



## **ИНСТРУКЦИЯ**

### **По применению тест-системы иммуноферментной для выявления антител класса IgG к вирусу атипичной пневмонии «ИФА-АНТИ-SARS-CoV» Набор 1**

Тест-система представляет собой набор, включающий следующие реагенты: иммуносорбент – рекомбинантные антигены вируса атипичной пневмонии, сорбированные на планшете полистироловом разборном; конъюгат (21-кратный концентрат) – моноклональные антитела мыши против иммуноглобулина G человека, меченные пероксидазой хрена; положительный контрольный образец (K+) – сыворотка крови человека в разведении 1:10, содержащая антитела класса IgG к вирусу атипичной пневмонии (анти- SARS-CoV-G), не содержащая антитела к HbsAg, ВИЧ – 1,2 и вирусу гепатита C, инактивированная, жидкая; отрицательный контрольный образец (K-) – сыворотка крови человека, не содержащая анти- SARS-CoV-G, не содержащая антитела к HbsAg, ВИЧ –1,2 и вирусу гепатита C, инактивированная, жидкая; фосфатно-солевой раствор с твином –20 (ФСР-Т, 25-кратный концентрат), жидкий; Блок-раствор для разведения сывороток, жидкий; раствор для разведения конъюгата, жидкий; субстратный буферный раствор (СБ), жидкий; хромоген – тетраметилбензидин (ТМБ), жидкий; Стоп-реагент – серная кислота в концентрации 1 моль/л .

Набор рассчитан на проведение 96 анализов на анти- SARS-CoV-G, включая постановку контрольных образцов.

Иммуносорбент – полистироловый планшет с прозрачными бесцветными лунками; концентраты конъюгата и ФСР-Т, бесцветные или желтоватого цвета, в концентрате ФСР-Т допускается выпадение кристаллического осадка;

K+, K-, БР - прозрачные или слегка опалесцирующие жидкости, K+ - малиново-красного цвета, K- - зеленого цвета, БР – синего цвета; раствор для разведения конъюгата при температуре от 4 до 8 °С – прозрачная, бесцветная жидкость, при температуре от 20 до 24 °С становится опалесцирующей, ТМБ – прозрачная бесцветная или голубоватая жидкость, СБ и Стоп-реагент – прозрачные, бесцветные жидкости.

## **Иммунобиологические свойства**

Тест-система выявляет антитела класса IgG к вирусу атипичной пневмонии в сыворотке (плазме) крови человека при помощи иммуноферментного анализа.

## **Назначение**

Тест-система предназначена для определения антител класса IgG к вирусу атипичной пневмонии в сыворотке (плазме) крови человека с целью специфической диагностики инфекции.

## **Меры безопасности**

С тест-системой и исследуемыми образцами следует обращаться как с потенциально инфекционным материалом: работать в резиновых перчатках; не пипетировать ртом. Твердые отходы (использованные планшеты, наконечники к дозаторам и флаконы из-под реагентов) обеззараживают погружением в 6% раствор перекиси водорода с 0,5% СМС или в 3% раствор хлорамина Б. Длительность дезактивации – не менее 1 ч. Твердые отходы можно обезвреживать автоклавированием в течение 1 ч при температуре от 124 до 128 °С и давлении 1,5 кгс/см<sup>2</sup>. Жидкие отходы (промывные воды) в емкости для инфицированного материала обезвреживают добавлением сухой хлорной извести или хлорамина Б из расчета 200 г/л, длительность дезактивации – не менее 1 ч, или кипячение в течение 30 мин; инструменты и оборудование до и после работы протирать 70 %-м этиловым спиртом.

## **Способ применения**

### **1. Приготовление растворов**

Нельзя использовать реагенты из наборов разных серий или смешивать их в процессе приготовления растворов, а также использовать реагенты по истечении срока их годности!

Перед началом работы необходимо все реагенты выдержать 30 мин при температуре от 20 до 24 °С. Каждый раствор отбирают новым наконечником!

**ФСР-Т** – для промывания планшета. Перед использованием содержимое флакона с концентратом ФСР-Т перемешивают. Содержимое флакона с 25-кратным концентратом ФСР-Т разводят дистиллированной водой до конечного объема 0,5 л, тщательно перемешивают.

**Блок-раствор** – для разведения исследуемых сывороток. Раствор готов к применению.

Перед использованием содержимое флакона тщательно перемешивают.

**Раствор для разведения конъюгата** – готов к применению. Перед использованием содержимое флакона тщательно перемешивают.

**Конъюгат** – 21-кратный концентрат конъюгата разводят добавлением 10,0 мл раствора для разведения конъюгата, тщательно перемешивают. **Рабочее разведение конъюгата готовится перед использованием.**

**Субстратная смесь (СС)** – 0,5мл ТМБ переносят во флакон с 10,0 мл СБ и тщательно перемешивают. **Раствор готовят перед использованием – хранению не подлежит.**

## **2. Подготовка исследуемых образцов**

Для исключения ложных результатов исследуемые образцы необходимо отбирать и хранить в условиях, предотвращающих бактериальный пророст. Каждый образец сыворотки отбирают новым наконечником. Отобранные образцы предпочтительно хранить в замороженном состоянии при температуре не выше минус 20 °С (образцы могут подвергаться замораживанию и оттаиванию не более 1 раза). Допустимо хранение свежих образцов при температуре от 2 до 8 °С не более 48 часов. **Образцы с выраженным гемолизом, бактериальным проростом, гиперлипидемией (сильная опалесценция) анализу не подлежат!** Образцы сыворотки (плазмы) крови, содержащие агрегаты или осадок, необходимо осветлять центрифугированием.

## **3. Проведение ИФА**

1. Иммуносорбент перед постановкой отмывают 2 раза раствором ФСР-Т, заполняя лунки до краев и отсасывая использованный ФСР-Т. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 10 секунд.

2. В 2 лунки иммуносорбента, например, А-1 и В-1 дозатором пипеточным вносят по 100 мкл К+, в 4 лунки С-1, D-1, Е –1, F-1 по 100 мкл К-. В остальные лунки иммуносорбента вносят по 90 мкл блок-раствора, затем по 10 мкл образцов исследуемых сывороток (разведение сывороток 1:10). Содержимое лунок тщательно перемешивают осторожным постукиванием по краю планшета или пипетированием. Планшет закрывают крышкой и выдерживают 30 мин при температуре  $37 \pm 0,5$  °С.

3. Содержимое лунок отсасывают в емкость для инфицированного материала и планшет промывают 4 раза ФСР-Т как в п.1/, отсасывая использованную промывную жидкость в емкость для инфицированного материала.

4. Во все лунки планшета вносят по 100 мкл конъюгата. Планшет закрывают крышкой и выдерживают 30 мин при температуре  $37 \pm 0,5$  °С.

5. Содержимое лунок отсасывают и планшет промывают 4 раза как в п.3/.

6. Во все лунки отмытого планшета вносят по 100 мкл субстратной смеси и покрытый крышкой планшет инкубируют 20 мин. в защищенном от света месте при температуре от 20 до 24 °С.

7. Реакцию останавливают добавлением во все лунки планшета по 50 мкл Стоп-реактанта и, спустя 4-5 минут, проводят учет результатов ИФА.

## **Учет результатов**

Учет результатов проводят спектрофотометрически при двух длинах волн 450 /620-680 нм. Допустим учет результатов при одной длине волны 450 нм. Реакцию учитывают, если средние значения оптической плотности (ОП) в лунках с К- не более 0,15 оптической единицы, а в лунках с К+ - не ниже 0,4. Результаты анализа

сывороток считают положительными, если значение ОП исследуемого образца выше критического (ОП крит.). ОП крит рассчитывают по формуле:

$$\text{ОП крит.} = \text{ср. знач. ОП К-} + 0,15,$$

где **0,15** – коэффициент, установленный методом статистической обработки на предприятии–изготовителе.

### **Форма выпуска**

Тест-система выпускается в виде набора, включающего: иммуносорбент в герметично запаянном пакете - 1шт, конъюгат (концентрат х 21) – 0,5 мл во флаконе - 1 шт, К+ (инактивированный) – 0,5 мл во флаконе - 1 шт., К- (инактивированный) – 0,5 мл во флаконе-- 1шт., ФСР-Т – фосфатно-солевой раствор с твином (концентрат х 25) – 20,0 мл во флаконе - 2шт., Блок–раствор – 10,0 мл во флаконе - 1шт., Раствор для разведения конъюгата – 11,0 во флаконе - 1шт., СБ – 10,0 мл во флаконе- 1шт., ТМБ – 1,0 мл во флаконе - 1шт., Стоп-реагент – 5,0 мл во флаконе - 1шт., Рамка для стрипов - 1шт., Инструкция по применению - 1шт.

### **Срок годности. Условия хранения и транспортирования**

Срок годности – 6 месяцев.

Хранение – в соответствии с СП 3.3.2.028 – 95 в защищенном от света месте при температуре от 2 до 8 °С. Транспортирование в соответствии с СП 3.3.2.028 – 95 при температуре от 2 до 8 °С (допускается транспортирование при температуре до 20 °С не более 10 дней). Замораживание не допускается.

Рекламации на специфические и физические свойства препарата направлять в РГИСК им. Л.А. Тарасевича по адресу 121002, г. Москва, Сивцев Вражек, д. 41, телефон 241-39-22 и в адрес предприятия-изготовителя, телефон (8312) 34-34-54.