

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»

А.Г. Плехов

«14» февраля 2020 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения
концентрации иммуноглобулина А (IgA) в сыворотке крови
иммунотурбидиметрическим методом

«ИММУНОГЛОБУЛИН А-ВИТАЛ»
ТУ 21.20.23-083-94568735-2019

1. НАЗНАЧЕНИЕ И ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

1.1. Набор реагентов для определения концентрации иммуноглобулина А (IgA) в сыворотке крови иммунотурбидиметрическим методом «ИММУНОГЛОБУЛИН А-ВИТАЛ» предназначен для количественного определения концентрации иммуноглобулина А в сыворотке крови человека в клинической лабораторной диагностике, клинической медицине, медицинской биохимии и научно-исследовательской практике. Набор реагентов «ИММУНОГЛОБУЛИН А-ВИТАЛ» предназначен для лабораторной *in vitro* диагностики и должен применяться специалистами, имеющими необходимую квалификацию в данной области в соответствии с требованиями документов, регламентирующих деятельность лабораторий.

1.2. Показания к использованию набора – проведение анализа сыворотки крови человека с целью оценки местного гуморального иммунитета, для диагностики иммунодефицитных состояний, причин рецидивов бактериальных, вирусных, грибковых и паразитарных инфекций, для диагностики состояния иммунной системы при аутоиммунных патологиях, заболеваниях крови и новообразованиях.

Имуноглобулин А (IgA) – один из пяти классов иммуноглобулинов, синтезируется в основном плазматическими клетками слизистых оболочек и является важным фактором местной защиты, предотвращает проникновение бактериальной, грибковой, вирусной и паразитарной инфекции, усиливает фагоцитоз антигенов путем активации комплемента по альтернативному пути. В организме человека IgA существует в двух формах – сывороточной (мономерная форма) и секреторной (димерная форма). Секреторная форма IgA содержится в секретах слизистых оболочек респираторного, желудочно-кишечного и мочеполового тракта, в слюне, слезной жидкости, молозиве и материнском молоке. Сывороточная форма IgA составляет 15–20% суммарных иммуноглобулинов.

Повышение концентрации IgA наблюдается при острых и хронических бактериальных, грибковых, вирусных и паразитарных инфекциях слизистых (дифтерия, ангина, сифилис, туберкулез, кандидоз, герпес, гельминтоз), онкологических заболеваниях (хронический лимфолейкоз, миеломная болезнь IgA-типа), хроническая патология печени (хронический гепатит, цирроз), аутоиммунные заболевания (ревматоидный артрит, системная красная волчанка), макроглобулинемия Вальденстрема.

Снижение концентрации IgA наблюдается при состояниях, ассоциированных с дефицитом данного класса антител (селективный дефицит IgA, болезнь Брутона, гипер-IgM-синдром), при

синдроме Луи-Бар, после спленэктомии, при потере общего белка сыворотки крови в случае обширных ожогов, при заболеваниях мочевыделительной системы (нефротический синдром).

Изменение концентрации IgA наблюдается при синдроме приобретенного иммунодефицита человека.

1.3. Набор реагентов «ИММУНОГЛОБУЛИН А-ВИТАЛ» может быть использован для исследования всех групп населения без градации по демографическому или популяционному признаку. Противопоказаний не имеет.

1.4. Набор выпускается в следующих вариантах исполнения:

Комплект 1:

- реагент 1 – 1 флакон (90 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (3 мл),
- калибратор – 1 флакон (0,5 мл).

Комплект 2:

- реагент 1 – 2 флакона (по 180 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (12 мл),
- калибратор – 1 флакон (0,5 мл).

Комплект 3:

- реагент 1 – 1 флакон (90 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (3 мл),
- калибратор – 1 флакон (0,5 мл),
- контроль (высокий уровень) – 1 флакон (1 мл).

Комплект 4:

- реагент 1 – 1 флакон (90 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (3 мл),
- калибратор – 1 флакон (0,5 мл) и 1 флакон (1 мл).

Комплект 5:

- реагент 1 – 2 флакона (по 180 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (12 мл),
- калибратор – 1 флакон (0,5 мл) и 1 флакон (1 мл).

Комплект 6:

- реагент 1 – 1 флакон (39 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (5,5 мл),
- калибратор – 1 флакон (0,5 мл).

Комплект 7:

- реагент 1 – 3 флакона (по 39 мл),
- реагент 2 – 3 флакона (по 5,5 мл),
- калибратор – 1 флакон (0,5 мл).

Комплект 8:

- реагент 1 – 1 флакон (19 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (3,5 мл),
- калибратор – 1 флакон (0,5 мл).

Комплект 9:

- реагент 1 – 3 флакона (по 19 мл),
- реагент 2 – 3 флакона (по 3,5 мл),
- калибратор – 1 флакон (0,5 мл).

Комплект 10:

- реагент 1 – 1 флакон (36 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (5 мл),
- калибратор – 1 флакон (0,5 мл).

Комплект 11:

- реагент 1 – 3 флакона (по 36 мл),
- реагент 2 – 3 флакона (по 5 мл),

- калибратор – 1 флакон (0,5 мл).

Комплект 12:

- реагент 1 – 1 флакон (51 мл),

- реагент 2 – 1 флакон (5 мл),

- калибратор – 1 флакон (0,5 мл).

Комплект 13:

- реагент 1 – 4 флакона (по 51 мл),

- реагент 2 – 4 флакона (по 5 мл),

- калибратор – 1 флакон (0,5 мл).

Комплект 14:

- реагент 1 – 2 флакона (по 38 мл),

- реагент 2 – 1 флакон (9 мл),

- калибратор – 1 флакон (0,5 мл),

Комплект 15:

- реагент 1 – 2 флакона (по 34 мл),

- реагент 2 – 1 флакон (8,2 мл),

- калибратор – 1 флакон (0,5 мл).

Калибратор во всех вариантах исполнений – калибровочный раствор на основе плазмы крови человека, содержащий иммуноглобулин А, точная концентрация IgA указана в паспорте на набор и на этикетке флакона.

Контроль (высокий уровень) в комплекте 3 - контрольный раствор на основе плазмы крови человека, содержащий иммуноглобулин А, целевое значение IgA и допустимый интервал которого указаны в паспорте на набор и на этикетке флакона.

В состав комплектов 1, 2, 4-15 набора контроль (высокий уровень) не входит. При постановке анализа с помощью набора «ИММУНОГЛОБУЛИН А-ВИТАЛ» могут быть использованы контрольные материалы (высокий/низкий уровни), аттестованные данным методом и зарегистрированные в установленном порядке.

При использовании 0,03 мл реагента 2 на один анализ варианты исполнения набора рассчитаны на следующее количество анализов:

Комплект 1 – 100 определений,

Комплект 2 – 400 определений,

Комплект 3 – 100 определений,

Комплект 4 – 100 определений,

Комплект 5 – 400 определений,

Комплект 6 – 180 определений,

Комплект 7 – 540 определений,

Комплект 8 – 60 определений,

Комплект 9 – 180 определений,

Комплект 10 – 180 определений,

Комплект 11 – 540 определений,

Комплект 12 – 160 определений,

Комплект 13 – 640 определений,

Комплект 14 – 200 определений,

Комплект 15 – 180 определений.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

2.1. В результате иммунологической реакции формируются иммунные комплексы иммуноглобулина А с соответствующими антителами, и образуется мутная суспензия, оптическая плотность которой измеряется фотометрически при длине волны 340 нм. Реакция производится методом «по конечной точке» с холостой пробой по образцу. Концентрация иммуноглобулина А в анализируемых образцах прямо пропорциональна величине оптической плотности исследуемых образцов и определяется по калибровочному графику.

2.2. Набор реагентов «ИММУНОГЛОБУЛИН А-ВИТАЛ» может быть использован на полуавтоматических или автоматических биохимических анализаторах с возможностью выполнения измерения при длине волны 340 нм (или двухволнового измерения при длинах волн 340 нм (основная) и 620 (670) нм (вспомогательная)) при температуре инкубации +18-25°C или +37°C.

Использование Набора реагентов «ИММУНОГЛОБУЛИН А-ВИТАЛ» на каждом анализаторе осуществляется в соответствии с руководством пользователя для анализатора. Параметры для ввода в программу анализаторов предоставляются по запросу.

3. СОСТАВ НАБОРА

В состав набора входят:

- реагент 1 - буфер (натрия фосфат двузамещенный, 100 ммоль/л; натрия хлорид, 154 ммоль/л; полиэтиленгликоль, 5 г/л; натрия азид, 0,95 г/л), готов к использованию:
 - комплект 1 - 1 флакон (90 мл),
 - комплект 2 - 2 флакона (по 180 мл),
 - комплект 3 - 1 флакон (90 мл),
 - комплект 4 - 1 флакон (90 мл),
 - комплект 5 - 2 флакона (по 180 мл),
 - комплект 6 - 1 флакон (39 мл),
 - комплект 7 - 3 флакона (по 39 мл),
 - комплект 8 - 1 флакон (19 мл),
 - комплект 9 - 3 флакона (по 19 мл),
 - комплект 10 - 1 флакон (36 мл),
 - комплект 11 - 3 флакона (по 36 мл),
 - комплект 12 - 1 флакон (51 мл),
 - комплект 13 - 4 флакона (по 51 мл),
 - комплект 14 - 2 флакона (по 38 мл),
 - комплект 15 - 2 флакона (по 34 мл).
- реагент 2 - антисыворотка (натрия фосфат двузамещенный, 100 ммоль/л; натрия хлорид, 154 ммоль/л, козы поликлональные антитела к иммуноглобулину А; натрия азид, 0,95 г/л), готова к использованию:
 - комплект 1 - 1 флакон (3 мл),
 - комплект 2 - 1 флакон (12 мл),
 - комплект 3 - 1 флакон (3 мл),
 - комплект 4 - 1 флакон (3 мл),
 - комплект 5 - 1 флакон (12 мл),
 - комплект 6 - 1 флакон (5,5 мл),
 - комплект 7 - 3 флакона (по 5,5 мл),
 - комплект 8 - 1 флакон (3,5 мл),
 - комплект 9 - 3 флакона (по 3,5 мл),
 - комплект 10 - 1 флакон (5 мл),
 - комплект 11 - 3 флакона (по 5 мл),
 - комплект 12 - 1 флакон (5 мл),
 - комплект 13 - 4 флакона (по 5 мл),
 - комплект 14 - 1 флакон (9 мл),
 - комплект 15 - 1 флакон (8,2 мл).
- калибратор: калибровочный раствор на основе плазмы крови человека, содержащий иммуноглобулин А и натрия азид в качестве консерванта, 0,95 г/л, точная концентрация IgA указана в паспорте на набор и на этикетке флакона; аттестован по стандартному материалу ERM-DA470k/IFCC, готов к использованию:
 - все комплекты - 1 флакон (0,5 мл),
 - комплекты 4 и 5 – дополнительно 1 флакон (1,0 мл).

- контроль (высокий уровень): контрольный раствор на основе плазмы крови человека, содержащий иммуноглобулин А и натрия азид в качестве консерванта, 0,95 г/л, целевое значение IgA и допустимый интервал указаны в паспорте на набор и на этикетке флакона; аттестован по стандартному материалу ERM-DA470k/IFCC, готов к использованию:

- комплект 3 - 1 флакон (1,0 мл).

Примечание:

1. Компоненты плазмы крови человека, входящие в состав калибратора и контроля (высокий уровень), являются продуктом глубокой переработки крови человека, инактивированной и протестированной на отсутствие антител к ВИЧ 1,2, вирусу гепатита С и HBsAg.

2. Материалы животного происхождения, входящие в состав реагентов, не представляют опасности для человека.

3. Метрологическая прослеживаемость калибратора и контроля (высокий уровень), входящих в состав набора реагентов «ИММУНОГЛОБУЛИН А-ВИТАЛ», производится с использованием стандартного материала ERM-DA470k/IFCC, который является международно признанным калибратором. Метрологическая прослеживаемость калибратора и контроля (высокий уровень) осуществляется путем выполнения протокола переноса калибровки по стандартному материалу ERM-DA470k/IFCC с целью приписывания целевого значения калибратору и целевого значения и допустимого интервала контролю (высокий уровень), входящим в состав набора реагентов «ИММУНОГЛОБУЛИН А-ВИТАЛ».

4. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейная область определения IgA в сыворотке крови – в диапазоне 30-1000 мг/дл (0,3 – 10 г/л).

Чувствительность определения концентрации IgA – 10 мг/дл (0,1 г/л).

Коэффициент вариации результатов измерений – не более 5%.

Аналитическая специфичность набора «ИММУНОГЛОБУЛИН А-ВИТАЛ»: гемоглобин до концентрации 10 г/л, триглицериды до концентрации 4,55 ммоль/л и билирубин до концентрации 322 мкмоль/л не влияют на правильность определения концентрации IgA.

Качество набора может проверяться по отечественным или зарубежным контрольным материалам, аттестованным данным методом.

Нормальная величина концентрации IgA в сыворотке крови человека составляет: для мужчин 80-406 мг/дл (0,8-4,06 г/л), для женщин 70-374 мг/дл (0,7-3,74 г/л).

Рекомендуется в каждой лаборатории уточнить диапазон значений нормальных величин для обследуемого контингента людей.

Аналитические характеристики метода исследования, используемого в наборе «ИММУНОГЛОБУЛИН А-ВИТАЛ», установлены в соответствии с требованиями ГОСТ Р 53022.2-2008, ГОСТ ISO 17511-2011.

5. ОБРАЗЦЫ

Свежая негемолизированная сыворотка крови.

Взятие крови для анализа следует проводить с использованием стандартных процедур для венозной крови, а образцы сыворотки должны быть освобождены от клеток крови центрифугированием. После центрифугирования сыворотка крови должна быть перенесена в отдельную пробирку.

Образцы можно хранить 2 суток при температуре +2-8°C или не более 4-х недель при температуре -18°C. Пробирки с образцами следует плотно закрывать. Повторное замораживание образцов не допускается. Не следует использовать липемичные образцы.

6. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Все компоненты набора содержат токсичное вещество – натрия азид. При работе с реагентами следует соблюдать осторожность и не допускать попадания на кожу и слизистые. В случае их

попадания на кожу и слизистые следует промыть пораженное место большим количеством проточной воды.

При работе с набором следует соблюдать требования ГОСТ Р 52905-2007 и СП 1.3.2322-08.

При работе с набором и образцами сыворотки крови человека следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки и рассматривать их как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Физические риски (возможность самопроизвольного взрыва или возгорания) отсутствуют.

7. ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ:

- полуавтоматический или автоматический биохимический анализатор с возможностью выполнения измерения при длине волны 340 нм или двухволнового измерения при длинах волн 340 нм (основная) и 620 (670) нм (вспомогательная) при температуре инкубации +18-25°C или +37°C;
- секундомер;
- дозаторы полуавтоматические одноканальные с одноразовыми наконечниками;
- микропробирки вместимостью 1,0-1,5 мл;
- физиологический раствор (0,9 % раствор NaCl);
- перчатки резиновые или пластиковые.

8. ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Компоненты набора и исследуемые образцы сыворотки крови нагреть до выбранной температуры +18-25°C или +37°C.

Подготовка образцов

Образцы сыворотки крови развести физиологическим раствором в 10 раз.

Подготовка контроля (высокий уровень)

Контроль (высокий уровень) развести физиологическим раствором в 10 раз.

Приготовление калибровочных растворов 1-7

Развести калибратор, входящий в состав набора, физиологическим раствором до концентрации 1000 мг/дл (10 г/л). Развести полученный калибровочный раствор с концентрацией 1000 мг/дл (10 г/л) физиологическим раствором в 2, 4, 8, 16 и 32 раза до концентрации 500, 250, 125, 62,5 и 31,3 мг/дл (5; 2,5; 1,25; 0,63 и 0,31 г/л), тщательно перемешать. Для нулевой точки калибровки использовать физиологический раствор. Необходимо использовать не менее 7 точек.

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Длина волны: 340 нм или двухволновое измерение (340/620 нм или 340/670 нм);

Длина оптического пути: 10 мм;

Температура инкубации: +18-25°C или +37°C;

Фотометрирование: против воды или холостой пробы.

Внести в пробирки реагенты и анализируемые пробы в количествах, указанных в таблице 1.

Таблица 1.

	Опытная проба	Калибровочные пробы	Контрольная (холостая) проба
Реагент 1	450 мкл	450 мкл	450 мкл
Образец	10 мкл	-	-
Калибровочные растворы 1-7	-	10 мкл	-
Пробы тщательно перемешать, инкубировать 1 минуту, измерить оптическую плотность ОП ₁ (холостая проба по образцу) против воды или холостой пробы и добавить во все пробирки реагент 2:			
Реагент 2	30 мкл	30 мкл	30 мкл

Пробы тщательно перемешать, инкубировать при выбранной температуре 5 минут (точно!), измерить оптическую плотность калибровочных и анализируемых проб ОП₂.

Примечание. Расход реагентов набора зависит от типа используемого прибора.

Для контроля правильности и воспроизводимости определения концентрации IgA использовать контроль (высокий уровень), входящий в состав комплекта 3 набора. Определение проводить в соответствии с процедурой анализа для опытных проб.

10. РАСЧЕТЫ

Оптические плотности (ΔОП) калибровочных проб рассчитать по формуле (1):

$$\Delta ОП = ОП_2 - ОП_1 \quad (1).$$

Построить калибровочный график в полупологарифмических координатах, откладывая на оси абсцисс (логарифмическая) значения концентрации IgA в калибровочных пробах, а на оси ординат (линейная) – значения соответствующих оптических плотностей (ΔОП) калибровочных проб.

Концентрацию IgA в опытных пробах определить по калибровочному графику, откладывая по оси ординат изменение оптической плотности (ΔОП) соответствующей пробы.

11. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ НАБОРА

Набор реагентов для определения концентрации иммуноглобулина А (IgA) в сыворотке крови иммунотурбидиметрическим методом «ИММУНОГЛОБУЛИН А-ВИТАЛ» должен храниться при температуре +2-8°C в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности. Допускается хранение набора при температуре до +25°C не более 5 суток.

Транспортирование наборов должно производиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с требованиями и правилами, принятыми на данном виде транспорта, при температуре +2-8 °С. Допускается транспортирование наборов при температуре до +25 °С не более 5 суток.

Замораживание компонентов набора не допускается.

Использование набора, транспортировавшегося или хранившегося с нарушением регламентированного температурного режима, не допускается.

12. УСЛОВИЯ ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Срок годности набора – 24 месяца. До окончания срока годности набора, при условии соблюдения температурного режима хранения, транспортирования и эксплуатации, производитель гарантирует работоспособность набора и соответствие всех аналитических и диагностических характеристик набора заявленным. Не допускается использование серии набора по истечении срока ее годности. Набор реагентов не подлежит ремонту и техническому обслуживанию.

Реагенты 1 и 2 после вскрытия флаконов можно хранить при температуре +2-8 °С в темном месте не более 6 недель при условии достаточной герметичности флаконов.

Калибратор и контроль (высокий уровень) после вскрытия флаконов можно хранить при температуре +2-8°C не более 4 недель при условии достаточной герметичности флаконов.

Реагенты 1 и 2 можно хранить на борту анализатора при температуре +2-8°C не более 6 недель при условии круглосуточного охлаждения. Стабильность калибровки сохраняется не более 4 недель.

Приготовленные калибровочные растворы IgA можно хранить не более 1 недели при температуре +2-8°C в плотно закрытых пробирках (флаконах). Замораживание не допускается.

Разведенный физиологическим раствором контроль (высокий уровень) можно хранить в течение 2 суток при температуре +2-8°C в плотно закрытых пробирках (флаконах). Замораживание не допускается.

Если значение концентрации IgA в анализируемой пробе превышает 1000 мг/дл (10 г/л), анализируемую пробу следует развести физиологическим раствором, повторить определение и полученный результат умножить на фактор разведения.

Производитель набора АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» произвел верификацию и валидацию набора реагентов «ИММУНОГЛОБУЛИН А-ВИТАЛ». Результаты верификации и валидации, отраженные в протоколах предварительных испытаний опытных партий набора, признаны удовлетворяющими параметрам, заявленным в настоящей технической документации.

В процессе верификации и валидации набора реагентов «ИММУНОГЛОБУЛИН А-ВИТАЛ»

была проведена оценка стабильности набора при хранении, использовании и транспортировке (ГОСТ Р ИСО 23640-2015); результаты, отраженные в протоколах стабильности набора и его компонентов, соответствуют заявленным срокам годности при хранении, использовании и транспортировке в соответствующих условиях.

В процессе разработки набора реагентов «ИММУНОГЛОБУЛИН А-ВИТАЛ» были оценены риски, связанные с возможным изменением параметров проведения анализа в лабораториях потребителей: изменение температуры и времени инкубации.

Оценка проводилась в соответствии с МИ СМК 07 по ИСО 14971:2007. По результатам анализа риски минимизированы до уровня «приемлемый».

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции. Любые отклонения от рекомендованных процедур проведения анализа могут привести к получению неверных результатов исследования.

13. СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ

Согласно классификации по СанПиН 2.1.7.2790-10 компоненты набора могут быть отнесены к классу «Б». Утилизацию использованных реагентов и реагентов с истекшим сроком годности производить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 в отношении отходов класса «Б».

Дезинфекцию следует проводить в соответствии с МУ 287-113.

14. ЗАЩИТА ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Производитель гарантирует, что набор реагентов «ИММУНОГЛОБУЛИН А-ВИТАЛ» для биохимических исследований разработан и произведен с целью предотвращения любых рисков для окружающей среды. Набор в процессе использования не оказывает воздействия на окружающую среду и не приводит к ущербу для нее при соблюдении всех мер безопасности и утилизации набора, рекомендованных производителем.

15. ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

По вопросам, касающимся качества набора «ИММУНОГЛОБУЛИН А-ВИТАЛ», следует обращаться к производителю - в Акционерное Общество «Витал Девелопмент Корпорэйшн» (АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн») по адресу:

194356, Санкт-Петербург, Дорога в Каменку, д. 56, лит. А.

Тел/факс: (812) 702-10-86

Генеральный директор
АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»

Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»



А.Г. Плехов

П.К. Варнавичус

Прошито, пронумеровано,
и скреплено печатью



Всего

8

листа(ов)

Ген. директор

Плехов А.Г.

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 8 ЛИСТОВ



« 03 »

2020 год

Ген. Директор
ООО «БЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичус Н.К.