

"УТВЕРЖДАЮ"

Генеральный директор
ЗАО "ЭКОлаб"

"08"

2017 г.

В.Ю.Борисов

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов

«Тест-система иммуноферментная для выявления
иммуноглобулинов класса А к вирусу гриппа А»

"ИФА-Грипп А - IgA"

Регистрационное удостоверение № _____ от _____.20__ г.

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса А к вирусу гриппа А» "ИФА-Грипп А - IgA" предназначен для выявления видоспецифических иммуноглобулинов класса А к вирусу гриппа А в сыворотке (плазме) крови человека методом иммуноферментного анализа (ИФА) на твердофазном носителе при "ручной" постановке и с использованием ИФА-анализаторов.

СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

Иммуносорбент	лизатный инактивированный очищенный антиген вируса гриппа А, сорбированный на 96-луночном разборном полистироловом планшете для иммунологических реакций с плоским дном (используются "ломающиеся" стрипы)	1 планшет
	<i>допускается раздельная упаковка стрипов (по 1-4 стрипа в пакете)</i>	
Контрольный положительный образец (K ⁺)	инактивированный; содержит иммуноглобулины класса А к вирусу гриппа А; прозрачная жидкость красного цвета	1 фл. (1,2 мл)
Контрольный образец уровня среза (K ⁺ _{пор})	инактивированный; содержит иммуноглобулины класса А к вирусу гриппа А в "пороговом" титре (1:100); прозрачная жидкость желтого цвета	1 фл. (1,2 мл)
Контрольный отрицательный образец (K ⁻)	инактивированный; жидкость зеленого цвета	1 фл. (1,2 мл)
Конъюгат	антитела моноклональные мышинные против иммуноглобулинов человека класса А, меченные пероксидом хрена; прозрачная розового цвета жидкость	1 фл. (13 мл)
Раствор для предварительного разведения образцов (РПРО)	прозрачная жидкость красного цвета	1 фл. (15 мл)
Раствор для разведения образцов (РРО)	прозрачная жидкость синего цвета	1 фл. (15 мл)

25-кратный концентрат промывочного раствора [ПР(x25)]	прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная пенистая жидкость, возможно выпадение осадка солей белого цвета, растворяющегося при температуре 37 °С в течение 30 мин	2 фл. (по 40 мл)
Раствор индикаторный (РИ);	прозрачная бесцветная жидкость	1 фл. (13 мл)
Стоп-реагент	прозрачная бесцветная жидкость	1 фл. (12,5 мл)

Примечания. 1. Набор включает все реагенты, необходимые для постановки ИФА, кроме очищенной (дистиллированной или деионизированной) воды.

2. ПР(x25), РИ, РРО, РПРО, стоп-реагент – унифицированы для всех наборов ЗАО "ЭКОлаб", в которых используются указанные реагенты.

Набор укомплектован принадлежностями:

вспомогательным планшетом для предварительного разведения образцов (1 шт.),
вспомогательными пластиковыми емкостями (4 шт.),
одноразовыми наконечниками для автоматических пипеток (16 шт.)
клеякой пленкой для планшетов (4 шт.).

Компоненты набора упакованы в коробку, в коробку вложена инструкция по применению.

ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Базовый вариант комплектации набора позволяет одномоментное исследование 96 образцов, включая контрольные (на контрольные образцы используется от 3 до 6 лунок, одна лунка – для определения уровня "бланк"). Предусмотрена возможность проведения отдельных исследований с использованием необходимого количества стрипов:

Число стрипов	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Лунок для контр.	4	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
Число иссл. обр.	1-4	5-9	10-17	18-25	26-33	34-41	42-49	50-57	58-65	66-73	74-81	82-89

ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

При наличии в исследуемом образце иммуноглобулинов класса А к вирусу гриппа А происходит связывание их с антигенами вируса, сорбированными в лунках планшета-иммуносорбента, образовавшийся комплекс антиген-антитело реагирует с внесенным в реакционную среду раствором конъюгата – антителами к IgA человека, меченными пероксидазой. Образовавшийся комплекс "антиген-антитело-конъюгат" выявляется в реакции с субстратно-индикаторным раствором, содержащим хромоген – тетраметилбензидин, в результате которой меняется цвет (оптическая плотность) реакционной смеси в лунке планшета; изменение регистрируется спектрофотометрически.

ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Нативная сыворотка, плазма (с гепарином, ЭДТА, цитратом натрия) крови человека объемом не менее 10 мкл.

Сбор образцов крови должен производиться в соответствии с надлежащей практикой методом венопункции (ГОСТ Р 53079.4-2008 «Обеспечение качества клинических лабораторных исследований»).

Образцы сыворотки (плазмы) крови до исследования можно хранить не более 7 сут при температуре от 2 до 8 °С и 3 мес при температуре минус 20 °С или более низкой. Допускается только однократное замораживание-размораживание образцов. Размороженные образцы перед исследованием тщательно перемешать.

Не допускается использование для исследования образцов с повышенным содержанием липидов и (или) с признаками гемолиза, и (или) с видимым микробным проростом.

Образцы, содержащие осадок, перед анализом отцентрифугировать в течение 10-15 мин при 2500-3000 об/мин.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Аналитическая чувствительность набора определяется по стандартной панели положительных сывороток предприятия, содержащих иммуноглобулины класса А к вирусу гриппа А (СОП⁺-185) как процентное содержание образцов, определенных набором как положительные, и составляет 100%.

Аналитическая специфичность набора определяется по стандартной панели отрицательных сывороток предприятия, не содержащих иммуноглобулины класса А к вирусу гриппа А (СОП⁺-185) как процентное содержание образцов, определенных набором как отрицательные, и составляет 100%.

Диагностическая чувствительность (с доверительной вероятностью 95%):

Сыворотка крови человека-99,01% - 100%,

Плазма крови человека - 99,10% - 100%.

Диагностическая специфичность (с доверительной вероятностью 95%):

Сыворотка крови человека-99,01% - 100%,

Плазма крови человека - 99,10% - 100%.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

Потенциальный риск применения набора – класс 2Б (Приказ №4н от 06.06.12.).

Стоп-реагент при попадании на незащищенную кожу и слизистые может вызывать химические ожоги. В случае попадания на кожу – немедленно промойте пораженный участок водой.

Меры предосторожности при работе с набором – соблюдение правил "Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений" (Утв. Минздравом СССР 17 января 1991 г.), ГОСТ Р 52905–2007 (ИСО 15190:2003).

Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 "Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами" и МУ 287-113 "Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения".

СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

Оборудование и материалы (для "ручной" постановки)

Дозаторы пипеточные (пипетки полуавтоматические одно- и многоканальные переменного объема) для внесения реагентов в лунки планшета с погрешностью дозирования не более 5 % с наконечниками полипропиленовыми одноразовыми.

Ручные, или автоматические промыватели, или восьми- и двенадцатиканальные пипеточные дозаторы для промывания лунок планшета.

Спектрофотометр вертикального сканирования для измерения оптической плотности в лунках планшета при 450 нм и/или в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620-650 нм.

Центрифуга лабораторная на 2,5-3,0 тыс. об/мин.

Термостат на 37 °С.

Холодильник бытовой.

Фильтровальная бумага.

Вода очищенная (дистиллированная или деионизированная).

70 %-ный раствор спирта этилового и 6 %-ный раствор перекиси водорода (дез.растворы) или растворы иных дезинфектантов, разрешенных к применению СП 1.32322-08, кроме хлорсодержащих.

ИФА-анализатор.

Приготовление рабочих растворов реагентов для ИФА

Перед работой извлечь набор из холодильника, вскрыть упаковку и выдержать все реагенты перед проведением анализа не менее 30 мин при температуре от 18 до 25 °С.

Приготовление рабочего промывочного раствора (ПР)

При выпадении осадка солей в ПР(х25) прогреть его при температуре 37 °С до полного растворения осадка.

При постановках с использованием ИФА-анализаторов 40 мл ПР(х25) довести водой очищенной до 1 л.

При дробной "ручной" постановке использовать соотношения объемов ПР(х25) и воды, указанные в табл. 1 для разного числа используемых стрипов.

Таблица 1

Число стрипов	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
ПР(х25), мл	7	10	13	17	20	23	27	30	33	37	40
Вода очищенная, мл	до 175	до 250	до 325	до 425	до 500	до 575	до 675	до 750	до 825	до 925	до 1000

Готовый рабочий промывочный раствор хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 14 сут.

Предварительное разведение исследуемых образцов

Исследуемые образцы развести 1:10 во вспомогательном планшете. Для этого внести в его лунки по 90 мкл РПРО и добавить по 10 мкл сыворотки, тщательно перемешать пипетированием. При этом розовый цвет должен измениться на желтый. Если изменение цвета не произошло, данный образец необходимо исследовать повторно с целью исключения неправильных результатов. Рабочее разведение (1:100) готовить непосредственно в лунках иммуносorbента (см. раздел **Проведение ИФА ("ручная" постановка)**, п. 2).

Приготовление остальных реагентов

Иммуносorbент, K⁺, K⁻, K⁺_{пор}, РРО, РПРО, конъюгат, РИ, стоп-реагент – готовы к применению.

Проведение ИФА ("ручная" постановка)

Внимание! Соблюдение указанных ниже температуры и времени инкубации планшетов на каждой стадии постановки крайне важно для получения достоверных результатов.

1. Извлечь из упаковки рамку планшета и необходимое число стрипов.

2. В лунку А1 внести 100 мкл РРО, в следующие лунки внести по 100 мкл контрольных образцов (по 2 лунки на каждый контрольный образец), оставшиеся лунки использовать для исследуемых образцов (по 1 лунке на образец), для чего внести в них: вначале по 90 мкл РРО, а затем – по 10 мкл образцов, предварительно разведенных 1:10 в лунках вспомогательного

планшета (см. раздел «Предварительное разведение исследуемых образцов»), тщательно перемешать пипетированием.

3. Планшет закрыть крышкой или клейкой пленкой, инкубировать 30 мин при температуре от 21 до 25⁰С в защищенном от света месте.

4. С помощью промывателя удалить содержимое лунок, 4 раза промыть планшет промывочным раствором, внося в лунки 350-370 мкл раствора. При наличии промывателя, позволяющего производить промывку в режиме "Overflow", использовать именно этот режим. По окончании промывки остатки раствора удалить из лунок, постукивая перевернутым планшетом по сложенной в несколько слоев фильтровальной бумаге.

5. Во все лунки планшета внести по 100 мкл конъюгата.

6. Планшет закрыть крышкой или клейкой пленкой, инкубировать 30 мин при температуре от 21 до 25⁰С в защищенном от света месте.

7. С помощью промывателя удалить содержимое лунок, 4 раза промыть планшет как указано в п. 4.

8. Во все лунки внести по 100 мкл раствора индикаторного, немедленно поместить планшет в защищенное от света место и инкубировать 10-15 мин при температуре от 21 до 25⁰С.

9. Во все лунки (в той же последовательности, с которой вносился раствор индикаторный) внести по 100 мкл стоп-реагента, осторожно (постукиванием по планшету) перемешать содержимое лунок и не более чем через 10 мин приступить к учету результатов.

Регистрация и учет результатов

Результаты ИФА регистрировать спектрофотометрически, измеряя оптическую плотность (ОП) при двух длинах волн – 450 нм и 620-650 нм. При отсутствии референс-фильтра на 620-650 нм оптическую плотность (ОП) измерять при длине волны 450 нм. При измерении оптической плотности в обоих случаях вывести спектрофотометр на нулевой уровень («бланк») по лунке А1.

Результаты ИФА учитываются при следующих условиях:

среднее значение ОП_{к+} – не менее 0,60;

среднее значение ОП_{к+пор} – не менее 0,20;

среднее значение ОП_{к-} – не более 0,10.

В противном случае исследование необходимо повторить.

Рассчитайте индекс позитивности (ИП_{обр}) для каждого исследуемого образца, для этого ОП образца разделите на среднее значение ОП_{к+пор}:

$$\text{ИП}_{\text{обр}} = \text{ОП}_{\text{образца}} / \text{ОП}_{\text{к+пор}}$$

где ОП_{образца} – оптическая плотность исследуемых образцов в разведении 1:100;

ОП_{к+пор} – среднее значение оптической плотности контрольного образца уровня среза (K⁺_{пор}).

Интерпретация результатов

Исследуемые образцы учитывать:

как положительные при ИП_{обр} больше 1,1;

как отрицательные при ИП_{обр} меньше 0,9.

Исследуемые образцы учитывать как сомнительные при ИП_{обр} в диапазоне от 0,9 до 1,1, т.е. при $1,1 \geq \text{ИП}_{\text{обр}} \geq 0,9$.

Образцы, оцененные как сомнительные, должны быть исследованы повторно. При повторном получении сомнительных результатов рекомендуется мониторинг иммунного статуса пациента для исключения неспецифических, в том числе перекрестных реакций, приводящих к сомнительным результатам.

ПОСТАНОВКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИФА-АНАЛИЗАТОРОВ

Подготовить прибор в соответствии с инструкцией по его эксплуатации, ввести программу анализа, соответствующую используемому набору, и провести анализ.

СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности набора – 1 год. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ

Хранение

Хранение наборов должно осуществляться в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности.

После вскрытия упаковок неиспользованные реагенты допускается хранить в плотно закрытых упаковках в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности.

Транспортирование

Транспортирование наборов – при температуре от 2 до 8 °С транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. Допускается транспортирование при температуре от 9 до 25 °С в течение 10 сут.

УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для учреждений здравоохранения.

ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

По вопросам, касающимся качества и обращения набора "ИФА–Грипп А - IgA", следует обращаться по адресу 142530 Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1, ЗАО "ЭКОлаб"; тел. (49643) 3-23-11, факс (49643) 3-30-93 – отдел сбыта, (49643) 3-37-30 – ОБТК.

Директор ЗАО "ЭКОлаб" по научной работе

С.Г.Марданлы

"СОГЛАСОВАНО"

Генеральный директор

ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

« 08 » 06 2017 г.

П.К. Варнавичус

КРАТКАЯ СХЕМА ИФА

(ИФА- Грипп А-IgA)

Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!	
Внести	в лунку А1– 100 мкл РРО, в лунки В1, С1- по 100 мкл К ⁺ , в лунки D1, E1-по 100 мкл К ⁺ _{пор} в лунки F1,G1 –по 100 мкл К ⁻ , в остальные лунки – вначале по 90 мкл РРО, а затем – по 10 мкл образцов, предварительно разведенных 1:10 в лунках вспомогательного планшета (см. раздел «Предварительное разведение исследуемых образцов»)
Инкубация	30 мин, 21-25 °С
Промыть	4 раза промывочным раствором
Внести	во все лунки по 100 мкл конъюгата
Инкубация	30 мин, 21-25 °С
Промыть	4 раза промывочным раствором
Внести	по 100 мкл раствора индикаторного в каждую лунку
Инкубация	10-15 мин, 21-25 °С
Внести	по 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку
Измерить	ОП при 450 нм (референс 620-650 нм), «бланк» - по лунке с РРО (А1)

ПРОШУ
В КОЛИЧЕСТВЕ 7 ЛИСТОВ

«01» 06 2017 год

Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Барнавичус П.К.



УТВЕРЖДАЮ:
Генеральный директор
ЗАО "ЭКОлаб"

В.Ю. Борисов
20 17 г.

Набор реагентов
Для учреждений здравоохранения

ЗАО "ЭКОлаб"

Тест-система иммуноферментная для выявления
иммуноглобулинов класса А к вирусу Гриппа А

ИФА-Грипп А-IgA

Набор рассчитан на проведение 96 анализов,
включая контрольные

Состав набора

Иммуносорбент	1 шт.
К+, инактивированный	1 фл. (1,2 мл)
К+пор, инактивированный	1 фл. (1,2 мл)
К-, инактивированный	1 фл. (1,2 мл)
Конъюгат	1 фл. (13 мл)
РИ	1 фл. (13 мл)
ПР(x25)	2 фл. (по 40 мл)
РРО	1 фл. (15 мл)
Стоп-реагент	1 фл. (12,5 мл)
РПРО	1 фл. (15 мл)

Принадлежности:

Вспомогательный планшет для предварительного разведения образцов	1 шт.
Вспомогательные пластиковые ёмкости	4 шт.
Одноразовые наконечники для автоматических пипеток	16 шт.
Клейкая пленка для планшетов	4 шт.



HBsAg, антитела к ВГС, ВИЧ-1,2 отсутствуют

ЗАО "ЭКОлаб"

ИФА-Грипп А-IgA

ТУ 9398-185-70423725-2016

РУ №

Каталожный № 29.05.2

Серия 02

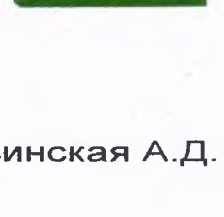
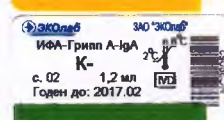
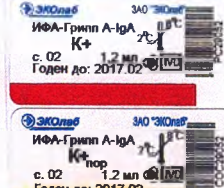
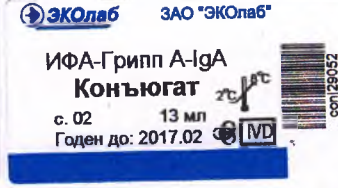
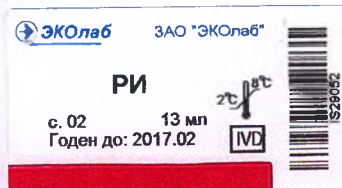
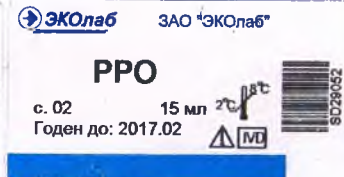
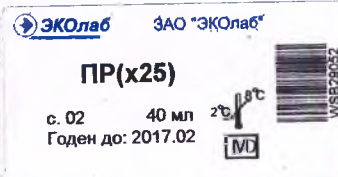
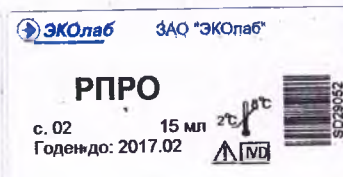
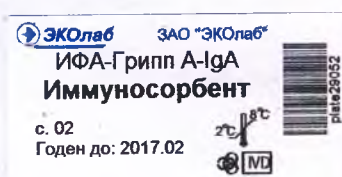
Контрольный № 74

Дата изготовления: 2016.02

Годен до: 2017.02



Товарный знак, наименование предприятия-изготовителя, его адрес, телефоны,
условия хранения, "только для in vitro диагностики" указаны непосредственно
на коробке.



Директор производства ДП

СОГЛАСОВАНО

Начальник ОБТК

Осинская А.Д.

Юрина Т.В.