

ErbaLISA® COVID-19 IgG

Кат.№ IME00136 (96 Тестов)

ПРИМЕНЕНИЕ

Набор IgG ERBALISA COVID-19 предназначен для обнаружения антител IgG к SARS-CoV-2 (COVID-19) в сыворотке крови человека. Набор ErbaLISA COVID-19 IgG является диагностическим тестом in vitro для качественного определения антител IgG к SARS-CoV-2 в образцах сыворотки (венепункции) человека, собранных в сертифицированных лабораториях CLIA и / или медицинскими работниками на месте оказания медицинской помощи.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ (ПОЯСНЕНИЕ)

С конца декабря 2019 года в Ухане, Китай, впервые была зарегистрирована вспышка нового коронавирусного заболевания (COVID-19; ранее известного как 2019-nCoV)1, которая в последствии распространилась по всему миру за короткий промежуток времени. COVID-19 или SARS-CoV-2 продемонстрировал способность быстро распространяться, что приводит к значительной перегрузке системы здравоохранения. Потенциальная угроза здоровью людей, создаваемая COVID-19, очень высока.3. В целом, COVID-19 - это острая респираторная вирусная инфекция, которая может быть смертельной, с частотой летальности в 2% случаев. COVID-19 является зооантропонозным РНК-содержащим вирусом с оболочкой.4. Вирусная инфекция вызывает ряд респираторных заболеваний, включая тяжелый респираторный синдром, это указывает на то, что вирус, скорее всего, заражает респираторные эпителиальные клетки и распространяется главным образом через дыхательные пути от человека к человеку.4. Коронавирусы состоят из нескольких белков, включая: спайк (S), оболочку (E), мембрану (M) и нуклеокапсид (N).5. Вирусные инфекции характеризуются повышением уровня специфических IgM-антител через 3 - 5 дней после появления симптомов; обычно это сохраняется в течение 30-60 дней. Уровень IgG повышается через 10-14 дней и остается на всю жизнь.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Разбавленную сыворотку пациента добавляют в лунки, покрытые очищенным антигеном COVID-19. Специфические антитела к IgG SARS-CoV-2, если они присутствуют, связываются с антигеном. Все несвязанные антитела отмываются специальным раствором, затем добавляется HRP ферментный конъюгат к человеческим антителам IgG для связывания с комплексом антитело-антиген, если таковой имеется. Избыток конъюгата фермента отмывается. Образовавшийся комплекс "антиген-антитело-конъюгат" выявляется в реакции с субстратом, содержащим хромоген. Планшет инкубируют, чтобы обеспечить окисление субстрата ферментом. В результате меняется цвет (оптическая плотность) реакционной смеси в лунке планшета; изменение регистрируется фотометрически. Интенсивность окраски пропорциональна количеству специфических антител IgG в образце.

СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА	96 тестов
1. Микролунки, покрытые антигеном COVID-19	12х8х1
2. Разбавитель образца	1 флакон (готовый к использованию) 22 мл
3. Калибратор: Желтая крышка	1 флакон (готовый к использованию) 1 мл
4. Положительный Контроль: Красная Крышка	1 флакон (готовый к использованию) 1 мл
5. Отрицательный Контроль: Синяя Крышка	1 флакон (готовый к использованию) 1 мл
6. Ферментный конъюгат	1 флакон (готовый к использованию) 13 мл
7. Субстрат (TMB)	1 флакон (готовый к использованию) 13 мл
8. Стоп-раствор	1 флакон (готовый к использованию) 13 мл
9. Моющий концентрат 20X	2 флакона 2х25 мл

ЧТО НЕ ВКЛЮЧЕНО В НАБОР:

1. Дистиллированная или деионизированная вода.
2. Дозаторы пипеточные (пипетки полуавтоматические одно- и многоканальные, переменного объема).
3. Одноразовые наконечники для дозаторов.
4. Устройство (прибор) для считывания поглощения при 450 нм.
5. Впитывающая бумага или бумажное полотенце.
6. Миллиметровка.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Хранить комплект при температуре 2 - 8° С.
2. Держите содержимое комплекта запечатанным, в упаковке с осушителями.
3. Реагенты стабильны до истечения срока годности, указанного на упаковке.
4. Хранить в защищенном от тепла и света месте.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.

Набор биологически безопасен, однако с исследуемыми образцами необходимо обращаться как с потенциально инфицированным материалом.

1. Кровь доноров, используемая для производства калибратора и контроля, была протестирована на отсутствие HbsAg, антител к ВИЧ 1/2 (HIV 1/2) и антител к вирусу гепатита С (HCV), с помощью лицензированных FDA реагентов. Однако, нет ни одного метода тестирования, который мог бы дать полную уверенность в том, что ВИЧ, вирус гепатита В или другие инфекционные агенты отсутствуют. Работа данным набором должна проводиться на уровне «Биобезопасности 2», как это рекомендовано в руководстве центров по контролю заболеваний /Национальных институтов здравоохранения/ ("Биобезопасность в микробиологических и биомедицинских лабораториях" от 1984 года.)
2. Оптимальные результаты будут получены при строгом соблюдении протокола испытаний. Очень важно точное пипетирование, а также точное соблюдение требований времени и температуры.
3. Не пипетировать ртом. Не курить, не есть и не пить в местах, где обрабатываются образцы или компоненты набора реагентов.
4. Компоненты в этом наборе предназначены для использования, как единое целое. Компоненты из разных партий не следует смешивать.
5. Набор реагентов содержит азид натрия. Азид натрия может образовывать взрывоопасные комплексы со свинцом и медью на сантехнике. В связи с этим, тщательно промывайте канализационные стоки водой, после утилизации жидкостей, содержащих азид натрия.

ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1. Соберите образцы крови и отделите сыворотку.
2. Образцы до исследования можно хранить не более 7 сут. при температуре 2–8 °С или замороженными, при температуре минус 20 °С, в течение шести месяцев. Допускается только однократное замораживание - размораживание образцов.
3. Предупреждение: Не используйте разбавитель образца IgM для тестирования IgG.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТА

Перед запуском теста подготовьте следующее:

Промывочный буфер: приготовьте 1X промывочного буфера, добавив содержимое флакона (25 мл, 20X) к 475 мл дистиллированной или деионизированной воды. Хранить при комнатной температуре (в среднем 23 °С).

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

Все реагенты и образцы должны быть доведены до комнатной температуры перед использованием и должны быть аккуратно перемешаны без вспенивания. После того, как процедура началась, все шаги должны быть выполнены без перерыва.

Доведите все образцы и набор реагентов до комнатной температуры (20-25°C) и аккуратно перемешайте.

1. Поместите нужное количество стрипов в рамку планшета.
2. Отрицательный контроль, положительный контроль и калибратор готовы к использованию. Приготовьте разведение тестовых образцов в соотношении 1 : 21, добавив 10 µl образца к 200 µl разбавителя образца. Хорошо перемешайте.
3. Дозируйте 100 µl разбавленных сывороток, калибратор и контроль в соответствующие лунки. Дозируйте 100µl разбавителя образца в лунку 1A. Нажмите на рамку, чтобы удалить пузырьки воздуха из жидкости и хорошо перемешать. Инкубируйте в течение 20 минут при комнатной температуре.
4. Удалите жидкость из всех лунок. Промойте лунки три раза с помощью 300 µl 1X промывочного буфера. По окончании промывки остатки раствора удалите из лунок, промокнув на впитывающей бумаге или бумажном полотенце.
5. Дозируйте 100 µl конъюгата фермента в каждую лунку и инкубируйте в течение 20 минут при комнатной температуре.
6. Удалите конъюгат фермента из всех лунок. Промойте лунки три раза с помощью 300 µl 1X промывочного буфера. По окончании промывки, остатки раствора удалите из лунок, промокнув на впитывающей бумаге или бумажном полотенце.
7. Дозируйте 100 µl субстрата TMB в каждую лунку и инкубируйте в течение 10 минут при комнатной температуре.
8. Добавьте 100 µl стоп-реагента.
9. Считайте оптическую плотность (ОП) при 450 нм с помощью иммуноферментного анализатора, не более, чем через 10 мин. Рекомендуется использовать вторую длину волны с эталонным фильтром 600-650 нм. Результаты ИФА регистрировать фотометрически, выводя фотометр на нулевой уровень ("бланк") по лунке A1 и измеряя оптическую плотность (ОП) при двух длинах волн.

РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. Проверьте значение фактора (коэффициента) калибровки (CF) на этикетке флакона с калибратором. Это значение может варьировать от лота к лоту.
2. Рассчитайте пороговое значение: ОП калибратора x Фактор (Коэффициент) (CF).
3. Рассчитайте индекс Ab (антител) каждого определения, разделив средние значения каждого образца на величину отсечения.

ПРИМЕР РАСЧЕТА РЕЗУЛЬТАТОВ

Калибратор, среднее значение ОП = 0,8

Калибровочный фактор (CF) = 0,5

ОП критическая = $0,8 \times 0,5 = 0,400$

Положительный контроль ОП = 1,2

Индекс Ab = $1,2 / 0,4 = 3$

Образец пациента ОП = 1,6

Индекс Ab = $1,6 / 0,4 = 4$

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Результаты ИФА можно учитывать только при соблюдении следующих условий:

1. ОП калибратора должна быть больше 0,250.
2. Индекс Ab для отрицательного контроля должен быть меньше 0,9.
3. Индекс Ab для положительного контроля должен находиться в пределах диапазона, указанного в COA (сертификате анализа)/маркировке

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Нижеследующее предназначено в качестве руководства по интерпретации результатов теста Covid-19 IgG. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные критерии интерпретации теста на основе встречающихся выборочных популяций.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ ИНДЕКСА АНТИТЕЛ

- < 0.9 Не обнаружены антитела IgG к COVID-19.
- 0.9 - 1.1 Пограничный результат. При наличии клинических показаний рекомендуется последующее тестирование.
- > 1.1 Выявлены антитела IgG к COVID-19.

ОГРАНИЧЕНИЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ТЕСТА

1. Результаты анализов, полученные с помощью этого набора, служат только вспомогательным средством для диагностики и должны интерпретироваться в зависимости от анамнеза пациента, физических данных и других диагностических процедур.
2. Липемические или гемолизированные образцы могут привести к ошибочным результатам.
3. Этот тест предназначен только для клинического применения, а не для домашнего тестирования.
4. Этот тест не был утвержден управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов.
5. Отрицательные результаты не исключают заражения SARS-CoV-2, особенно у тех, кто контактировал с этим вирусом. Последующее тестирование с использованием метода молекулярной диагностики, должно рассматриваться, как исключающее инфекцию у этих людей.
6. Результаты тестирования на антитела не должны использоваться в качестве единственного теста для диагностики или исключения инфекции SARS-CoV-2 или для информирования о тяжести инфекции.
7. Положительные результаты могут быть обусловлены прошлым или настоящим заражением коронавирусными штаммами, не относящимися к SARS-CoV-2, такими как коронавирус HKU1, NL63, OC43 или 229E.
8. Нельзя использовать для скрининга донорской крови.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

1. Чувствительность & Специфичность

Протестированы 58 образцов сыворотки крови, отобранные у пациентов с COVID-19, который был подтвержден методом ПЦР с обратной транскрипцией. А также были протестированы 107 образцов сывороток здоровых пациентов, без COVID-19, образцы были собраны до декабря 2019 года.

Результаты тестирования:

	Тест положительный	Тест отрицательный
Подтвержденный положительный	57	1
Подтвержденный отрицательный	2	105

Чувствительность - 98,3%

Специфичность - 98,1%

2. Специфика класса

Проведенный анализ не показывает никакой перекрестной реакции на IgM.

3. Интерференция

Были протестированы вещества, которые могут оказывать воздействие на результаты. Было установлено, что до приведенных ниже концентраций никакого воздействия на результаты они не оказывают:

- Гемоглобин (10 мг/мл)
- Билирубин (400 мкг/мл)
- Биотин (200 н/мл)

4. Презиционность**Внутрисерийная сходимость**

Сыворотка	Кол-во повторов	Среднее (ОП 450 нм)	Стандартное отклонение	Коэффициент вариации (%)
1	16	0.24	0.02	7.12%
2	16	0.76	0.04	4.75%
3	16	1.25	0.05	4.02%

Межсерийная сходимость

Сыворотка	Кол-во повторов	Среднее (ОП 450 нм)	Стандартное отклонение	Коэффициент вариации (%)
1	16	0.24	0.02	7.00%
2	16	0.81	0.07	8.20%
3	16	1.27	0.05	3.90%

ЛИТЕРАТУРА:

1. Wu F, Zhao S, Yu B, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*. 2020; (published online Feb 3.)
2. Huang C Wang Y Li X et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020; 395: 497-506
3. CDC (2020). Policy for Diagnostic Tests for Coronavirus Disease-2019 during the Public Health Emergency
4. Xiao F, Tang M, Zheng X, Liu Y, Li X, Shan H, Evidence for gastrointestinal infection of SARS-CoV-2, *Gastroenterology* (2020), doi: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.02.055>.
5. Li, F., Li, W., Farzan, M., & Harrison, S. (2005). Structure of SARS coronavirus spike receptor-binding domain complexed with its 10.2210/pdb2ajf/pdb

2020-05-05