



ИммуноФерментный Анализ

SARS-CoV-2 IgG

В к л а д ы ш к н а б о р у



SARS-CoV-2 IgG

Иммуноферментный анализ для качественного выявления IgG-антител, специфичных к спайк-белку SARS-CoV-2 S1-RBD в сыворотке или плазме крови человека

REF
I20053

Состав набора

1 x 96 лунок (8 x 12 стрипов, покрытых антигенами)

Только для профессиональной ин-витро диагностики

ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Метод	Иммуноферментный анализ
Срок годности	Смотрите срок годности на сертификате анализа и этикетках
Хранение	2-8°C

НАЗНАЧЕНИЕ

Иммуноферментный набор DIALAB SARS-CoV-2 IgG предназначен для качественного выявления IgG-антител, специфичных к спайк-белку SARS-CoV-2 S1-RBD в сыворотке или плазме крови человека, а также для мониторинга выздоровевших пациентов.

Результаты тестирования на антитела не должны использоваться в качестве единственной основы для диагностики или исключения инфекции SARS-CoV-2. Он не предназначен для скрининга в общей популяции.

ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Вспышка коронавирусной болезни 2019 года (COVID-19) создала серьезную угрозу для глобального общественного здравоохранения, требуя разработки безопасных и эффективных профилактических и терапевтических средств против инфекции ее возбудителя, тяжелого острого респираторного синдрома коронавируса 2 (SARS-CoV-2), также известного как новый коронавирус 2019 года (2019-nCoV).

Спайк-белок CoV (S) играет наиболее важную роль в прикреплении вируса, слиянии и проникновении, а также служит мишенью для разработки антител, ингибиторов проникновения и вакцин.¹ Известно, что спайк гликопротеин (S) коронавируса играет важную роль в связывании вируса с клеткой-хозяином в начале инфекционного процесса. Наиболее заметным является тяжелый острый респираторный синдром (SARS). Спайк-белок коронавируса (SARS-CoV) гликопротеин (S), вызывающий тяжелый острый респираторный синдром, сам по себе может опосредовать слияние мембран, необходимое для проникновения вируса и слияния клеток. Он также является основным иммуногеном и мишенью для ингибиторов входа. Спайк-белок (S) SARS-CoV-2 состоит из двух субъединиц: субъединица S1 содержит рецепторсвязывающий домен (RBD), который взаимодействует с рецепторным ангиотензинпревращающим ферментом клетки-хозяина, а субъединица S2 опосредует слияние между вирусной и клеточной мембранами хозяина. Белок S1-RBD играет ключевую роль в индукции нейтрализующих антител и Т-клеточных реакций, а также защитного иммунитета во время инфекции SARS-CoV-2 (2019-nCoV), как и в недавней вспышке COVID-19.²

ПРИНЦИП ТЕСТА

Непрямой. Общая продолжительность анализа: **70 минут**

Полистирольные плашки с микролунами предварительно покрыты рекомбинантными антигенами SARS-CoV-2 (спайк-белок S1-RBD), экспрессируемыми в клетках насекомых. Добавляется образец сыворотки или плазмы пациента, и на первом этапе инкубации специфические антитела SARS-CoV-2 S1-RBD IgG, если они присутствуют, захватываются внутри лунок. Затем плашки промывают для удаления несвязанных сывороточных белков.

Затем добавляются мышиные антитела к человеческому IgG, конъюгированные ферментом пероксидазой хрена (ферментный конъюгат), и во время второй инкубации они связываются с захваченными антителами.

Микролуны промывают для удаления несвязанного конъюгата и добавляют в них раствор субстрата. В лунках, содержащих иммунокомплекс антиген-антитело-анти-IgG(HRP), хромогены гидролизуются связанным ферментным конъюгатом до продукта синего цвета. Синий цвет становится желтым после того, как реакция прекращается с помощью стоп-раствора.

Интенсивность цвета можно измерить и оно пропорционально количеству антител, захваченных в лунках, и, соответственно, в пробе. Лунки с пробами отрицательными к SARS-CoV-2 S1-RBD IgG остаются бесцветными.

РЕАГЕНТНЫЙ СОСТАВ

Микроплашка с покрытием	8 x 12 стрипов, 96 лунок покрыта рекомбинантными антигенами SARS-CoV-2 (S1-RBD)
Ферментный конъюгат	1 флакон, 11 мл HRP (пероксидаза хрена) меченая мышинными антителами к человеческому IgG. Содержит 0,1% консерванта Проклин300.
Разбавитель пробы	1 флакон, 11 мл, готовы к использованию
Полож. контроль	1 флакон, 0.3 мл
Отрицат. контроль	1 флакон, 0.3 mL
Промывоч раствор	1 флакон, 30 мл (20x концентрат) PBS-Tween промыв. р-р
Раствор субстрата	1 флакон, 11 мл, готов к использованию TMB (тетраметилбензидин)
Стоп-раствор	1 флакон, 6 мл
Вкладыш к набору	1 шт
Крышка плашки	2 шт

МАТЕРИАЛЫ, ТРЕБУЕМЫЕ, НО НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ

- ☐ Плащечный фотометр с длиной волны 450 Нм и 620 Нм
- ☐ Вошер для плашек
- ☐ Инкубатор
- ☐ Шейкер для плашек
- ☐ Микропипетки и многоканальные микропипетки на 100, 50 и 10 мкл с точностью более 1,5%
- ☐ Впитывающая бумага
- ☐ Дистиллированная или деионизированная вода

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

Доведите реагенты до комнатной температуры (18-25°C). Проверьте концентрат промывочного буфера на наличие кристаллов соли. Если кристаллы образовались, нагрейте концентрат до 37°C, пока кристаллы не растворятся. Разбавьте промывочный буфер (20X), как указано в инструкции по промывке. Используйте дистиллированную или деионизированную воду и только чистые емкости для разбавления буфера.

Все остальные реагенты **готовы к использованию**.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Компоненты набора остаются стабильными до истечения срока годности, указанного на этикетке и упаковке, при хранении при температуре 2-8°C. Не замораживать. Не допускайте загрязнения набора микроорганизмами или химическими веществами во время хранения. Компоненты следует использовать в течение 2 месяцев после первого вскрытия. Разведенный промывочный буфер следует использовать в течение 30 дней.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- ☐ До начала работы внимательно прочитайте инструкцию к набору. Данный тест не может быть использован в качестве единственной основы для диагностики или исключения инфекции SARS-CoV-2. Он не предназначен для скрининга в общей популяции.
- ☐ Только для диагностики in vitro. Только для профессионального использования.
- ☐ Не смешивайте реагенты разных лотов и не используйте реагенты из других коммерчески доступных наборов. Компоненты набора точно подобраны для оптимального проведения анализа.
- ☐ Убедитесь, что все компоненты набора находятся в пределах срока годности, указанного на упаковке набора, и принадлежат одному лоту. Никогда не используйте реагенты после истечения срока годности.

- **Внимание-критический шаг:** до начала работы доведите реагенты и пробы до $t\ 18-25^{\circ}\text{C}$. Осторожно встряхните реагенты. После окончания работы немедленно верните их в $t\ 2-8^{\circ}\text{C}$.
- Используйте точно такой объем образца, какой указан в процедуре теста. Невыполнение этого требования может привести к низкой чувствительности анализа.
- Не прикасайтесь ко дну лунок: отпечатки пальцев или царапины могут помешать считыванию. При считывании убедитесь, что поверхность плашки сухая и внутри лунок нет пузырьков воздуха.
- Ни в коем случае не позволяйте лункам плашки высохнуть после этапа промывки. Немедленно переходите к следующему шагу. Избегайте пузырьков воздуха при добавлении реагентов.
- Избегайте длительных перерывов между этапами, соблюдайте одинаковые условия процедуры для всех лунок.
- Часто калибруйте пипетки, чтобы обеспечить точность дозирования. Используйте разные наконечники пипеток для каждой пробы и реагента, чтобы избежать перекрестного загрязнения.
- Убедитесь, что температура инкубации составляет 37°C .
- При добавлении образцов не прикасайтесь кончиком пипетки ко дну лунки.
- При измерении с помощью фотометра, установите длину волны поглощения 450 Нм или 450/630 Нм.
- На ферментативную активность ферментного конъюгата могут влиять пыль, реактивные химические вещества, а также гипохлорит натрия, кислоты, щелочи и т. д. Не проводите анализ в присутствии этих веществ.
- При работе на полностью автоматическом оборудовании во время инкубации не накрывайте плашки сверху. Этап выстукивания жидких остатков из лунок после промывки также можно пропустить.
- Все образцы человеческого происхождения должны рассматриваться как потенциально-инфекционные. Необходимо строго соблюдать правила GLP (надлежащая лабораторная практика). **Предупреждение:** при производстве контролей для данного набора могут быть использованы материалы человеческого происхождения. Эти материалы тестируются соответствующим образом и признаются отрицательными на антитела к ВИЧ 1/2, HCV, TP и HBsAg. Однако не существует аналитического метода, который мог бы гарантировать полное отсутствие инфекционных агентов в образцах или реагентах. Поэтому обращайтесь с реактивами и образцами с особой осторожностью, как с инфекционно опасными. Сыворотки крупного рогатого скота были использованы для стабилизации положительного и отрицательного контролей. Бычий сывороточный альбумин (BSA) и фетальные телячьи сыворотки (FCS) получены от животных из географических районов, где не зафиксированы случаи BSE/TSE.
- Не ешьте, не пейте, не курите и не наносите косметику в лаборатории. Никогда не пипетируйте растворы ртом.
- Химические вещества должны обрабатываться и утилизироваться только в соответствии с действующим GLP (надлежащая лабораторная практика) и местными или национальными правилами.
- Наконечники пипеток, флаконы, полоски и емкости для образцов необходимо автоклавировать не менее 2 ч при $t\ 121^{\circ}\text{C}$, либо обработать 10% - ным гипохлоритом натрия в течение 30 минут перед любыми дальнейшими этапами утилизации. Растворы, содержащие гипохлорит натрия, НЕЛЬЗЯ подвергать автоклавированию. Паспорт безопасности (MSDS) предоставляется по запросу.
- Некоторые реагенты могут быть токсичными, вызывать раздражение или ожоги или оказывать канцерогенное действие в качестве сырья. Следует избегать контакта с кожей и слизистой оболочкой следующих реагентов: стоп-раствор, субстратный раствор и промывочный буфер.
- Стоп-раствор 1 м H_2SO_4 представляет собой кислоту. Используйте его с осторожностью. Немедленно вытирайте место пролива и промывайте водой в случае попадания на кожу или в глаза.
- 0,1% ПроКлин 300, используемый в качестве консерванта, может вызвать раздражение кожи. Немедленно вытирайте места пролива и промойте водой в случае попадания на кожу или в глаза.

СБОР И ХРАНЕНИЕ ПРОБ

- Соберите пробы сыворотки крови в соответствии с надлежащей медицинской практикой.
- Никакой специальной подготовки пациента не требуется. Для этого анализа можно использовать свежие образцы сыворотки и плазмы. Кровь, собранная с помощью венопункции, должна стечь полностью естественным образом; сыворотку/плазму необходимо как можно скорее отделить от сгустка, чтобы избежать гемолиза эритроцитов. Пробы сыворотки должны быть чистыми и не загрязненными микроорганизмами. Любые видимые частицы в пробе должны быть удалены центрифугированием при 3000 об/мин в теч. 20 минут при комн. температуре, или фильтрованием.
- Можно тестировать пробы плазмы, собранные с ЭДТА, цитратом натрия или гепарином. **Нельзя использовать пробы с высокой липемией, желтухой или гемолитическими препаратами,** так как они могут дать ложные результаты. **Не нагревайте инактивированные пробы.** Это может привести к деградации целевого анализата. Ни в коем случае нельзя использовать пробы с видимым микробным загрязнением.

- Этот набор предназначен только для тестирования индивидуальных образцов сыворотки или плазмы крови. Не годен для анализа образцов трупов, слюны, мочи или других жидкостей организма, а также пулированной (смешанной) крови.
- **Транспортировка и хранение:** храните пробы при t 2-8°C. Пробы, не тестируемые в течение 7 дней, должны храниться при t -20°C или ниже. Следует избегать многократных циклов замораживания - оттаивания. При транспортировке пробы необходимо упаковать и маркировать в соответствии с местными и международными правилами перевозки клинических проб и этиологических агентов.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

- Доведите реагенты до комнатной температуры (18-25°C).
- **Подготовка:** Отметьте две лунки как отрицательный контроль (напр., B1, C1), две лунки как положительный контроль (напр., D1, E1) и одну холостую лунку (напр., A1, в холостую лунку не добавляются ни пробы, ни ферментный конъюгат). Если результаты будут определяться с помощью двухволнового фотометра, требования к холостой лунке не применяются. Используйте только то количество стрипов, которое необходимо для теста.

1. Добавление разбавителя пробы	Добавьте 100 мкл разбавителя пробы в соответствующие лунки за исключением холостой лунки.
2. Добавление пробы	Добавьте 10 мкл положительного контроля, отрицательного контроля и пробу в соответствующие лунки за исключением холостой лунки. Смешайте, слегка постукивая по плашке. Используйте отдельный одноразовый наконечник пипетки для каждой пробы, чтобы избежать перекрестного загрязнения. Примечание: после добавления пробы реагенты в лунках меняют цвет с зеленого на синий.
3. Инкубация	Накройте плашку крышкой и инкубируйте 30 минут при t 37°C.
4. Промывка	В конце инкубации снимите и выбросьте крышку плашки. Промойте каждую лунку 5 раз разбавленным промыв. Буфером, каждый раз замачивая лунки на 30-60 сек. После последнего цикла промывания переверните плашку на впитывающую бумагу или чистое полотенце и постучите ей, для удаления остатков жидкости.
5. Добавление конъюгата	Добавьте 100 мкл ферментного конъюгата в каждую лунку за исключением холостой лунки.
6. Инкубация	Накройте плашку крышкой и инкубируйте 30 минут при t 37°C.
7. Промывка	В конце инкубации снимите и выбросьте крышку. Промойте каждую лунку 5 раз разведенным промывочным буфером. Каждый раз замачивайте лунку на 30-60 сек. После последнего цикла промывания переверните плашку на впитывающую бумагу или полотенце и постучите ею для удаления остатков жидкости
8. Окрашивание	Добавьте 100 мкл раствора субстрата в каждую лунку, включая холостую лунку. Инкубируйте плашку при комнатной температуре в темноте 10 минут. Ферментативная реакция между раствором субстрата и ферментным конъюгатом продуцирует синий цвет в положительном контроле и в лунках с положительными пробами на антитела IgG к SARS-CoV-2 S1-RBD
9. Прекращение реакции	Используя многоканальную пипетку или вручную добавьте 50 мкл стоп-раствора в каждую лунку и аккуратно смешайте. В полож. контроле и лунках с положит. пробами на антитела IgG к SARS-CoV-2 S1-RBD разовьется интенсивный желтый цвет.
10. Измерение абсорбции	Откалибруйте фотометр с помощью холостой лунки и считайте абсорбцию при 450 Нм. Если используется прибор с двойным фильтром, установите эталонную длину волны на 630 Нм. Рассчитайте пограничное значение и оцените полученные результаты. (Примечание: считайте абсорбцию в течение 10 минут после остановки реакции).

ИНСТРУКЦИИ ПО ПРОМЫВАНИЮ

- Для получения правильных аналитических данных важно строго соблюдать процедуру промывки.
- Рекомендуется использовать высококачественный промыватель ИФА плашек с наилучшими характеристиками промывки. В целом, не менее 5 автоматических циклов промывки 350-400 мкл/лунка необходимо для того, чтобы избежать ложноположительных реакций и высокого фона.

- ☐ Чтобы избежать перекрестного загрязнения плашки пробами или ферментным конъюгатом, после инкубации не выбрасывайте содержимое лунок, а дайте вошеру аспирировать его автоматически
- ☐ Убедитесь, что каналы дозирования жидкости вошера не забиты и не загрязнены, и в лунки подается достаточный объем промывочного буфера.
- ☐ В случае ручной промывки мы предлагаем провести 5 циклов промывки, дозируя 350-400 мкл/лунка и аспирируя жидкость в течение 5 раз. При подозрении на ложные результаты (высокий фон), увеличьте циклы промывки или время замачивания в лунке.
- ☐ В любом случае жидкость, отсасываемую из стрипов, следует обработать раствором гипохлорита натрия с конечной концентрацией 2,5% в течение 24 часов, прежде чем она будет утилизирована.
- ☐ Перед использованием концентрированный промывочный буфер следует развести 1:20. Если используется меньше целой плашки, приготовьте пропорциональный объем раствора.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

- ☐ Вычислите среднее значение абсорбции отрицательного контроля (xNC)
- ☐ Рассчитайте пограничное значение по следующим формулам :
 - **положительное пограничное значение = $1.1 \times (xNC + 0.18)$**
 - **отрицательное пограничное значение = $0.9 \times (xNC + 0.18)$**
- ☐ Определите значение пробы в сравнении с оптической плотностью, представленной в таблице:

Интерпретация	Интервал	Результаты
Отрицательный	Получен. знач $\leq$ отрицат погр. знач.	В пробе нет антител IgG к SARS-CoV-2
Положительный	Получен. знач $\geq$ полож. погр. знач	В пробе есть антитела IgG к SARS-CoV-2
Погранич. знач.	Отриц. погр. знач. $<$ получен. знач. $<$ положит. погр. знач.	Повторно тестируйте пробы в сочетании с другими клиническими тестами.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

- ☐ А-значение холостой лунки, которая содержит раствор субстрата и стоп-раствор, должно быть < 0.100 при 450 nm.
- ☐ А-значение положит. контроля д.б. ≥ 0.800 при 450/630 nm или при 450 nm после измер. хол лунки.
- ☐ А-значение отрицат. контроля д.б. < 0.100 при 450/630 nm или при 450 nm после измер. хол лунки.
- ☐ Если одно из А-значений отрицательных контрольных лунок не соответствует критериям контроля качества, то его следует забраковать, а среднее значение пересчитать на основе значений оставшихся отрицательных контрольных лунок. Если А-значение более, чем одной отрицательной контрольной лунки не соответствует критериям контроля качества, то тест является недействительным и должен быть повторен.

Признаки ухудшения качества реагента :

Значения положительного или отрицательного контроля, выходящие за пределы указанного диапазона контроля качества, являются индикаторами возможного ухудшения качества реагентов и/или ошибок оператора или оборудования. В этом случае результаты должны быть признаны недействительными и образцы должны быть повторно протестированы. В случае постоянных ошибочных результатов и доказанного ухудшения качества или нестабильности реагентов, немедленно замените их новыми.

ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

- ☐ **Специфичность:**
Исследование 756 проб с использованием ИФА набора DIALAB показало, что специфичность ИФА набора SARS-CoV-2 IgG составила 98.15% (742/756).
- ☐ **Чувствительность:**
171 подтвержденная положительная проба SARS-CoV-2 IgG была протестирована с использованием ИФА набора DIALAB SARS-CoV-2 IgG: 165 проб продемонстрировали положительный результат. Таким образом, чувствительность теста составляет 96,49%.

При тестировании согласно эталонам производителя соблюдаются следующие стандарты: коэффициент соответствия положительного эталона P1 равен 1/1; коэффициент соответствия отрицательного эталона N1-N10 равен 10/10. Согласно эталону тестового предела (S1-S5) S1-S3 должен быть положительным, S4-положительным или отрицательным, а S5-отрицательным. Коэф. отклонения не выше 15%.

Аналитическая специфичность:

- Перекрестная реактивность не наблюдалась с пробами положительными к RSV IgG и MP IgG.
- Влияния ревматоидного фактора до 2000 Ед/мл не наблюдается.
- На эксплуатационные характеристики этого анализа не влияют повышенные концентрации билирубина, гемоглобина и триолеина.

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Пробы при клинических испытаниях показали опт. плотн. 0,213-2,765 для положительных значений и 0,040 – 0,153 для отрицательных значений. Эти значения не должны использоваться вместо интерпретации результатов расчета.

ОГРАНИЧЕНИЯ

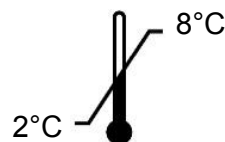
- Этот тест является качественным. Он не является достаточным для постановки диагноза и назначения лечения. Инфицирование новым коронавирусом (COVID-19) должно подтверждаться клиническими признаками в сочетании с другими тестами.
- В первую неделю или через четыре недели после инфицирования новым коронавирусом (COVID-19) результаты на IgM м.б. отрицательными. Также отрицательные результаты могут быть получены на пробах пациентов с низким иммунитетом или заболеваниями, ослабляющими иммунную функцию, недостаточностью системных органов и принимающими препараты, подавляющие иммунную функцию.
- Бактериальное или грибковое загрязнение проб сыворотки или реагентов, или перекрестное загрязнение между реагентами может привести к ошибочным результатам.
- Вода, деионизированная полиэфирными смолами, может активировать фермент пероксидазы хрена.
- Отрицательные результаты не исключают заражения SARS-CoV-2, особенно у тех, кто контактировал с вирусоносителем.
- Для исключения инфекции у этих лиц следует рассмотреть возможность последующего тестирования с молекулярной диагностикой.
- Результаты тестирования на антитела не являются единственной основой для диагностики или исключения инфекции SARS-CoV-2 или для информирования о статусе инфекции.
- Положительные результаты могут быть обусловлены прошлым или настоящим заражением штаммами коронавируса, не относящимися к SARS-CoV-2, такими как коронавирус HKU1, NL63, OC43 или 229E

УТИЛИЗАЦИЯ

Реагенты должны утилизироваться в соответствии с местным законодательством.

ЛИТЕРАТУРА

1. <https://www.nature.com/articles/s41423-020-0400-4>
2. <https://science.sciencemag.org/content/early/2020/04/02/science.abb7269>



ELISA Enzyme Linked Immunosorbent Assay



DIALAB Produktion und Vertrieb von chemisch – technischen Produkten
und Laborinstrumenten Gesellschaft m.b.H.
A – 2351 Wiener Neudorf, Austria, IZ-NÖ Süd, Hondastrasse, Objekt M55
Phone: ++43 (0) 2236 660910-0, Fax: ++43 (0) 2236 660910-30
e-mail: office@dialab.at

Диаквик COVID-19 IgG/IgM кассета

Для обнаружения антител в цельной крови, сыворотке и плазме человека

REF	Содержание
Z20101CE	- 25 тестовых кассет, индивидуально упакованных в пакеты из фольги, с капельницей и осушителем (25x REF Z20101B) - 1 буфер - 1 вкладыш к набору

Только для профессиональной ин-витро диагностики

ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Метод иммунохроматографический анализ с боковым потоком
Хранение 2-30 °C

НАЗНАЧЕНИЕ

Кассета DIAQUICK COVID-19 IgG/IgM представляет собой твердофазный иммунохроматографический анализ для быстрого, качественного и дифференциального обнаружения антител IgG и IgM к новому коронавирусу 2019 в цельной крови, сыворотке или плазме человека. Данный тест дает только предварительный результат. Поэтому любой образец, демонстрирующий положительный результат кассетой DIAQUICK COVID-19 IgG / IgM должен быть подтвержден альтернативным методом тестирования и данными клинического обследования.

ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Коронавирусы-это РНК-вирусы, распространенные среди людей, других млекопитающих и птиц и вызывающие респираторные, кишечные, печеночные и неврологические заболевания. Известно, что семь видов коронавирусов вызывают заболевания у людей. Четыре вируса-229E, OC43, NL63 и HKU1 – распространены и обычно вызывают симптомы простуды у иммунокомпетентных людей. Остальные три штамма – коронавирус тяжелого острого респираторного синдрома (SARS-CoV), коронавирус ближневосточного респираторного синдрома (MERS-CoV) и новый коронавирус 2019 г. (COVID-19) - имеют зоонозное происхождение и иногда приводят к заболеванием с фатальным исходом. Антитела IgG и IgM против нового коронавируса 2019 года могут быть обнаружены через 1-3 недели после воздействия. IgG остается положительным, но уровень антител со временем снижается.

ПРИНЦИП ТЕСТА

Кассета DIAQUICK COVID-19 IgG/IgM представляет собой иммунохроматографический анализ с боковым потоком. Тест использует антитела к человеческому IgM (тестовая линия IgM), антитела к человеческому IgG (тестовая линия IgG) и козы антигены к кроличьему IgG (контрольная линия C), иммобилизованные на нитроцеллюлозном стрипе. Конъюгатная прокладка бордового цвета содержит коллоидное золото, конъюгированное рекомбинантными антигенами COVID-19, конъюгированными коллоидным золотом (конъюгатами COVID-19) и кроличьими IgG-золотыми конъюгатами. Когда образец и далее буфер добавляются в тестовую лунку, антитела IgM и/или IgG, если они присутствуют, связываются с конъюгатами COVID-19, таким образом образуют комплексы антиген-антитело. Этот комплекс мигрирует через капилляры нитроцеллюлозной мембраны. Когда комплекс достигает тестовой линии, появляется полоса бордового цвета, которая подтверждает реакцию. Отсутствие цветной полосы в тестовой области указывает на неактивность теста. Изменение цвета контрольной полосы с синего на красный, указывает на то, что был добавлен правильный объем образца и мембрана была увлажнена.

СОСТАВ НАБОРА

25 инд. упаковок из фольги, каждый содержит: тестовую кассету, капельницу и осушитель, 1 буфер и 1 вкладыш к набору.

МАТЕРИАЛЫ, ТРЕБУЕМЫЕ, НО НЕ ВХОДЯЩИЕ В СОСТАВ НАБОРА

- Емкости для сбора образцов
- Центрифуга (только для плазмы)
- Пробирки для капиллярной крови с гепарином и дозирующая колба (только для взятия крови из пальца)
- Ланцеты (только для взятия крови из пальца)
- таймер

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТА

Тест готов к использованию.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Набор можно хранить при комнатной температуре или в холодильнике (2-30 °C). Тест стабилен до истечения срока годности, указанного на упаковке. Тест необходимо хранить в запечатанной упаковке до начала использования. Не замораживать. Не использовать после истечения срока годности.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Только для профессиональной диагностики ин-витро. Не использовать после истечения срока годности
- Перед проведением теста прочитайте данный вкладыш до конца.
- Несоблюдение этого требования может привести к ложным результатам.
- Не используйте набор, если капельница/упаковка повреждены или сломаны.
- Набор предназначен только для разового использования. Не используйте его повторно ни при каких обстоятельствах.
- Обращайтесь со всеми образцами так, как будто они содержат инфекционные агенты. Соблюдайте меры предосторожности против микробиологической опасности и утилизируйте образцы по стандартной процедуре.
- При проведении анализа надевайте защитную одежду: лабораторные халаты, одноразовые перчатки и средства защиты глаз.
- Влажность и температура могут отрицательно сказаться на результатах.
- Не проводите анализ в помещении с сильным потоком воздуха.

СБОР И ХРАНЕНИЕ ПРОБ

- DIAQUICK COVID-19 IgG/IgM кассета предназначена для работы с цельной кровью, сывороткой или плазмой. Отделите сыворотку или плазму от крови как можно скорее, чтобы избежать гемолиза. Используйте только прозрачные, негемолизированные образцы.
- Тестирование должно проводиться сразу же после сбора проб. Не оставляйте пробы при комнатной температуре в течение длительного времени. Пробы сыворотки и плазмы можно хранить при температуре 2-8 °C в течение 3 дней. Температура для длительного хранения ниже -20 °C. Цельная кровь, собранная с помощью венопункции, хранится при температуре 2-8 °C в течение 2 дней. Не замораживайте образцы цельной крови. Цельную капиллярную кровь тестировать следует немедленно

F 011_003

Перед проведением теста доведите пробы до комнатной температуры. Замороженные пробы необходимо полностью разморозить и хорошо перемешать. Пробы нельзя замораживать и размораживать повторно.
□ Для транспортировки пробы должны быть упакованы в соответствии с местными правилами перевозки этиологических агентов.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

До начала теста доведите тестовую кассету, пробу, буфер и/или контроли до комнатной температуры (15-30 °C).

1. Доставляйте кассету из упаковки непосредственно перед началом процедуры теста possible. Рекомендуется проводить процедуру теста в течение 1 часа после забора крови.

2. Разместите тестовую кассету на чистой ровной поверхности

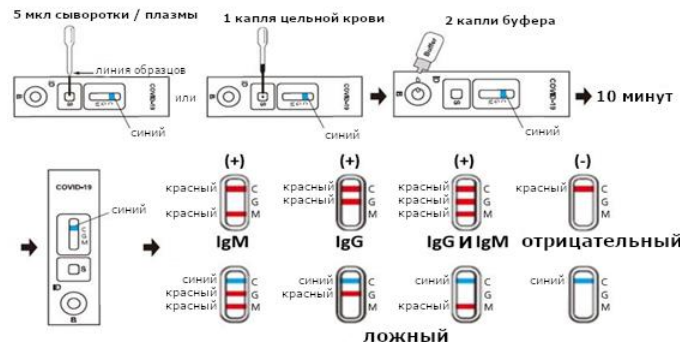
Для образцов сыворотки или плазмы:

Используя пластиковую миникапельницу, поставляемую в комплекте, нанесите 5 мкл пробы (набирайте до уровня пробы) сыворотки/плазмы в лунку для пробы (S), как показано на рисунке. Затем немедленно добавьте 2 капли (около 80 мкл) буфера пробы в буферную лунку (B). Избегайте образования пузырьков.

Примечание: Потренируйтесь несколько раз перед началом теста, если вы не знакомы с мини-капельницей. Для уверенности воспользуйтесь пипеткой с возможностью дозирования 5 мкл.

Для образцов цельной крови:

Держите пластиковую миникапельницу вертикально и перенесите 1 каплю цельной крови (около 10 мкл) в лунку для пробы (S) кассеты. Затем немедленно добавьте 2 капли (около 80 мкл) буфера для пробы в буферную лунку (B). Избегайте образования пузырьков воздуха. Подождите, пока появится(ятся) цветная(ые) линия(и). Результат должен быть считан через 10 минут. Положительные результаты можно увидеть уже через 2 минуты. Не интерпретируйте результат через 15 минут.



ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Отрицательный: окрашенная полоса в контрольной зоне (C) меняет цвет с синего на красный. В тестовых зонах M или G окрашенных полос не появляется. Тест отрицательный

IgM положительный: окрашенная полоса в контрольной зоне (C) меняет цвет с синего на Красный, окрашенная полоса появляется в зоне M. Тест положителен к антителам COVID-19 IgM.

IgG положительный: окрашенная полоса в контрольной зоне (C) меняет цвет с синего на красный, окрашенная полоса появляется в зоне G. Тест положителен к антителам COVID-19 IgG.

IgG и IgM положительный: окрашенная полоса в контрольной зоне (C) меняет цвет с синего на красный, две окрашенных полосы появляются в зонах M и G. Тест положителен к антителам COVID-19 IgM и IgG одновременно.

Ложный: полоса в контрольной зоне остается синей полностью или частично, не меняет цвет на красный полностью. Причиной этому могут недостаточный объем пробы либо нарушение техники проведения процедуры анализа. Перепроверьте технику проведения процедуры и повторите тест с новой кассетой. Если проблема остается, прекратите пользоваться тестом и обратитесь к местному дистрибьютору.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА И КАЛИБРОВКА

В состав набора входит процедурный контроль, им является красная полоса, появляющаяся в контрольной зоне (C). Она подтверждает, что было взято достаточное количество пробы и процедура тестирования проведена корректно. Стандарты с данным набором не поставляются. Однако применение положительного и отрицательного контролей рекомендуется в целях соблюдения надлежащей лабораторной практики и для того, чтобы убедиться в достоверности результатов тестирования.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Клиническое значение

Эффективность набора DIAQUICK COVID-19 IgG/IgM проверялась на 113 образцах крови, полученными от пациентов с пневмонией или респираторными симптомами. Результаты сравнивали с РТ-ПЦР или клиническим диагнозом (включая компьютерную томографию грудной клетки, клинические признаки и т.д.) "Диагностика и лечение новой коронавирусной пневмонии". Сравнение с РТ-ПЦР по результатам теста на IgM.

Метод		РТ-ПЦР		Итого
		Положител.	Отрицател.	
Кассета DIAQUICK COVID-19 IgG/IgM	Положительный	87	0	87
	Отрицательный	12	14	26
Итого		99	14	113

Что касается IgG, то мы обнаружили, что в период выздоровления он встретился у 36 пациентов из 113

Метод		Число пациентов в период выздоровления		Итого
		Полож.	Отриц.	
Кассета DIAQUICK COVID-19 IgG/IgM	Полож.	35	1	36
	Отриц.	1	1	2
Итого		36	2	38

Чувствительность теста по IgM 87.9%, специфичность 100% (14/14) (в сравнении с РТ-ПЦР. В период выздоровления чувствительность теста по IgG 97.2% (35/36), специфичность 100% (14/14).

ОГРАНИЧЕНИЯ

- По возможности используйте свежие образцы. Замороженные и оттаявшие образцы (особенно многократно) содержат частицы, способные блокировать мембрану. Это замедляет поток реагентов и может привести к усилению цвета фона, что затрудняет интерпретацию результатов.
- Строго соблюдайте процедуру, описанную в данном вкладыше. Нарушения требований к проведению процедуры могут привести к неверным результатам.
- Отрицательный результат теста указывает на отсутствие антител к COVID-19. Однако отрицательный результат может иметь место, если количество антител к COVID-19, присутствующих в образце, ниже пределов обнаружения данным тестом, или если антитела, подлежащие обнаружению, не присутствуют во время стадии заболевания, на которой собирается образец.
- Необычно высокий титр гетерофильных антител или ревматоидного фактора могут повлиять на результаты теста.
- Как во всех других случаях, окончательный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного теста, а должен быть поставлен врачом только после оценки всех клинических и лабораторных результатов.

УТИЛИЗАЦИЯ

В соответствии с требованиями местного законодательства.

ЛИТЕРАТУРА

1. Weiss SR, Leibowitz JL. Coronavirus pathogenesis. Adv Virus Res 2011; 81: 85-164.
2. Masters PS, Perlman S. Coronaviridae. In: Knipe DM, Howley PM, eds. Fields virology. 6th ed. Lippincott Williams&Wilkins, 2013: 825-58.
3. Su S, Wong G, Shi W, et al. Epidemiology, genetic recombination and pathogenesis of coronaviruses. Trends Microbiol 2016; 24: 490-502.
4. Chi J, Li F, Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. Nat Rev Microbiol 2019; 17: 181-192.



Диакив COVID-19 Ag кассета

Для обнаружения антигена нуклеокапсидного белка в образце мазка из носоглотки

REF
Z20401CE

Содержание

- 20 тестовых кассет, индивидуально упакованных в пакеты из фольги с осушителем (20xREF GCCOV-502a)
- 2 буфера
- 20 стерильных тампонов
- 20 экстракционных пробирок
- 1 бумажная подставка
- 1 вкладыш к набору

Только для профессиональной ин-витро диагностики

ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Метод	иммунохроматографический анализ
Срок годности	24 месяца от даты производства
Storage	2-30°C

НАЗНАЧЕНИЕ

Кассета DIAQUICK COVID-19 Ag представляет собой иммунохроматографический анализ ин витро для качественного обнаружения нуклеокапсидного белкового антигена SARS-CoV-2 в образцах мазков из носоглотки (NP). Он предназначен для оказания помощи в диагностике инфекций SARS-CoV-2. Кассета DIAQUICK COVID-19 Ag не делает различия между SARS-CoV и SARS-CoV-2.

ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Новые коронавирусы относятся к роду β . COVID-19-это острое респираторное инфекционное заболевание. В настоящее время пациенты, инфицированные новым коронавирусом, являются основным источником инфекции; бессимптомные инфицированные люди также могут быть источником инфекции. По данным современных эпидемиологических исследований, инкубационный период составляет от 1 до 14 дней, в основном от 3 до 7 дней. Основные проявления включают лихорадку, усталость, сухой кашель, потерю вкуса и запаха. Заложенность носа, насморк, боль в горле, миалгия и диарея встречаются в некоторых случаях. Этот тест предназначен для обнаружения антигена нуклеокапсидного белка SARS-CoV-2, который обычно обнаруживается в пробах, взятых из верхних дыхательных путей во время острой фазы инфекции.

ПРИНЦИП ТЕСТА

DIAQUICK COVID-19 Ag Cassette (Swab) - это иммунохроматографический мембранный анализ, который использует высокочувствительные моноклональные антитела для обнаружения нуклеокапсидного белка SARS-CoV-2 в носоглоточном (NP) тампоне. Тест-полоска состоит из следующих частей: лунка для образца, лунка для реагента, реакционная мембрана и абсорбирующая подушечка. Лунка для реагента содержит коллоидно-золотое соединение, конъюгированное моноклональными антителами против нуклеокапсидного белка SARS-CoV-2. Реакционная мембрана содержит вторичные антитела к нуклеокапсидному белку SARS-CoV-2. Вся линейка закреплена внутри пластикового штатива. После нанесения пробы в соответствующую лунку высушенные конъюгаты в лунке для реагента растворяются и мигрируют вместе с пробой. При присутствии в пробе антигена SARS-CoV-2 комплекс, образованный конъюгатом антител к SARS-CoV-2 и вирусом, будет захвачен специфическими моноклональными антителами к SARS-CoV-2, нанесенными на полосу тестовой зоны (T). Отсутствие полосы в зоне T говорит об отрицательном результате. Для процедурного контроля в контрольной зоне (C) всегда будет появляться красная линия, указывающая на то, что был добавлен надлежащий объем пробы и произошло увлажнение мембраны.

СОСТАВ РЕАГЕНТА

Буфер: Азид натрия, NaCl, Трис, очищенная вода
 Кассета: моноклональные антитела, частицы коллоидного золота, вторичные антитела

МАТЕРИАЛЫ, ТРЕБУЕМЫЕ, НО НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ

- Таймер

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТА

Тест готов к использованию.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Набор можно хранить при комнатной температуре или в холодильнике (2-30°C).
- Не замораживайте ни один из компонентов набора.
- Не используйте набор после истечения срока годности.
- Кассеты, находившиеся вне упаковки более 1 часа, следует выбросить.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Только для диагностики ин витро.
- Тестовую кассету должно оставаться в упаковке до начала использования.
- Не используйте комплект после истечения срока его годности.
- Тампоны, пробирки и кассеты предназначены только для разового использования.
- Экстракционный буфер содержит раствор с консервантом (0,09% азида натрия). При попадании раствора на кожу или в глаза, промойте их большим количеством воды.
- Растворы, содержащие азид натрия, могут создавать взрывоопасные соединения в свинцовом или медном водопроводе. Используйте большое количество воды при смывании отработанных растворов в раковину.
- Не взаимозаменяйте и не смешивайте компоненты из разных партий.
- При сборе образца мазка из носоглотки используйте тампон, входящий в набор.
- Не используйте визуально кровавые или слишком вязкие образцы.
- При работе с содержимым данного комплекта надевайте соответствующую защитную одежду, перчатки и средства защиты глаз/лица.
- Влажность и температура могут отрицательно сказаться на результате.
- Использованные материалы теста должны утилизироваться в соответствии с местными правилами.

СБОР И ХРАНЕНИЕ ПРОБ

- Используйте тампон для носоглотки, входящий в комплект набора.
- Осторожно вставьте тампон в ноздрю пациента, достигнув задней стенки носоглотки, на которой визуально просматривается наибольшее количество секрета.
- Поворачивая тампон, проведите им по задней поверхности носоглотки.

- Извлеките тампон из полости носа.



Транспортировка проб :

Пробы должны быть подвержены тестированию как можно скорее после сбора. При необходимости транспортировки проб Если требуется транспортировка образцов в вирусной транспортной среде (BTM), рекомендуется минимальное разбавление образца, так как разбавление может привести к снижению чувствительности теста. Удерживая тампон, снимите колпачок с пробирки.

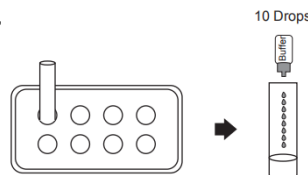
Введите аппликатор с тампоном в пробирку до точки перелома. Сгибая аппликатор до угла 180 градусов, сломайте его по линии перелома. При необходимости мягко проверните аппликатор. Основываясь на данных, полученных на вирусе гриппа, мазки из носоглотки в BTM стабильны в течение 72 часов при температуре от 2° до 8°C.

Примечание: при использовании вирусной транспортной среды (BTM) важно обеспечить, чтобы BTM, содержащий образец, имел комнатную температуру. Холодные пробы не будут правильно и могут привести к ложным результатам. Холодная проба доводится до комнатной температуры в течение нескольких минут.

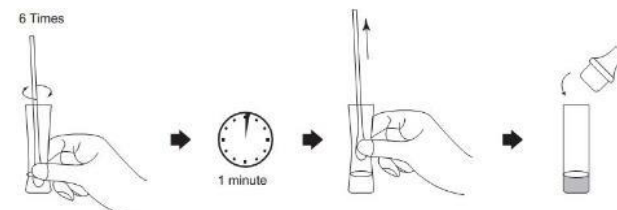
ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Перед началом теста доведите компоненты набора, пробу и буфер до комнатной температуры (15-30°C).

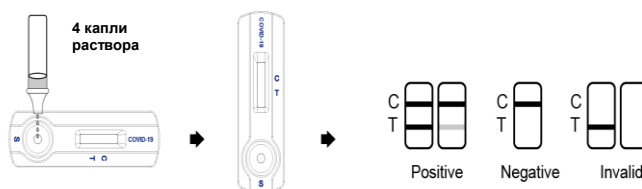
1. Вставьте экстракционную пробирку в бумажную подставку, поставляемую вместе с комплектом. Убедитесь, что пробирка устойчива и достигает низа подставки
2. Добавьте 0,3 мл (около 10 капель) экстракционного буфера образца в экстракционную пробирку.



3. Вставьте тампон с пробой (см. раздел СБОР ПРОБ) в экстракционную пробирку, содержащую экстракционный буфер.
4. Проверните тампон не менее 6 раз, прижимая его нижнюю часть ко дну и стенкам экстракционной пробирки.
5. Оставьте тампон в экстракционной пробирке на 1 минуту.
6. Несколько раз сожмите пробирку пальцами, одновременно погружая тампон. Достаньте тампон. Полученный экстракт будет использоваться в качестве пробы.



7. Непосредственно перед началом теста извлеките тестовую кассету из упаковки и положите ее на рабочую поверхность.
8. Плотно вставьте наконечник с фильтром в экстракционную пробирку.
9. Переверните экстракционную пробирку и нанесите 4 капли (около 100 мкл) пробы (экстракта) лунку для пробы (S) на кассете.
10. Подождите, пока появится окрашенная полоса(полосы). Результат должен быть прочитан в течение 15 минут. Не интерпретируйте результат через 20 минут.



ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ:

Наличие двух полос: в зоне контроля (C) и зоне теста (T) указывает на положительный результат.

2. ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ:

Наличие только контрольной полосы (C) указывает на отрицательный результат.

3. ЛОЖНЫЙ:

Если контрольная полоса (C) не появилась по истечении указанного времени, то результат считается недействительным. Наиболее вероятными причинами являются недостаточный объем образца, неправильная рабочая процедура или просроченные реагенты. Рекомендуется повторно протестировать пробу с помощью нового набора.

ПРИМЕЧАНИЕ:

Интенсивность цвета полосы в тестовой области (Т) может варьироваться в зависимости от концентрации анализируемых веществ, присутствующих в образце. Поэтому любой оттенок цвета полосы в тестовой области (Т) следует считать положительным. Обратите внимание, что данный тест является только качественным с его помощью нельзя определить концентрацию анализируемых веществ в образце.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА И КАЛИБРОВКА

В тест включен процедурный контроль. Красная полоса, появляющаяся в контрольной области (С), является внутренним процедурным контролем. Ее появление подтверждает достаточный объем образца и правильную процедурную технику. Надлежащая лабораторная практика (GLP) рекомендует использовать внешние контрольные материалы для обеспечения надлежащей работы набора.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Клиническая чувствительность, специфичность и точность

Кассета DIAQUICK COVID-19 Ag (тампон) оценивалась с использованием образцов, полученных от пациентов. В качестве эталонного метода был использован коммерческий молекулярный тест. Результаты представлены в следующей таблице.

таблица: DIAQUICK COVID-19 Ag кассета против ПЦР

Метод	Результаты	ПЦР		Итого рез-ты
		Положительный	Отрицательный	
DIAQUICK COVID-19 Ag кассета	Положительный	39	0	39
	Отрицательный	6	116	122
Итого результаты		45	116	161

Относительная чувствительность: 86.7% (95% CI*: 73.2%-95.0%) * Довер. интервал

Относительная специфичность: 100% (95% CI*: 96.9%-100%)

Точность: 96.3% (95% CI*: 92.1%-98.6%)

Кроме того, было проведено еще одно исследование с использованием клинических образцов от пациентов с пневмонией или респираторными симптомами. В качестве эталонного метода был использован коммерческий молекулярный анализ. Результаты приведены в таблице ниже.

таблица 2 : DIAQUICK COVID-19 Ag кассета против ПЦР

Метод	Результаты	ПЦР		Итого рез-ты
		Положительный	Отрицательный	
DIAQUICK COVID-19 Ag кассета	Положительный	0	0	71
	Отрицательный	2	130	132
Итого результаты		73	130	203

Относительная чувствительность: 97.3% (71/73)

Относительная специфичность : 100% (130/130)

Точность : 99.0% (201/203)

Чувствительность для уверенно положительных образцов ПЦР с Ct-значением ≤30 составляет 100%.

ОГРАНИЧЕНИЯ

□ Этиология респираторной инфекции, вызванной микроорганизмами, отличными от SARS-CoV-2, с помощью этого теста не устанавливается. Кассета DIAQUICK COVID-19 Ag (тампон) способна обнаруживать как жизнеспособный, так и нежизнеспособный SARS-CoV-2. Производительность кассеты DIAQUICK COVID-19 Ag (тампона) зависит от антигенной нагрузки и может не коррелировать с результатами вирусной культуры, выполненными на одном и том же образце.

□ Несоблюдение процедуры тестирования может отрицательно сказаться на результатах теста и/или привести к ложным результатам.

□ Если результат теста отрицательный, а клинические симптомы сохраняются, рекомендуется дополнительное тестирование с использованием других клинических методов. Отрицательный результат ни в коем случае не исключает наличия антигенов SARS-CoV-2 в образце, поскольку они могут присутствовать ниже минимального уровня обнаружения набором. Кроме того, неправильный отбор проб и/или неправильная транспортировка могут привести к ошибочным результатам.

□ Как и во всех диагностических тестах, подтвержденный диагноз должен быть поставлен только врачом после оценки всех клинических и лабораторных результатов.

□ Положительные результаты анализов не исключают коинфекции другими патогенами.

□ Отрицательные результаты должны рассматриваться как предполагаемые и подтверждаться утвержденным молекулярным анализом, если это необходимо, включая инфекционный контроль.

УТИЛИЗАЦИЯ

В соответствии с местным законодательством

ЛИТЕРАТУРА

1. Rothan HA, Byrareddy SN. The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak. J Autoimmun. 2020; Feb 26:102433. doi: 10.1016/j.jaut.2020.102433.
2. Guo YR, Cao QD, Hong ZS, et al. The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak-an update on the status. Mil Med Res. 2020; Mar 13; 7(1):11. doi:10.1186/s40779-020-00240-0.
3. Lai CC, Shih TP, Ko WC, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-Cov-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges. Int J Antimicrob Agents. 2020; Mar 55(3): 105924. doi:10.1016/j.ijantimicag.2020.105924.
4. In Vitro Diagnostic Assays for COVID-19: Recent Advances and Emerging Trends (Sandeep Kumar Vashist, 2020 April 05: diagnostics)
5. Nano Research for COVID-19 (<http://dx.doi.org/10.1021/acsnano.0c02540>)

