



СЕРТИФІКАТ

CERTIFICATE * CERTIFICAT * ZERTIFIKAT * СЕРТИФИКАТ * CERTIFICADO

ОРГАН СЕРТИФІКАЦІЇ СИСТЕМ УПРАВЛІННЯ
ДП «УКРМЕТРТЕСТСТАНДАРТ»
ЗАСВІДЧУЄ, ЩО

СИСТЕМА УПРАВЛІННЯ ЯКІСТЮ

ТОВАРИСТВА З ОБМЕЖЕНОЮ ВІДПОВІДАЛЬНІСТЮ «ВІТРОТЕСТ БІОРЕАГЕНТ»

Юридична адреса: вул. Бойчука, 18-Б, кв. 56, м. Київ,
01103, Україна
Адреса виробництва: вул. Курортна, 11, м. Київ, 04075, Україна

код ЄДРПОУ 42149820

СТОСОВНО
розроблення та виробництва тест-систем імуноферментних

**ВІДПОВІДАЄ ВИМОГАМ
ДСТУ EN ISO 13485:2018
(EN ISO 13485:2016, IDT; ISO 13485:2016, IDT)**

Сертифікат № UA.C.378–19 в Реєстрі Органу сертифікації
zareєстрований " 25 " листопада 2019 року
чинний до " 24 " листопада 2022 року

Заступник керівника
Органу сертифікації



В.Д. Ример



ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО «ВСЕУКРАЇНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ НАУКОВО-ВИРОБНИЧИЙ ЦЕНТР
СТАНДАРТИЗАЦІЇ, МЕТРОЛОГІЇ, СЕРТИФІКАЦІЇ ТА ЗАХИСТУ ПРАВ СПОЖИВАЧІВ»
(ДП «УКРМЕТРТЕСТСТАНДАРТ»)
вул. Метрологічна, 4, м. Київ, 03143, Україна, тел./факс +38 044 452-67-38
Атестат акредитації НААУ № 80020

№ 80020
ДСТУ EN ISO/IEC 17021-1

Чинність сертифікату можна перевірити на сайті www.certsystems.kiev.ua в розділі
«Послуги / Сертифікація систем управління»

DECLARATION OF CONFORMITY №UA-TK039

Manufacturer: Vitrotest Bioreagent LLC
State registration № 42149820

Legal address: M.Boychuka 18b, of.56, Kyiv 01103 Ukraine
Manufacturer's address: Kurortnaya 11, Kyiv, 04075, Ukraine

Description of the product:

Name	Catalog Number
ELISA test-kit for the qualitative and semiquantitative determination of IgG antibodies to SARS-CoV-2 «Vitrotest SARS-CoV-2 IgG»	TK039

Classification:

According to medical devices technical regulation for *in vitro* diagnostics, approved by Cabinet of Ministers decree from 02.10.2013 №754

Is not a part of A and B lists, is not a device for self-testing, not for performance assessment.

Conformity assessment procedure:

Annex 3 of medical devices technical regulation for *in vitro* diagnostics, approved by Cabinet of Ministers decree from 02.10.2013 №754

Vitrotest Bioreagent declares the execution of all demands regarding the device, that was mentioned above, according to medical devices technical regulation for *in vitro* diagnostics, approved by Cabinet of Ministers decree from 02.10.2013 №754, and the requirements of further regulations:

ДСТУ EN ISO 13485:2018
ДСТУ EN ISO 14971:2015
ДСТУ EN 13641:2015
ДСТУ EN ISO 15223-1:2018 (EN ISO 15223-1:2016, IDT; ISO 15223-1:2016, Corrected version 2017-03, IDT)
ДСТУ EN ISO 23640:2015 (EN ISO 23640:2015, IDT; ISO 23640:2011, IDT)
ДСТУ EN 13612:2015
ДСТУ EN ISO 18113-1:2018 (EN ISO 18113-1:2011, IDT; ISO 18113-1:2009, IDT)
ДСТУ EN ISO 18113-2:2018 (EN ISO 18113-2:2011, IDT; ISO 18113-2:2009, IDT)
ДСТУ EN 980:2007

The declaration is made under sole responsibility of the manufacturer.

Date of issue: 17.04.2020

Validity of declaration till: 17.04.2025

Director


(signature)

Ihor Nikolaienko, Ph.D.
(ПІП)

Edition 1 from 17.04.2020



DECLARATION OF CONFORMITY №UA-TK033

Manufacturer: Vitrotest Bioreagent LLC
State registration № 42149820

Legal address: M.Boychuka 18b, of.56, Kyiv 01103 Ukraine

Manufacturer's address: Kurortnaya 11, Kyiv, 04075, Ukraine

Description of the product:

Name	Catalog Number
ELISA test-kit for the qualitative and semiquantitative determination of IgA antibodies to SARS-CoV-2 «Vitrotest SARS-CoV-2 IgA»	TK033
ELISA test-kit for the qualitative determination of IgM antibodies to SARS-CoV-2 «Vitrotest SARS-CoV-2 IgM»	TK034, TK042

Classification:

According to medical devices technical regulation for *in vitro* diagnostics, approved by Cabinet of Ministers decree from 02.10.2013 №754

Is not a part of A and B lists, is not a device for self-testing, not for performance assessment.

Conformity assessment procedure:

Annex 3 of medical devices technical regulation for *in vitro* diagnostics, approved by Cabinet of Ministers decree from 02.10.2013 №754

Vitrotest Bioreagent declares the execution of all demands regarding the device, that was mentioned above, according to medical devices technical regulation for *in vitro* diagnostics, approved by Cabinet of Ministers decree from 02.10.2013 №754, and the requirements of further regulations:

ДСТУ EN ISO 13485:2018
ДСТУ EN ISO 14971:2015
ДСТУ EN 13641:2015
ДСТУ EN ISO 15223-1:2018 (EN ISO 15223-1:2016, IDT; ISO 15223-1:2016, Corrected version 2017-03, IDT)
ДСТУ EN ISO 23640:2015 (EN ISO 23640:2015, IDT; ISO 23640:2011, IDT)
ДСТУ EN 13612:2015
ДСТУ EN ISO 18113-1:2018 (EN ISO 18113-1:2011, IDT; ISO 18113-1:2009, IDT)
ДСТУ EN ISO 18113-2:2018 (EN ISO 18113-2:2011, IDT; ISO 18113-2:2009, IDT)
ДСТУ EN 980:2007

The declaration is made under sole responsibility of the manufacturer.

Date of issue: 20.11.2020

Validity of declaration till: 20.11.2025

Director



Ihor Nikolaienko, Ph.D.
(п.п.п.)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система «Vitrotest SARS-CoV-2 IgG QuantiSpike» предназначена для количественного определения IgG антител к spike-белку коронавируса SARS-CoV-2, который синтезируется в организме человека в результате перенесенного заболевания или вакцинации, в образцах сыворотки и плазмы (ЭДТА, литий-гепарин) крови человека методом иммуноферментного анализа.

Тест-набор может быть применен как для проведения иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием автоматических пипеток и стандартного оборудования, так и для постановки на автоматическом иммуноферментном анализаторе открытого типа.

2. КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Коронавирусная инфекция COVID-19 - это инфекционное заболевание, вызываемое новым коронавирусом SARS-CoV-2, который раньше у людей не обнаруживался.

Влияние этого вируса приводит к развитию респираторного гриппоподобного заболевания с такими симптомами как кашель, лихорадка, в более тяжелых случаях развивается пневмония. Средний инкубационный период при COVID-19 составляет 6,5 суток, а его крайние сроки - от 3 до 21 суток.

Коронавирус SARS-CoV-2 является РНК-содержащим вирусом с характерной оболочкой с отростками в виде «короны». К основным структурным белкам вируса принадлежат белок оболочки (Е), белок мембраны (М), спайковый (S) гликопротеин и нуклеокапсидный (N) белок.

Белок S на поверхности вириона SARS-CoV-2 опосредует распознавание рецепторов и слияние мембран с молекулами ACE2, которые обычно экспрессируются на пневмоцитах II типа, эпителиальных клетках толстого кишечника и почек. Он содержит три фрагмента, а именно, эктодомен, трансмембранный домен и короткий внутриклеточный сегмент. Эктодомен состоит из рецептор-связывающей субъединицы S1, содержащей RBD-домен, и субъединицы слияния с оболочкой (S2). Во время вирусной инфекции С-концевой домен фрагмента S1 связывается с внеклеточным доменом пептидазы (PD) ACE2 для обеспечения прикрепления вируса к поверхности клетки-мишени. N-концевой домен фрагмента S1 связывается с гликанами. Присоединение вызывает расщепление белка S между фрагментами S1 и S2 клеточными протеазами, что, в свою очередь, инициирует слияние вирусных и клеточных оболочек с помощью субъединицы S2.

Хотя большинство вирусных белков способны индуцировать продукцию специфических антител после заражения SARS-CoV-2, а определение антител к N- и S-белку широко используется в серологической диагностике COVID-19, антитела, направленные на вирусный S-белок, достойны большего внимания, поскольку могут блокировать попадание SARS-CoV-2 в клетки хозяина. А учитывая то, что большинство вакцин индуцируют антителообразование именно к spike-белку, определение специфических IgG к этому антигену также дает возможность провести оценку наличия протективных антител после перенесенного заболевания или вакцинации против COVID-19.

3. ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Определение антител класса IgG, специфичных к spike-белку SARS-CoV-2, в тест-системе «Vitrotest SARS-CoV-2 IgG QuantiSpike» базируется на принципе «непрямого» твердофазного ИФА в двухэтапной инкубации. В лунках планшета засорбирован рекомбинантный антиген – аналог spike-белка коронавируса SARS-CoV-2. Во время первого этапа инкубации исследуемых образцов в лунках ИФА-планшета, специфичные к S-белку SARS-CoV-2 антитела, если они присутствуют в образце, связываются с антигенами на твердой фазе. После отмывания несвязанных компонентов в лунки добавляется конъюгат антивидовых анти-IgG моноклональных антител с пероксидазой хрена, которые связываются с иммунными комплексами на твердой фазе. Несвязанные компоненты удаляются во время отмывания. Комплексы антиген-антитело выявляют добавлением раствора хромогена, содержащего 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин (ТМБ) и перекись водорода. После 30-ти минутной инкубации реакция останавливается и оптическая плотность (ОП) в лунках определяется на спектрофотометре при длине волны 450/620-695нм. Значение ОП, полученное для образца, позволяет выявить наличие или отсутствие антител к spike-белку SARS-CoV-2. Интенсивность желтой окраски пропорциональна количеству антител в образце.

Внутренние калибраторы тест-системы «Vitrotest SARS-CoV-2 IgG QuantiSpike» стандартизированы по Первому Международному Стандарту First WHO International Standard for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin (human) code: 20/136 (NIBSC, Великобритания), который содержит 1000 BAU/mL (1000 единиц связывания антител в 1 мл).

4. МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

4.1. Состав набора

ELISA STRIPS	1x96 лунок	ИФА-планшет (12 стрипов по 8 лунок) В каждой лунке планшета засорбированы рекомбинантные антигены – аналоги spike-белка коронавируса SARS-CoV-2. Лунки можно отделять.
PREDILUTION PLATE	1x96 лунок	Планшет для предварительного разведения сывороток
CAL 0	1x0.3 мл	Калибратор 0 Раствор альбумина с консервантом (желтый).
CAL 25	1x0.3 мл	Калибратор 25 Раствор специфических к spike-белку иммуноглобулинов в концентрации 25 BAU/mL со стабилизаторами и консервантом (зеленый).
CAL 50	1x0.3 мл	Калибратор 50 Раствор специфических к spike-белку иммуноглобулинов в концентрации 50 BAU/mL со стабилизаторами и консервантом (оранжевый).
CAL 100	1x0.3 мл	Калибратор 100 Раствор специфических к spike-белку иммуноглобулинов в концентрации 100 BAU/mL со стабилизаторами и консервантом (розовый).
CAL 200	1x0.3 мл	Калибратор 200 Раствор специфических к spike-белку иммуноглобулинов в концентрации 200 BAU/mL со стабилизаторами и консервантом (фиолетовый).
CONTROL +	1x0.3 мл	Положительный контроль Раствор специфических к spike-белку иммуноглобулинов с известной концентрацией со стабилизаторами и консервантом (красный)
SAMPLE PREDILUENT	1x20 мл	Раствор для предварительного разведения сывороток Буферный раствор с детергентом и консервантом (коричнево-зеленый).
SAMPLE DILUENT	1x12 мл	Раствор для разведения сывороток Буферный раствор с детергентом и консервантом (желтый).
CONJUGATE SOLUTION	1x12 мл	Раствор конъюгата (готов к использованию) Буферный раствор моноклональных антител к IgG человека, конъюгированных с пероксидазой хрена, со стабилизаторами и консервантом (фиолетовый).
TMB SOLUTION	1x12 мл	Раствор ТМБ (готов к использованию) Раствор ТМБ, H ₂ O ₂ , стабилизатор, консервант (бесцветный).
WASH TWEEN 20X	1x50 мл	Раствор для промывания Tw20 (20x концентрат) 20-ти кратный концентрат фосфатного буфера с Твином-20 и NaCl (бесцветный).

STOP SOLUTION	1x12 мл	Стоп-реагент (готов к использованию) Раствор 0,5 М H ₂ SO ₄ (бесцветный).
---------------	---------	--

Клейкая пленка (2 шт.), бланк внесения проб (1 шт.), бланк калибровочного графика и инструкция по применению.

4.2. Дополнительные реактивы, материалы и оборудование

- Автоматические пипетки переменного объема на 10-1000 мкл и наконечники к ним;
- спектрофотометр (ридер) для микропланшетов на 450/620-695 нм,
- мерная лабораторная посуда (10-1000 мл);
- деионизированная или дистиллированная вода;
- термостат на 37°C;
- автоматический или полуавтоматический промыватель планшетов (вошер);
- контейнеры для отходов потенциально зараженного материала;
- таймер;
- фильтровальная бумага;
- одноразовые перчатки;
- дезинфицирующие средства;
- защитная одежда.

5. ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ И ТЕХНИКА БЕЗОПАСНОСТИ

5.1. Предостережения

Соблюдение времени инкубации и температуры является чрезвычайно важным для корректного результата ИФА.

- не использовать компоненты тест-системы по окончании срока годности;
- не использовать при анализе и не смешивать компоненты разных серий, компоненты из тест-систем различных нозологий или реагенты других производителей в сочетании с наборами Vitrotest®;

Примечание: допускается использование **WASH TWEEN 20X**, **TMB SOLUTION**, **STOP SOLUTION** и **SAMPLE PREDILUENT** других серий.

- после использования реагента закрывать каждый флакон своей крышкой;
- во время промывания контролировать наполнение и полную аспирацию раствора из лунок;
- каждый раз использовать новый наконечник пипетки для внесения образцов или реагентов;
- избегать попадания прямых солнечных лучей на реагенты тест-системы;
- **TMB SOLUTION** должен быть бесцветным перед использованием. Если раствор окрашен в синий или желтый цвет его нельзя использовать. Избегать контакта **TMB SOLUTION** с металлами или ионами металлов. Для работы использовать только чистую, тщательно вымытую дистиллированной водой посуду;
- ни в коем случае не использовать одну и ту же посуду для **CONJUGATE SOLUTION** и **TMB SOLUTION**.

Производитель не несет ответственности за любые некорректные результаты и неблагоприятные случаи, возникшие вследствие нарушений вышеуказанных предостережений. Производитель не несет ответственности за визуальный учет результатов анализа (без использования спектрофотометра).

5.2. Техника безопасности

- все реагенты набора предназначены только для in vitro диагностики и могут использоваться только квалифицированным персоналом;
- постановку анализа проводить только в защитной одежде, одноразовых перчатках и защитных очках;
- не допускается принимать пищу, пить, курить или пользоваться косметикой в комнате выполнения теста;
- не пипетировать растворы ртом;
- калибраторы и положительный контроль не содержат компонентов человеческого происхождения;

- жидкие отходы следует инактивировать, например, раствором перекиси водорода в конечной концентрации 6% в течение 3 часов при комнатной температуре, или гипохлоритом натрия в конечной концентрации 5% в течение 30 минут, или другими разрешенными дезинфицирующими средствами;
- твердые отходы следует инактивировать путем автоклавирования при температуре 121°C в течение 1 часа;
- утилизацию инактивированных отходов проводить согласно действующему национальному законодательству;
- не автоклавировать растворы, содержащие азид натрия или гипохлорит натрия;
- некоторые компоненты тест-системы содержат низкие концентрации вредных веществ и могут вызвать раздражение кожи и слизистых оболочек. При попадании **TMB SOLUTION**, **STOP SOLUTION** и **CONJUGATE SOLUTION** на слизистые оболочки и кожу необходимо немедленно промыть пораженное место большим количеством воды;
- в случае разбрызгивания растворов, не содержащих кислоту, например, сывороток, обработать поверхность дезинфицирующим средством, а затем вытереть насухо фильтровальной бумагой. В другом случае, кислоту сначала нужно нейтрализовать раствором бикарбоната натрия, а затем вытереть поверхность, как описано выше.

6. ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Реагенты тест-системы стабильны в течении срока годности, указанного на этикетке, если их хранить при 2-8°C. Не допускается замораживание тест-системы. Транспортировать набор при температуре 2-8°C. Допускается однократная транспортировка при температуре не выше 23°C в течение двух суток.

7. ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Образцы сыворотки или плазмы (ЭДТА, литий-гепарин) крови можно хранить при температуре 2-8°C не более 3 суток после забора. Более длительное хранение образцов допускается только замороженными при температуре от -20 до -70°C. Замороженные образцы перед использованием разморозить и выдержать при комнатной температуре в течение 30 минут. Не использовать прогретые образцы. После размораживания образцы следует перемешать для достижения однородности. Избегать повторного замораживания-оттаивания исследуемых образцов. В случае помутнения сыворотки (или плазмы) освободить от нерастворимых включений центрифугированием при 3000 об/мин в течение 10-15 минут. Не использовать образцы сывороток с выраженной липидемией, гемолизом, а также бактериальным проростом. На результаты анализа не влияет присутствие в образце билирубина в концентрации до 0,21 мг/мл (361,8 мкмоль/л), гемоглобина в концентрации до 10 мг/мл и триглицеридов в концентрации до 10 мг/мл (11,3 ммоль/л).

8. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

Очень важно выдержать все реагенты тест-системы при комнатной температуре (18-25°C) в течение 30 минут перед использованием!

8.1. Подготовка ИФА-планшета

Для предупреждения конденсации воды в лунках необходимо открывать **ELISA STRIPS** только после выдерживания 30 минут при комнатной температуре. Затем раскрыть вакуумную упаковку, отделить необходимое количество лунок, а остальные сразу же тщательно упаковать с влагопоглотителем и *хранить плотно закрытыми на замок (zip-lock)* при температуре 2-8°C. Хранение таким образом упакованного планшета обеспечивает его стабильность в течение 3 месяцев.

8.2. Приготовление раствора для промывания

Для приготовления раствора для промывания необходимо развести концентрат **WASH TWEEN 20X** 1:20 (1+19) дистиллированной или деионизированной водой, затем перемешать. Например, 4 мл концентрата + 76 мл воды, что достаточно для 8 лунок. В случае наличия кристаллов в концентрате раствора для промывания, необходимо прогреть флакон при 37°C до полного растворения кристаллов (15-20 мин). Разведенный раствор можно хранить при температуре 2-8°C не более 7 суток.

8.3. Предварительное разведение образцов, калибраторов и положительного контроля

Исследуемые образцы, калибраторы и положительный контроль предварительно развести в 10 раз [SAMPLE PREDILUENT]. Для этого в необходимое количество лунок [PREDILUTION PLATE] (комплектуются в наборе) внести по 90 мкл [SAMPLE PREDILUENT] и добавить по 10 мкл образцов, калибраторов и положительного контроля. При внесении образцов, калибраторов и контроля осторожно пипетировать смесь, при этом цвет раствора для предварительного разведения сывороток должен измениться с коричнево-зеленого на синий.

После разведения и переноса образцов использованные лунки [PREDILUTION PLATE] необходимо обеззаразить путем замачивания в дезинфицирующем растворе или автоклавированием.

Процедуру разведения образцов, калибраторов и положительного контроля следует проводить непосредственно перед анализом.

9. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

- 9.1. Подготовить необходимое количество лунок для анализа (количество исследуемых образцов, 1 лунку для положительного контроля и 5 лунок для калибраторов), вставить их в рамку ИФА-планшета. Лунки с калибраторами и положительным контролем обязательно включать в каждую постановку анализа.
- 9.2. Заполнить бланк внесения проб.
- 9.3. Приготовить раствор для промывания согласно пункта 8.2.
- 9.4. Провести предварительное разведение образцов, калибраторов и положительного контроля в соответствии с пунктом 8.3.
- 9.5. Внести в лунки стрипов ИФА-планшета по 90 мкл [SAMPLE DILUENT].
- 9.6. Внести в лунки по 10 мкл предварительно разведенных калибраторов, положительного контроля и исследуемых образцов в следующем порядке: в лунки A1, B1, C1, D1, E1 и F1 – по 10 мкл разведенных 1:10 калибраторов [CAL 200], [CAL 100], [CAL 50], [CAL 25], [CAL 0] и [CONTROL +], соответственно; в остальные лунки – по 10 мкл разведенных 1:10 исследуемых образцов. Таким образом, конечное разведение образцов, калибраторов и положительного контроля в лунках ИФА-планшета должно составлять 1:100. Осторожно пипетировать смесь в лунках, не допуская пенообразования. При внесении образцов происходит изменение цвета раствора для разведения сывороток с желтого на зеленый.
- 9.7. Заклеить стрипы клейкой пленкой и инкубировать в течение 30 минут при температуре 37°C.
- 9.8. По окончании инкубации осторожно снять клейкую пленку и промыть лунки пять раз с использованием автоматического промывателя или 8-канальной пипетки следующим образом:
 - удалить содержимое лунок в контейнер для жидких отходов;
 - наполнить лунки не менее чем по 300 мкл раствором для промывания, оставить не менее чем на 30 секунд;
 - аспирировать раствор из лунок, остаточный объем раствора после аспирации на всех этапах промывания должен составлять не более 5 мкл;
 - повторить процедуру промывания еще четыре раза;
 - после последней аспирации избавиться от лишней влаги, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге.
- 9.9. В лунки стрипов внести по 100 мкл [CONJUGATE SOLUTION]. Стрипы накрыть новой клейкой пленкой и инкубировать в течение 30 минут при 37°C.
- 9.10. По окончании инкубации осторожно снять клейкую пленку и промыть лунки пять раз, как описано в пункте 9.8.
- 9.11. Не касаясь дна и стенок лунок планшета, внести по 100 мкл [TMB SOLUTION] в лунки.
- 9.12. Инкубировать ИФА-планшет в течение 30 минут в темном месте при комнатной температуре 18-25°C. Не использовать клейкую пленку на данном этапе.
- 9.13. Для остановки ферментативной реакции внести в лунки по 100 мкл [STOP SOLUTION], придерживаясь той же последовательности, что и при внесении [TMB SOLUTION].

9.14. Измерить на спектрофотометре ОП в каждой лунке при длине волны 450/620-695 нм в течение 5 минут после остановки реакции. Обратите внимание на чистоту наружной поверхности дна лунок и отсутствие пузырьков.

Учет результатов анализа можно проводить в одноволновом режиме при длине волны 450 нм, в этом случае следует оставить лунку для установления бланка (в такую лунку вносить только TMB SOLUTION и STOP SOLUTION).

10. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ И ИХ ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

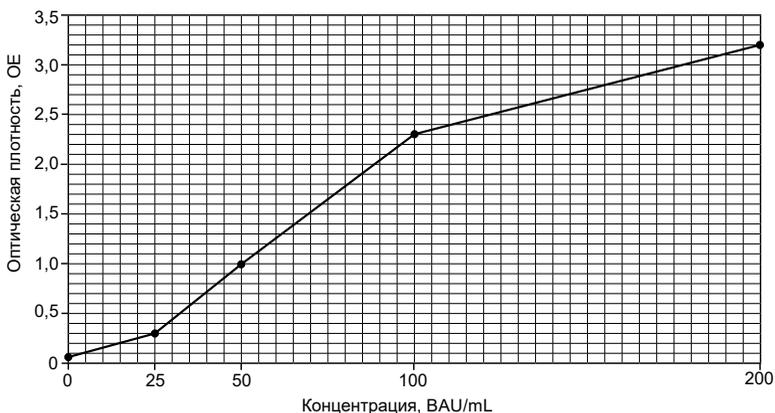
10.1. Достоверность результатов анализа

Данные теста считаются достоверными, если они отвечают следующим требованиям:

CAL 0	OD ≤ 0,100
CAL 25	OD ≥ 0,120
CAL 200	OD ≥ 1,500
CONTROL +	В пределах диапазона концентраций, указанной на этикетке микропробирки с положительным контролем и в сертификате качества

10.2. Учет результатов анализа

Для определения концентрации антител класса IgG в BAU/mL построить калибровочный график: на оси OY отложить значение ОП калибраторов CAL 0, CAL 25, CAL 50, CAL 100, CAL 200, а на оси OX - соответствующие им концентрации - 0, 25, 50, 100, 200 BAU/mL, соответственно. С помощью калибровочного графика определите концентрацию специфических IgG (BAU/mL) в исследуемых образцах и положительном контроле, которая соответствует значению полученной оптической плотности.



Примечание: Не используйте этот график для определения концентрации специфических антител в Вашем анализе.

В случае, если оптическая плотность исследуемых образцов выше значения CAL 200, результат может быть выдан «> 200 BAU/mL». Такие образцы могут быть повторно исследованы в разведении 1:800. В этом случае, установленную по графику концентрацию специфических антител следует умножить на степень разведения 8:

$$\text{конечная концентрация} = \text{концентрация по графику} \times 8$$

Если при повторном исследовании в разведении 1:800 оптическая плотность исследуемых образцов все равно выше значения CAL 200 такие образцы рекомендовано повторно исследовать в разведении 1:1000 и 1:4000. В этом случае установленную по графику концентрацию специфических антител следует умножить на степень разведения 10 и 40 соответственно.

Для удобства учета результатов реакции можно использовать компьютерные программы считывания и подсчета результатов исследований.

10.3. Интерпретация результатов

Концентрация IgG	Интерпретация
> 25 BAU/mL	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ
20-25 BAU/mL	НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ*
< 20 BAU/mL	ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ

* Неопределенные образцы рекомендуется исследовать повторно. Если результаты снова будут в пределах неопределенных, следует произвести забор нового образца.

11. ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

11.1. Специфичность и чувствительность

Специфичность тест-системы «Vitrotest SARS-CoV-2 IgG QuantiSpike» на 352 образцах сывороток крови людей, которые были получены в первом полугодии 2019 года (до начала пандемии COVID-19) составила 100%.

Чувствительность тест-системы «Vitrotest SARS-CoV-2 IgG QuantiSpike», исследованная на 49 образцах сывороток крови реконвалесцентов COVID-19 (полученные через 2-10 месяцев после перенесенного заболевания), составила 100%. Кроме того, при тестировании 18 образцов сывороток крови вакцинированных лиц, все образцы содержали антитела класса IgG к spike-белку в концентрации более 1000 BAU/mL.

Диагностические характеристики тест-системы «Vitrotest SARS-CoV-2 IgG QuantiSpike» также оценивали на верификационной панели «Anti-SARSCoV-2 Verification Panel for Serology Assays code: 20/B770» (производства NIBSC, Великобритания), которая состоит из 23 охарактеризованных образцов плазмы крови реконвалесцентов COVID-19, содержащих антитела к SARS-CoV-2, и 14 охарактеризованных образцов плазмы крови, не содержащих антитела к SARS-CoV-2. Чувствительность и специфичность тест-системы на данной панели составили 100%.

При исследовании образцов панели First WHO International Reference Panel for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin code: 20/268 (производства NIBSC, Великобритания) в тест-системе «Vitrotest SARS-CoV-2 IgG QuantiSpike» получены результаты, совпадающие с паспортными данным на панель.

11.2. Точность

Повторяемость результатов в пределах одной постановки анализа (Intra assay repeatability)

Коэффициент вариации (CV) для 2 сывороток с разным уровнем специфических антител оценивали в 32 повторях на одной серии тест-системы.

№ образца	ОП _{сер}	Концентрация, BAU/mL	CV, %
783	0,671	35,9	5,5
977	2,222	92,3	7,5

Воспроизводимость результатов между различными постановками анализа (Inter assay reproducibility)

Коэффициент вариации (CV) для 2 сывороток с разным уровнем специфических антител оценивали в течение 4 дней в 4 постановках анализа, по 8 повторов в каждом анализе.

№ образца	ОП _{сер}	Концентрация, BAU/mL	CV, %
783	0,643	34,8	5,3
977	2,143	93,4	6,9

11.3. Аналитическая чувствительность

“Граница определения” (LOD) - наименьшая концентрация анализируемого вещества в образце, которая определяется с заявленной вероятностью для тест-системы “Vitrotest SARS-CoV-2 IgG QuantiSpike” составляет 3,5 BAU/mL.

11.4. Диапазон линейности

Диапазон линейности тест-системы «Vitrotest SARS-CoV-2 IgG QuantiSpike» находится в пределах 10-164 BAU/mL.

11.5 Соответствие калибраторов тест-системы Международному стандарту

Калибраторы тест-системы «Vitrotest SARS-CoV-2 IgG QuantiSpike» соответствуют Первому Международному стандарту First WHO International Standard for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin (human) code: 20/136 (NIBSC, Великобритания). Коэффициент детерминации (R²) составляет 0,99.

12. ОГРАНИЧЕНИЯ АНАЛИЗА

В случае, если исследуемый образец получен в первые дни после инфицирования, то антитела класса IgG могут не определяться. Кроме того, поскольку данная тест-система выявляет специфические IgG только к одному из белков коронавируса (spike-белку), отрицательный результат не исключает инфицирование SARS-CoV-2. При наличии клинических симптомов необходимо провести повторное тестирование пациента через 1-2 недели.

Также с осторожностью следует интерпретировать отрицательные результаты исследований у лиц с иммуносупрессией.

13. ПРОБЛЕМЫ, КОТОРЫЕ МОГУТ ВОЗНИКНУТЬ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ИФА И СПОСОБЫ ИХ УСТРАНЕНИЯ

<i>Возможные причины</i>	<i>Способы устранения проблем</i>
<i>Высокий фон в лунках всего планшета</i>	
Загрязненный промыватель	Прочистить головку промывателя и промыть 30% раствором этилового спирта, затем дистиллированной водой
Низкое качество или загрязненность воды	Использовать очищенную воду с удельным сопротивлением ≥ 10 МΩ·см.
Использование плохо вымытой посуды	Использовать химически чистую посуду
Использование дезинфицирующих средств, содержащих хлор	Не использовать хлорсодержащие дезинфицирующие средства
Использование загрязненных наконечников	Использовать новые наконечники
Увеличено время инкубации или изменен температурный режим	Придерживаться режима инкубации согласно инструкции по применению
<i>Высокий фон в отдельных рядах</i>	
Повторное внесение раствора ТМБ	Раствор ТМБ вносить один раз
Загрязнение конуса автоматической пипетки раствором конъюгата	Прочистить пипетку и осторожно набирать раствор
Загрязнен один из каналов промывателя	Прочистить канал промывателя, промыть вошер
<i>Значение ОП положительного контроля ниже установленной границы</i>	
Неправильно приготовлен или не внесен один из реагентов (конъюгат или раствор ТМБ)	Повторно провести ИФА, обратить внимание на приготовление этих реагентов
Сокращено время инкубации на одном из этапов	Проводить инкубацию согласно инструкции по применению
<i>Интенсивность окрашивания лунок не отвечает полученной ОП</i>	
Смещен оптический луч	Проверить корректность работы ридера

ЛИТЕРАТУРА

1. Juanjuan Zhao Jr., Quan Yuan et. al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019.// *Clinical Infectious Diseases.*, - 2020 Mar. 20 doi: 10.1093/cid/ciaa344.
2. Laboratory testing for coronavirus disease (COVID-19) in suspected human cases // WHO. Interim guidance 19 March 2020. WHO reference number: WHO/COVID-19/laboratory/2020.5.
3. Marco Cascella ; Michael Rajnik et.al. Features, Evaluation and Treatment Coronavirus (COVID-19). // NCBI Bookshelf. StatPearls Publishing; 2020 – P.16.
4. Patrick C. Y. Woo, Susanna K. P. Lau. et.al. Differential Sensitivities of Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) Coronavirus Spike Polypeptide Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) and SARS Coronavirus Nucleocapsid Protein ELISA for Serodiagnosis of SARS Coronavirus Pneumonia. // *J. Clin. Microbiol.*, - 2005 – V. 43 N.7 - p. 3054–3058.
5. Quan-Xin Long, Bai-Zhong Liu et. al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19.// *Nature Medicine.*, - 2020 April 29 doi: 10.1038/s41591-020-0897-1.
6. Quan-xin Long, Hai-jun Deng et.al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in COVID-19 patients: the perspective application of serological tests in clinical practice. // medRxiv preprint doi: <https://doi.org/10.1101/2020.03.18.20038018>.
7. Shu-Yuan Xiao, Yingjie Wu, Huan Liu. Evolving status of the 2019 novel corona virus infection: Proposal of conventional serologic assays for disease diagnosis and infection monitoring. // *J Med Virol.*, - 2020 - 92(5) – p.464-467. doi: 10.1002/jmv.25702. Epub 2020 Feb 17.
8. Wu, L.-P., Wang, N.-C. et.al. (2007). Duration of Antibody Responses after Severe Acute Respiratory Syndrome. // *Emerging Infectious Diseases.*, - 2007 - 13(10) - p.1562-1564.
9. Bao Y., Ling Y., Chen Y. et. al. Dynamic anti-spike protein antibody profiles in COVID-19 patients.// *International Journal of Infectious Diseases.*- 103 (2021) - p.540–548.
10. Brochot E., Demey B. et. al. Anti-spike, Anti-nucleocapsid and Neutralizing Antibodies in SARS-CoV-2 Inpatients and Asymptomatic Individuals.// *Front. Microbiol.*, 19 October 2020/<https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.584251>

	Номер по каталогу
	Обратитесь к инструкции по применению
	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Производитель
	Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению
	Содержимого достаточно для (n-) количества тестов
	Температурный диапазон
	Код партии
	Использовать до
	Дата изготовления
	Не допускать воздействия солнечного света
	Уполномоченный представитель в ЕС
	Знак соответствия техническим регламентам

Inst_SARS-CoV-2-IgG_QuantiSpike_TK040_V02

Редакция 2 от 29.03.2021г.

С вопросами и пожеланиями по работе набора обращайтесь к производителю:



Vitrotest Bioreagent LLC, 18В Boychuka street, 56, Kiev, 01103, Ukraine
ООО "Витротест Биореагент", ул. Бойчука М. 18Б, 56, г. Киев, 01103, Украина
tel.: +38(044)222-76-72,
e-mail: info@vitrotest.ua, www.vitrotest.ua



Vitrotest Europe Sp. z O.O.
ul. Krakowska 139-141, 50-428, Wrocław, Poland
tel.: +48-88-2950379,
e-mail: info@vitrotest.pl, www.vitrotest.pl



Vitrotest® SARS-CoV-2 IgG QuantiSpike™

СХЕМА АНАЛИЗА



Выдержать все реагенты не менее 30 минут при 18-25°C перед использованием



В лунки **PREDILUTION PLATE** внести по 90µl **SAMPE PREDILUENT** (коричнево-зелёный цвет) и по 10µl калибраторов, положительного контроля и образцов (цвет меняется с коричнево-зелёного на синий)



Внести в лунки **ELISA STRIPS** по 90µl **SAMPLE DILUENT** (жёлтый цвет) и по 10µl предварительно разведённых калибраторов, положительного контроля и образцов соответственно:

A1, B1, C1, D1, E1, F1 - **CAL 200**, **CAL 100**, **CAL 50**, **CAL 25**, **CAL 0** и **CONTROL +**.

G1 и остальные лунки – исследуемые образцы (цвет меняется с жёлтого на зелёный)



Заклеить стрипы пленкой, инкубировать 30 минут при 37°C



Промыть лунки 5 раз разведённым 1:20 (1+19) раствором для промывания Tw20 (300µl в лунку)



Внести по 100µl **CONJUGATE SOLUTION** в каждую лунку (фиолетовый цвет)



Заклеить стрипы пленкой, инкубировать 30 минут при 37°C



Промыть лунки 5 раз разведённым 1:20 (1+19) раствором для промывания Tw20 (300µl в лунку)



Внести по 100 µl **TMB SOLUTION** в каждую лунку



Инкубировать 30 минут в тёмном месте при 18-25°C



Остановить реакцию внесением по 100µl **STOP SOLUTION** (цвет меняется с синего на жёлтый)



Определить оптическую плотность (OD) при 450/620-695nm

Построить калибровочный график, определить концентрацию ВАУ/мл специфичных к spike-белку коронавируса SARS-CoV-2 антител класса IgG в исследуемых образцах.

Провести учёт результатов анализа соответственно таблице:

Концентрация IgG	Интерпретация
> 25 ВАУ/мл	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ
20-25 ВАУ/мл	НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ*
< 20 ВАУ/мл	ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ

**СЕРТИФИКАТ КАЧЕСТВА (ПАСПОРТ)
на иммуноферментную тест-систему
«Vitrotest® SARS-CoV-2 IgG QuantiSpike™»
для количественного определения антител класса IgG к
Spike-белку коронавируса SARS-CoV-2**

Серия: 0321

Дата изготовления: 2021-04-02

Срок годности: 2022-04-02

Каталожный номер и вариант комплектации: ТК040 96-1Т

Комплектность тест-системы и срок годности компонентов

Компонент	Серия	Срок годности
ИФА-планшет	0321	2022/12/31
Калибратор 0	0321	2023/01/01
Калибратор 25	0321	2023/01/01
Калибратор 50	0321	2023/01/01
Калибратор 100	0321	2023/01/01
Калибратор 200	0321	2023/01/01
Положительный контроль	0321	2023/01/01
Раствор для промывания Tw20 (20x) (концентрат)	0221	2023/03/04
Раствор для предварительного разведения сывороток	0221	2023/03/23
Раствор для разведения сывороток	0321	2022/12/30
Раствор конъюгата	0321	2022/12/30
Раствор ТМБ	0321	2023/03/02
Стоп-реагент	0121	2023/01/19
Планшет для предварительного разведения образцов	x	Неограниченный
Клейкая пленка	x	Неограниченный
Бланк внесения проб	x	Неограниченный
Бланк калибровочного графика	x	Неограниченный
Инструкция	Редакция 2	Неограниченный

Диагностические характеристики тест-системы

Показатель	Результат контроля	Требования нормативной документации
ОП Калибратор 0 (450/620 нм)	0,019 ОЕ	≤ 0,100 ОО
ОП Калибратор 25 (450/620 нм)	0,353 ОЕ	≥ 0,120 ОО
ОП Калибратор 50 (450/620 нм)	1,066 ОЕ	-
ОП Калибратор 100 (450/620 нм)	2,095 ОЕ	-
ОП Калибратор 200 (450/620 нм)	3,334 ОЕ	≥ 1,500 ОО
Положительный контроль (450/620 нм)	89,4 ВАУ/ml	51-119 ВАУ/ml
Чувствительность на внутрипроизводственной панели сывороток	100 %	100 %
Специфичность на внутрипроизводственной панели сывороток	100 %	100 %

Вывод:

Иммуноферментная тест-система «Vitrotest SARS-CoV-2 IgG QuantiSpike™» для количественного определения антител класса IgG к Spike-белку коронавируса SARS-CoV-2 серии 0321 соответствует требованиям ТУ У 24.4-36555928-001:2011 и инструкции по применению.

Дата: 2021/04/06

Документ сгенерирован в электронном виде.

Действителен без подписи.