"УТВЕРЖДАЮ"
Генеральный директор
ЗАО "ЭКОлаб"

_____ В.Ю.Борисов
"14" 03 2017 г.

И Н С Т Р У К Ц И Я
по применению набора реагентов
«Тест-система иммуноферментная для выявления
иммуноглобулинов класса А к вирусу парагриппа 2 типа»
"ИФА - Парагрипп 2 - IgA"

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса А к вирусу парагриппа 2 типа» "ИФА - Парагрипп 2 - IgA" предназначен для качественного выявления видоспецифических иммуноглобулинов класса А к вирусу парагриппа 2 типа в сыворотке (плазме) крови человека методом иммуноферментного анализа (ИФА) на твердофазном носителе при "ручной" постановке и с использованием ИФА-анализаторов.

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Данное серологическое исследование проводится для мониторинга течения инфекционного процесса вызванного вирусом парагриппа 2 типа.

СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

Иммуносорбент	лизатный инактивированный очищенный антиген вируса парагриппа 2 типа, сорбированный на 96-луночном разборном полистироловом планшете для иммунологических реакций с плоским дном (используются "ломающиеся" стрипы)	1 планшет
	допускается раздельная упаковка стрипов (по 1-4 стрипа в пакете)	
Контрольный положительный образец (**К$^+$**)	инактивированный; содержит иммуноглобулины класса А к вирусу парагриппа 2 типа; прозрачная жидкость красного цвета	1 фл. (1,2 мл)
Контрольный образец уровня "среза" (**К$^+_{пор}$**)	инактивированный; содержит иммуноглобулины класса А к вирусу парагриппа 2 типа в "пороговом" титре (1:100); прозрачная жидкость желтого цвета	1 фл. (1,2 мл)
Контрольный отрицательный образец (**К$^-$**)	инактивированный; жидкость зеленого цвета	1 фл. (1,2 мл)
Конъюгат	антитела моноклональные мышиные против иммуноглобулинов человека класса А, меченые пероксидазой 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(х25)**]	прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная пенящаяся жидкость, возможно выпадение осадка солей белого цвета, растворяющегося при температуре 37 ^{0}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)

ЭЛЕКТРОННАЯ КОПИЯ ОФОРМЛЕНА ЦЕНТРОМ ИСПЫТАНИЙ И РЕГИСТРАЦИИ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ

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

2. ПР(х25), РИ,РРО,РПРО, стоп-реагент – унифицированы для всех наборов ЗАО "ЭКОлаб", в которых используются указанные реагенты.

Набор может быть дополнительно укомплектован принадлежностями:

вспомогательным планшетом для предварительного разведения образцов (1 шт.),

вспомогательными пластиковыми емкостями (4 шт.),

одноразовыми наконечниками для автоматических пипеток (16 шт.)

клейкой 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 раздельных 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 парагриппа 2 типа 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, мечеными 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

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

Нативная сыворотка и плазма крови (гепарин, ЭДТА, цитрат натрия) человека объемом не менее 10 мкл.

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

Чувствительность определяется по стандартной панели положительных сывороток предприятия, содержащих иммуноглобулины класса А к вирусу парагриппа 2 типа (СОП$^+$-223), как процентное содержание образцов, определенных набором как положительные, и составляет 100%.

Специфичность определяется по стандартной панели отрицательных сывороток предприятия, не содержащих иммуноглобулины класса А к вирусу парагриппа 2 типа (СОП$^-$-223) как процентное содержание образцов, определенных набором как отрицательные, и составляет 100%.

Диагностическая чувствительность

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Статистическая достоверность результатов диагностической чувствительности испытаний составила:

Заключение	Общее число клинических образцов с истинно положительными результатами анализа (n)	Негативный результат	Позитивный результат	Диагностическая чувствительность (с доверительной вероятностью 95%)
Положительных по иммуноглобулинам класса А к вирусу парагриппа 2 типа	1030	0	1030	99,78% - 100%

Диагностическая чувствительность для каждого вида биологического материала составила:

Клинический материал	Заключение	Результаты испытаний
		Диагностическая чувствительность (с доверительной вероятностью 95%)
Сыворотка крови	Выявлены иммуноглобулины класса А к вирусу парагриппа 2 типа	99,53% - 100%
Плазма крови	Выявлены иммуноглобулины класса А к вирусу парагриппа 2 типа	99,57% - 100%

Диагностическая специфичность

Статистическая достоверность результатов диагностической специфичности испытаний составила:

Заключение	Общее число клинических образцов с истинно отрицательными результатами анализа (n)	Негативный результат	Позитивный результат	Диагностическая специфичность (с доверительной вероятностью 95 %)
Отрицательных по иммуноглобулинам класса А к вирусу парагриппа 2 типа	1150	1150	0	99,79% - 100%

Диагностическая специфичность для каждого вида биологического материала составила:

Клинический материал	Заключение	Результаты испытаний
		Диагностическая специфичность (с доверительной вероятностью 95%)
Сыворотка крови	Не выявлены иммуноглобулины класса А к вирусу парагриппа 2 типа	99,56% - 100%
Плазма крови	Не выявлены иммуноглобулины класса А к вирусу парагриппа 2 типа	99,64% - 100%

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

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

РРО, РПРО содержат натрия азид в конечной концентрации 0,01 %. Данная концентрация является безопасной. Тетраметилбензидин является потенциальным канцерогеном.

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

При работе с реагентами и образцами использовать защитные перчатки

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Набор реагентов, в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» относится к классу Б (эпидемиологически опасные отходы).

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

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.

Защитные перчатки.

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 80 мл ПР(х25) довести водой очищенной до 2 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 иммуносорбента (см. раздел **Проведение ИФА ("ручная" постановка),** п. 2).

Приготовление остальных реагентов

Иммуносорбент, $К^+$, $К^-$, $К^+_{пор}$, РРО, РПРО, конъюгат, РИ, стоп-реагент – готовы к применению.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

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. Неиспользованные стрипы допускается хранить в плотно закрытом пакете с влагопоглотителем при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности.

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 25^{0}С 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 25^{0}С 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 25^{0}С. Флакон с РИ закрыть крышкой.

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, а выведение спектрофотометра на нулевой уровень ("бланк") осуществлять по лунке А1.

Результаты ИФА учитывать при следующих условиях:

среднее значение ОП К+ – не менее 0,60;

среднее значение ОП К+пор – не менее 0,20;

отношение среднего значения ОПК+ к среднему значению ОП К+пор – не менее 1,5;

среднее значение ОП К– – не более 0,10.

В противном случае исследование необходимо повторить.

Образцы учитывают как положительные при ОП≥1,1х ОПК+пор и как отрицательные при ОП<0,9хОПК+пор.

Образцы с ОПобр, лежащем в промежутке от 0,9 до 1,1 - результат сомнительный, рекомендуется исследовать повторно; при повторении "сомнительного" результата необходимо дополнительное обследование пациента.

ПОСТАНОВКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИФА-АНАЛИЗАТОРОВ

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

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

СРОК ГОДНОСТИ

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

ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ

Хранение

В упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 °С до 8 °С. Замораживание не допускается.

После вскрытия упаковок неиспользованные реагенты допускается хранить в плотно закрытых упаковках при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности.

Транспортирование

При температуре от 2 °С до 8 °С. Замораживание не допускается. Допускается транспортирование при температуре от 9 °С до 25 °С в течение 10 сут.

УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для учреждений здравоохранения.

ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

По вопросам, касающимся качества и обращения набора "ИФА - Парагрипп 2 - 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» П.К. Варнавичус

«14» 03 2017 г.

КРАТКАЯ СХЕМА ИФА

(ИФА- Парагрипп 2 -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, Е1-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 А1

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 6 ЛИСТОВ
«14» 03 2017 год

Ген. директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичюс П.К. _____

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью
6 лист 06
Начальник ОНД ЗАО "ЭКОлаб"
_____ Гашенко Т.Ю.
"14" 03 2017 г.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

УТВЕРЖДАЮ:
Генеральный директор
ЗАО "ЭКОлаб"
_____ В.Ю. Борисов
"27" 10 2016 г.

Набор реагентов
Для учреждений здравоохранения

ЗАО "ЭКОлаб"

Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса А к вирусу Парагриппа 2 типа

ИФА-Парагрипп 2-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(х25)	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-Парагрипп 2-IgA

ТУ 9398-223-70423725-2015

РУ №

Каталожный № 29.02.1

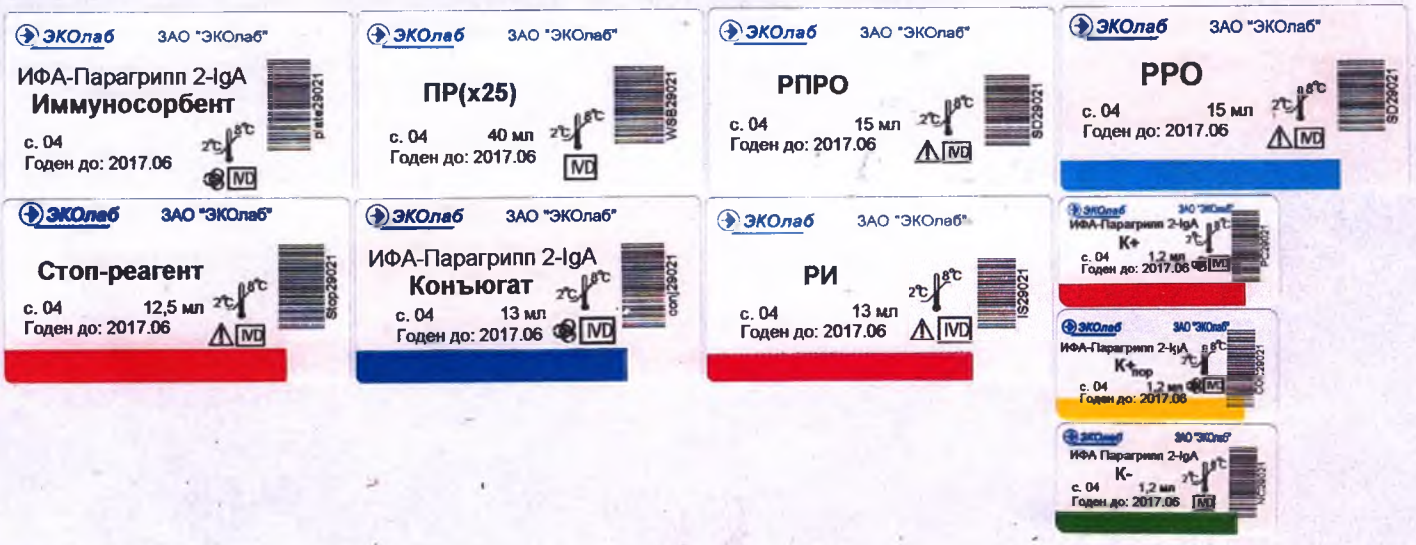
Серия 04 Контрольный № 456

Дата изготовления: 2016.05

Годен до: 2017.06

29.02.1

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



Директор производства ДП Осинская А.Д.

СОГЛАСОВАНО

Начальник ОБТК Юрина Т.В.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU