним законодавством.

## **6. ЗБЕРІГАННЯ ТА ТРАНСПОРТУВАННЯ**

IФА-набір стабільний протягом строку придатності, вказаного на етикетці, якщо його зберігати за температури 2-8°C. Транспортувати набір за температури 2-8°C. Допускається одноразове транспортування за температури не вище 23°C протягом двох діб.

## **7. РЕКОМЕНДАЦІЇ ЩОДО ЗБОРУ, ТРАНСПОРТУВАННЯ ТА ЗБЕРІГАННЯ ЗРАЗКІВ**

Кров необхідно збирати з вени в стерильну пробірку. Пробірка повинна бути промаркована із зазначенням ідентифікаційних даних пацієнта та дати забору зразка. Цільну кров до відокремлення сироватки можна зберігати до 24 годин за температури 2-8°C, не допускаючи заморожування.

Сироватку чи плазму крові можна зберігати за температури 2-8°C не більше 3 діб. Допускається більш тривале зберігання замороженої сироватки за температури -20°C або -70°C. Заморожені зразки перед використанням слід розморозити та витримати за кімнатної температури упродовж 30 хвилин. Після розморожування зразки слід перемішати задля досягнення однорідності. Уникати повторного заморожування-відтаювання досліджуваних зразків. У разі помутніння сироватки (чи плазми) звільнюються від нерозчинних включень центрифугуванням при 3000 об/хв протягом 10-15 хвилин. Не слід використовувати зразки сироваток із вираженою ліпідемією, гемолізом, а також бактеріальним проростом.

Зразки сироваток транспортувати в термоізоляційних контейнерах. Для цього закриті промарковані пробірки необхідно помістити в поліетиленовий пакет, щільно закрити та покласти в центрі термоконтейнера. Заморожені холодаагенти покласти на дно вздовж бокових стінок термоконтейнера та покрити ними зразки сироваток.

## **8. ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ**

Примітка: Перед використанням витримайте всі компоненти IФА-набору за кімнатної температури 18-25°C протягом 30 хвилин!

## **8.1. Підготовка планшета ІФА**

Для попередження конденсації води в лунках відкривайте **[STRIPS]** лише після витримування 30 хвилин за кімнатної температури. Розкрийте вакуумну упаковку, відокреміть необхідну кількість лунок, а решту відразу ж ретельно упакуйте з вологопоглиначем та зберігайте щільно закритими на замок zip-lock за температури 2-8°C. Зберігання у такий спосіб упакованого планшета забезпечує його стабільність протягом 3 місяців.

## **8.2. Приготування розчину для промивання**

Для приготування розчину для промивання розвідіть **[TWEEN|WASH|20x]** 1:20 (1+19) дистильованою або деіонізованою водою, потім перемішайте. Наприклад, 5 ml концентрату + 95 ml води, що достатньо для 8 лунок. При наявності кристалів у концентраті розчину для промивання прогрійте флакон за температури 37°C до повного розчинення кристалів (15-20 хвилин). Розведений розчин можна зберігати за температури 2-8°C не більше 7 діб.

## **9. ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ**

- 9.1. Підготуйте необхідну кількість лунок для аналізу (четири лунки для контролів та необхідну кількість для досліджуваних зразків), вставте їх у рамку планшета ІФА. Лунки з контролями обов'язково включайте доожної постановки аналізу.
- 9.2. Заповніть схему внесення зразків.
- 9.3. Приготуйте розчин для промивання згідно з пунктом 8.2.
- 9.4. Внесіть у всі лунки планшета по 90 µl **[DIL|SAMPLE]**.
- 9.5. Внесіть у лунки по 10 µl контролів та досліджуваних зразків:  
**CONTROL +** – у лунку A1,  
**CONTROL -** – у лунки B1, C1, D1,  
у решту лунок – досліджувані зразки.  
Під час внесення відбувається зміна кольору розчину з коричневого на синій. Обережно піпетуйте суміш у лунках, не допускаючи піноутворення.
- 9.6. Заклейте стріпи клейкою плівкою та інкубуйте протягом 30 хвилин за температури 37°C.
- 9.7. По закінченні інкубації обережно зніміть клейку плівку та промийте лунки п'ять разів з використанням автоматичного промивача або 8-канальної піпетки наступним чином:
  - видаліть вміст лунок у контейнер для рідких відходів;
  - наповніть лунки стріпів не менш ніж по 300 µl розчином для промивання, залиште не менш як на 30 секунд;
  - аспіруйте розчин з лунок. Залишковий об'єм розчину після кожного етапу аспірації має складати не більше 5 µl;
  - повторіть процедуру промивання ще чотири рази;
  - після останньої аспірації позбавтеся зайвої вологи, постукуючи планшетом по фільтрувальному паперу.
- 9.8. Внесіть у лунки по 100 µl **[SOLN|CONJ]**. Стрипи накройте новою клейкою плівкою та інкубуйте протягом **15 хвилин за кімнатної температури 18-25°C**.
- 9.9. По закінченні інкубації обережно зніміть клейку плівку та промийте лунки п'ять разів, як описано в пункті 9.7.
- 9.10. Внесіть у лунки по 100 µl **[SOLN|TMB]**, не торкаючись дна та стінок лунок планшета.
- 9.11. Інкубуйте стріпи протягом **15 хвилин** в темному місці за кімнатної температури 18-25°C. Не використовуйте клейку плівку на даному етапі.
- 9.12. Внесіть у лунки стріпів по 100 µl **[SOLN|STOP]** для зупинення ферментативної реакції, дотримуючись тієї ж послідовності, що і при внесенні **[SOLN|TMB]**. Під час внесення відбувається зміна кольору розчину з блакитного на жовтий, у лунках з прозорим розчином дещо змінюється відтінок.

9.13. Вимірюйте на рідері ОГ в кожній лунці при довжині хвилі 450/620-695 нм протягом 5 хвілин після зупинення реакції. До проведення вимірювання переконайтесь у чистоті зовнішньої поверхні дна лунок та відсутності бульбашок.

Облік результатів аналізу можна проводити в однохвильовому режимі при довжині хвилі 450 nm, в цьому випадку залиште лунку для встановлення бланку (в таку лунку внесіть лише SOLN|TMB та SOLN|STOP).

## 10. ОБЛІК РЕЗУЛЬТАТИВ ТА ЇХ ІНТЕРПРЕТАЦІЯ

### 10.1. Облік результатів аналізу

Розрахуйте середнє значення ОГ негативного контролю ( $Nc$ ), рівень граничного значення (Cut off - CO) та індекс позитивності зразка ( $IP_{sample}$ ).

$$Nc = (Nc_1 + Nc_2 + Nc_3)/3; \quad CO = Nc + 0,25$$

$$IP_{sample} = OD_{sample}/CO, \quad \text{де } OD_{sample} - \text{це ОГ зразка}$$

### 10.2. Контроль достовірності результатів аналізу

Дані тесту вважаються достовірними, якщо вони відповідають наступним вимогам:

$$\boxed{\text{CONTROL} +} \quad OG \geq 0,900$$

$$\boxed{\text{CONTROL} -} \quad OG \leq 0,150$$

$$\boxed{\text{CONTROL} -} \quad \bar{Nc} \times 0,5 \leq Nc_n \leq \bar{Nc} \times 2,0, \quad \text{де } Nc_n - \text{ОГ кожного повтору } Nc$$

Якщо одне зі значень ОГ негативного контролю виходить за межі вказаного вище інтервалу, його відкидають і розраховують  $Nc$  за рештою значень ОГ негативного контролю. Якщо більш ніж одне значення ОГ негативного контролю не відповідає за-значеним вимогам, то тест вважається некоректним і потребує повторного виконання.

### 10.3. Інтерпретація результатів

$IP_{sample} > 1,1$	ПОЗИТИВНИЙ
$0,9 \leq IP_{sample} \leq 1,1$	НЕВИЗНАЧЕНИЙ*
$IP_{sample} < 0,9$	НЕГАТИВНИЙ

\* Невизначені зразки рекомендується дослідити повторно в двох лунках ІФА-набору. Якщо результати знову будуть у межах невизначених, слід провести відбір і аналіз нового зразка через 5-7 днів. У разі повторного одержання невизначених результатів, такі зразки вважати негативними.

## 11. ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТУ

### 11.1. Аналітичні характеристики

#### Прецизійність

Повторюваність результатів у межах однієї постановки аналізу (*Intra assay repeatability*)

Коефіцієнт варіації (CV) для двох зразків з різним рівнем специфічних антитіл та різним індексом позитивності оцінювали в 32 повторах на одній серії ІФА-наборів.

№ зразка	OG <sub>sep</sub>	IP <sub>sample</sub>	CV, %
236	1,006	3,7	4,6
237	0,354	1,3	4,9

Відтворюваність результатів між різними постановками аналізу (*Inter assay reproducibility*)

Коефіцієнт варіації (CV) для двох зразків з різним рівнем специфічних антитіл та різним індексом позитивності оцінювали протягом чотирьох днів у чотирьох постановках аналізу по 8 повторів у кожному аналізі.

№ зразка	$\text{ОГ}_{\text{сер}}$	$\text{IP}_{\text{sample}}$	CV, %
236	0,930	3,3	5,8
237	0,353	1,3	5,4

## Аналітична специфічність

На результат аналізу не впливає присутність у зразку білірубіну в концентрації до 0,21 mg/ml (361,8  $\mu\text{mol/l}$ ), гемоглобіну в концентрації до 10 mg/ml і тригліцеридів у концентрації до 5 mg/ml (5,65 mmol/l).

## 11.2. Діагностичні характеристики

Діагностичну чутливість ІФА-наборів оцінювали, досліджуючи 26 зразків, отриманих від пацієнтів із підозрою на COVID-19 і наявними клінічними симптомами (кашель, підвищена температура тіла, біль у горлі тощо). Діагноз у пацієнтів було підтверджено за допомогою ПЛР-аналізу. З 26 зразків 22 зразки були визначені як позитивні в ІФА-наборі «EQUI SARS-CoV-2 IgM swift».

Специфічність методу досліджували на вибірці зразків донорів (272 зразки), які було відібрано в період з 6 червня по 30 жовтня 2019 року, до появи COVID-19.

Клінічна чутливість ІФА-набору «EQUI SARS-CoV-2 IgM swift» становить 84,6 %, клінічна специфічність – 100%.

## 12. ОБМЕЖЕННЯ АНАЛІЗУ

Позитивний результат в ІФА-наборі «EQUI SARS-CoV-2 IgM swift» є свідченням наявності у пацієнта антитіл класу IgM, специфічних до SARS-CoV-2, який спричиняє COVID-19. Наявність антитіл цього класу в новонароджених не є доказом інфікування SARS-CoV-2.

Негативний результат в ІФА-наборі «EQUI SARS-CoV-2 IgM swift» свідчить про відсутність у досліджуваному зразку IgM антитіл, специфічних до SARS-CoV-2, або концентрація специфічних антитіл низька за межу чутливості аналізу.

Якщо зразок отримано через невеликий проміжок часу після інфікування, то антитіла класу IgM можуть не виявлятись. **За наявності клінічних симптомів необхідно провести повторне тестування пацієнта через 5-7 днів.**

Для коректної діагностики COVID-19 рекомендується провести виявлення у зразках специфічних антитіл класів IgG та IgA, наприклад у ІФА-наборах «EQUI SARS-CoV-2 IgG swift» та «EQUI SARS-CoV-2 IgA swift» відповідно.

Остаточний діагноз не може бути встановлений лише на підставі результатів серологічного тесту. При встановленні діагнозу слід враховувати результати комплексу лабораторних досліджень (зокрема ПЛР-аналізу), а також клінічні прояви захворювання. Не можна повністю виключити перехресні реакції з антитілами до антигенів інших коронавірусів. Крім того, з обережністю слід інтерпретувати результати досліджень у пацієнтів з онкологічними захворюваннями та розладами імунної системи.

З метою нівелювання хібнопозитивних результатів, спричинених наявністю у зразках сироваток крові людини аутоантитіл, специфічних до імуноглобулінів класу G (ревматоїдного фактору), в ІФА-наборі використовується спеціальний блок-компонент, що перешкоджає формуванню імунних комплексів з анти-людськими антитілами на твердій фазі.

## 13. ТРУДНОЩІ, ЯКІ МОЖУТЬ ВИНИКНУТИ ПРИ ПРОВЕДЕННІ ІФА

**Високий фон у лунках всього планшета може виникнути через:**

- забруднений промивач;
- низьку якість або забруднення води;
- використання погано помитого посуду;
- використання дезінфікуючих засобів, що містять хлор;
- використання забруднених наконечників;
- збільшення часу інкубації або зміні температурного режиму.

**Високий фон в окремих рядах може бути пов'язаний з:**

- повторним внесенням розчину ТМБ;
- забрудненням конусу автоматичної піпетки розчином кон'югату;

– забрудненням одного із каналів промивача.

#### **Отримані значення ОГ позитивного контролю нижчі за встановлену межу, якщо:**

- неправильно приготований або не внесений один із реагентів (роздчин кон'югату або розчин ТМБ);
- скорочено час інкубації на одному з етапів.

**Інтенсивність забарвлення лунок не відповідає отриманій оптичній густині.** Це може свідчити про змішаний оптичний промінь.

## **ЛІТЕРАТУРА**

1. Recommendations for the diagnosis, prevention and control of the 2019 novel coronavirus infection in children (first interim edition). *Chinese Journal of Pediatrics.* 2020. Vol. 58. P. 169-174. doi: 10.3760/cma.j.issn.0578-1310.2020.03.001.
2. Lu et al. Bat-to-human: spike features determining 'host jump' of coronaviruses SARS-CoV, MERS-CoV, and beyond. *Trends in Microbiology.* 2015. Vol. 23(8). P. 468–78.
3. Roujian Lu , Xiang Zhao, Juan Li et al. Novel Coronavirus: Implications for Virus Origins and Receptor Binding. *Lancet.* 2020. Vol. 395(10224). P. 565-574. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30251-8.
4. Li F. Structure, Function, and Evolution of Coronavirus Spike Proteins. *Annual Review of Virology.* 2016. Vol. 3(1). P. 237-261. doi: 10.1146/annurev-virology-110615-042301.
5. Belouzard S., Millet J.K., Licitra B.N., Whittaker G.R. Mechanisms of coronavirus cell entry mediated by the viral spike protein. *Viruses.* 2012. Vol. 4(6). P. 1011-33. doi: 10.3390/v4061011.
6. Wenfei Song, Miao Gui, Xinquan Wang, Ye Xiang Cryo-EM structure of the SARS coronavirus spike glycoprotein in complex with its host cell receptor ACE2. *PLOS Pathogens.* 2018. Vol. 14(8). P. e1007236. doi: 10.1371/journal.ppat.1007236.
7. Коцюбайло А.П. Особливості гострих респіраторних вірусних інфекцій коронавірусної етіології у дорослих: клініка, діагностика та лікування: автореф. дис. ступеня кандидата медичних наук. – К., 2017 – 20 с.
8. Nisreen M.A., Okba Marcel A. Müller, et al. SARS-CoV-2 specific antibody responses in COVID-19 patients. *Articles from Emerging Infectious Diseases.* 2020. Vol. 26(7). doi: 10.3201/eid2607.200841.
9. Zhao J, Yuan Q, Wang H, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease. *Clinical Infectious Diseases.* 2019. P. 1-22. doi: 10.1093/cid/ciaa344.
10. Li Ping, Li Zhiyong, Zhao Silin, et al. Preliminary study of serum 2019-nCoV IgM and IgG antibodies in the diagnosis of Novel Coronavirus Pneumonia. *Chinese Journal of Laboratory Medicine.* 2020 Vol.43. P.43-51. doi: 10.3760/cma.j.cn114452-20200302-00155.
11. Ria Lassaunière, Anders Frische, Zitta B. Harboe, et al. Evaluation of nine commercial SARS-CoV-2 immunoassays // <https://doi.org/10.1101/2020.04.09.20056325>.
12. Li Guo, Lili Ren, Siyuan Yang, Meng Xiao et al. Profiling Early Humoral Response to Diagnose Novel Coronavirus Disease (COVID-19). *Clinical Infectious Diseases.* 2020. Vol ciaa310. P. 1-8. doi: 10.1093/cid/ciaa310.
13. Regulation (EU) 2017/746 of the European Parliament and of the Council of 5 April 2017 on in vitro diagnostic medical devices and repealing Directive 98/79/EC and Commission Decision 2010/227/EU.
14. Закон України «Про відходи» // Відомості Верховної Ради України. - 1998. - №36-37.
15. Наказ МОЗ України №325 від 08.06.2015 «Про затвердження Державних санітарно-протипідемічних правил і норм щодо поводження з медичними відходами».
16. Постанова КМУ від 02 жовтня 2013р. №754 «Про затвердження технічного регламенту щодо медичних виробів для діагностики *in vitro*».
17. Hanna Tolonen, Kari Kuulasmaa, Tiina Laatikainen, Hermann Wolf and the European Health Risk Monitoring Project. Recommendation for indicators, international collaboration, protocol and manual of operations for chronic disease risk factor surveys Part 4. Storage and transfer of serum/plasma samples// Finnish National Public Health Institute 2002// [https://thl.fi/publications/ehrm/product2/part\\_iii4.htm](https://thl.fi/publications/ehrm/product2/part_iii4.htm).
18. Surveillance Guidelines for Measles, Rubella and Congenital Rubella Syndrome in the WHO European Region. Annex 3.Collection, storage and shipment of specimens

for laboratory diagnosis and interpretation of results//Geneva: World Health Organization; 2012 Dec.



Виробник



Медичний виріб для діагностики *in vitro*



Номер за каталогом



Дата виготовлення



Використати до



Код партії



Температурне обмеження



Містить достатньо для (n-) випробувань



Засторога, ознайомитися із супровідними документами



Ознайомлення з інструкцією із застосування



Берегти від прямих сонячних променів



Знак відповідності технічним регламентам

Редакція 2 від 17.08.2020р.

З питаннями та побажаннями щодо роботи набору звертайтесь до виробника:



ТОВ «Еквітестлаб»

вул. Велика Васильківська 114, м. Київ, Україна, 03150

вул. Маршала Тимошенка 2/4, оф. 157, м. Київ, Україна, 04212  
(місце знаходження виробника)

тел.: +38 (044)379-13-90, +38 (044)222-76-93,

e-mail: equitest@ukr.net, www.equitest.com.ua

## СХЕМА ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

Витримати реагенти 30 min за температури 18-25°C

У лунки планшета внести по 90 µl [DIL|SAMPLE]  
(коричневий колір)

Внести по 10 µl контролів та досліджуваних зразків у лунки:  
A1 – [CONTROL+] , B1, C1, D1 – [CONTROL-],  
E1 та в решту лунок - досліджувані зразки  
(відбувається зміна кольору з коричневого на синій)

Заклеїти стріпи плівкою, інкубувати 30 min за температури 37°C

Промити лунки 5 разів приготованим 1:20 (1+19) розчином для промивання  
TWEEN (300 µl в лунку)

У лунки стріпів внести по 100 µl [SOLN|CONJ]  
(бузковий колір)

Заклеїти стріпи плівкою, інкубувати **15 min за температури 18-25°C**

Промити лунки 5 разів приготованим 1:20 (1+19) розчином для промивання  
TWEEN (300 µl в лунку)

У лунки стріпів внести по 100 µl [SOLN|TMB]

Інкубувати протягом **15 min** в темності за температури 18-25°C

У лунки стріпів внести по 100 µl [SOLN|STOP]  
(відбувається зміна кольору з блакитного на жовтий)

Виміряти оптичну густину (ОГ) на спектрофотометрі при 450/620-695 nm

## ОБЛІК РЕЗУЛЬТАТІВ АНАЛІЗУ

$$\bar{Nc} = (Nc1 + Nc2 + Nc3)/3;$$

$$CO = \bar{Nc} + 0,25;$$

$$IP_{sample} = OD_{sample}/CO$$

NC - Середнє значення ОГ 3-х [CONTROL-]

CO - Рівень граничного значення (Cut off)

IP<sub>sample</sub> - Індекс позитивності зразка

## ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТИВ

IP <sub>sample</sub> > 1,1	ПОЗИТИВНИЙ
0,9 ≤ IP <sub>sample</sub> ≤ 1,1	НЕВИЗНАЧЕНИЙ
IP <sub>sample</sub> < 0,9	НЕГАТИВНИЙ