

"УТВЕРЖДАЮ"

Генеральный директор
ООО «ИМБИАН ЛАБ»



Осипова В.В.
2022 г

ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинского изделия

Набор реагентов для количественного иммуноферментного определения *in vitro* тропонина I в сыворотке крови "Тропонин I-ИМБИАН-ИФА" по ТУ 21.20.23-072-41390295-2021

1. НАИМЕНОВАНИЕ

Набор реагентов для количественного иммуноферментного определения *in vitro* тропонина I в сыворотке крови "Тропонин I-ИМБИАН-ИФА" по ТУ 21.20.23-072-41390295-2021

2. НАЗНАЧЕНИЕ

2.1. Предназначен для выявления сердечного тропонина I (cTnI) с целью диагностики инфаркта миокарда в сыворотке с помощью количественного иммуноферментного анализа.

Предназначен для диагностики *in vitro* при профессиональном применении (врачами, лаборантами, медицинскими работниками), с целью определения наличия или отсутствия тропонина I в исследуемом образце.

2.2. Тропонин представляет собой белковый комплекс, состоящий из 3 белков: тропонина I, тропонина Т, тропонина С. Он входит в состав сократительной системы миоцита и выполняет функцию кальцийзависимого «переключателя» сокращения мышечного волокна. Известны три изоформы тропонина I, одна из которых присутствует только в кардиомиоцитах, а две – в поперечнополосатой мускулатуре. Кардиоспецифический тропонина I имеет молекулярную массу около 22,5 кДа, и структурно отличается от изоформ скелетных мышц (на N-терминальном конце имеет дополнительно 30 аминокислот). Тропонина I является высокочувствительным и высокоспецифическим маркером повреждения миокарда. Выраженная, но кратковременная ишемия, не сопровождающаяся гибелью кардиомиоцитов, не приводит к повышению концентрации тропонина в крови. Некроз миокарда сопровождается поступлением тропонина в периферический кровоток. В этом случае концентрация тропонина I начинает возрастать в сыворотке крови через 4–6 часов от начала острого коронарного синдрома, достигает пика через 12–24 часа и возвращается к норме через 7–14 дней, что обуславливает значительное увеличение «диагностического окна» для выявления повреждения сердечной мышцы.

После успешного проведения тромболизиса наблюдается большой подъем уровня тропонина I по сравнению с пациентами со стойкой окклюзией коронарных артерий, обусловленный феноменом вымывания.

2.3. В комплексе с другими диагностическими методами количественное определение содержания тропонина I в сыворотке крови человека может использоваться для диагностики инфаркта миокарда, оценки реперфузии после применения тромболитической терапии, выделения групп высокого коронарного риска среди больных острым коронарным синдромом без подъема сегмента ST и блокадой пучки Гиса.

Функциональные назначения

Предназначен для диагностики *in vitro* при профессиональном применении (врачами, лаборантами, медицинскими работниками), с целью определения наличия или отсутствия тропонина I в исследуемом образце

Применение изделия с учётом популяционных и демографических аспектов.

Набор предназначен для обследования всех групп населения любого возраста без градации по демографическому или популяционному признаку.

Показания и противопоказания к применению изделия

Показания: Изделие рекомендуется применять для лабораторной диагностики острого инфаркта миокарда (ОИМ), повторного ИМ и ИМ, развившегося на фоне тяжелой органической патологии миокарда.

Противопоказания: не выявлены при использовании обученным персоналом и с учетом применения по назначению.

Возможные побочные эффекты: не выявлены при использовании обученным персоналом и с учетом применения по назначению.

Перечень и описание материалов медицинского изделия, вступающих в непосредственный или опосредованный контакт с организмом пациента (телом человека)

В составе изделия отсутствуют лекарственные средства и фармацевтические субстанции. Изделие не содержит материалы, вступающие в опосредованный контакт с организмом пациента и персонала, использующего изделие, при выполнении требований эксплуатационной документации (инструкции по применению).

Потенциальные потребители изделия

Лабораторные подразделения лечебно-профилактических учреждений.

Профессиональный уровень потенциальных пользователей

Врач клинической лабораторной диагностики, медицинский лабораторный техник.

Методы стерилизации изделия

Изделие не требует стерилизации.

Программное обеспечение работы изделия

Отсутствует.

Техническое обслуживание и ремонт изделия

Изделие не требует технического обслуживания и не подлежит ремонту.

Сведения о метрологической прослеживаемости

Калибраторы аттестованы в соответствии с ГОСТ ISO 17511-2011

Область применения – клиническая лабораторная диагностика

1.4. Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 41 неизвестного образца, 6 калибровочных образцов и 1 контрольного образца (всего 96 определений при использовании всех стрипов планшета).

3. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

3.1. Принципы метода

Метод определения основан на одностадийном твердофазном иммуноферментном анализе с применением двух типов моноклональных антител.

В лунках планшета при добавлении исследуемого образца и конъюгата, во время инкубации происходит связывание тропонина I с моноклональными антителами к тропонину I, иммобилизованными на внутренней поверхности лунок, и моноклональными антителами к тропонину I, конъюгированными с пероксидазой. После удаления избытка несвязавшегося конъюгата, во время инкубации с раствором тетраметилбензидина происходит окрашивание раствора в лунках. Степень окраски прямо пропорциональна концентрации тропонина I в анализируемых образцах. После измерения величины оптической плотности раствора в лунках на основании калибровочного графика рассчитывается концентрация тропонина I в анализируемых образцах.

3.2. Состав набора

1. Планшет разборный, готово для использования – 1 шт.;
2. Калибровочный образец 1, готово для использования – 1 пробирка;
3. Калибровочный образец 2, готово для использования – 1 пробирка;
4. Калибровочный образец 3, готово для использования – 1 пробирка;
5. Калибровочный образец 4, готово для использования – 1 пробирка;
6. Калибровочный образец 5, готово для использования – 1 пробирка;
7. Калибровочный образец 6, готово для использования – 1 пробирка;
8. Контрольный образец, готово для использования – 1 пробирка.;
9. Конъюгат, готово для использования – 1 флакон;
10. Раствор для разведения сывороток (PPC), готово для использования – 1 флакон;
11. Концентрат ФСБ-Т х25 – 1 флакон;
12. Раствор ГМБ, готово для использования – 1 флакон;
13. Стоп-реагент, готово для использования – 1 флакон;
14. Плёнка для заклеивания планшета – 1 шт.;
15. Ванночка для реагентов – 2 шт.;
16. Наконечники для дозатора на 4-200 мкл. – 16 шт.;
17. Вкладыш со сведениями о контрольном образце: - 1 шт.

18. Инструкция – 1 шт.

Принадлежности:

1. Графариет для построения калибровочного графика – 1 шт.

1. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Технические характеристики	
Оптическая плотность калибровочного образца, содержащего 6.0 нг/мл тропонина I (калибровочный образец 6. готово для использования), ед. опт. пл., не менее	1.0
Соотношение оптических плотностей калибровочных образцов, содержащих 0; 0.1; 0.3; 1.0; 3.0 и 6.0 нг/мл тропонина I	$B_0 < B_{0.1} < B_{0.3} < B_{1.0} < B_{3.0} < B_{6.0}$
$(B_{0.1} - B_0) / (B_{6.0} - B_0) \times 100$, %, в пределах	0.8-2.0
$(B_{3.0} - B_0) / (B_{6.0} - B_0) \times 100$, %, в пределах	35-60
Чувствительность, нг/мл, не более	0.02
Показатели правильности определения	
Концентрация в контрольном образце, нг/мл	В пределах, указанных во вкладыше
Коэффициент вариации (К. В.), %, не более	8
Тест на «открытие», %, в пределах	90-110
Тест на «линейность» в диапазоне концентраций, %, в пределах	90-110
Интерсепт, нг/мл, в пределах	
20%	1.0-2.0
50%	2.5-3.8
80%	3.9-5.8
Интерферируемые вещества и перекрёстная реактивность	Интерференция не наблюдалась при исследовании образцов с содержанием гемоглобина (≤ 1200 мг/мл), триглицеридов (≤ 1000 мг/мл) и билирубина (≤ 20 мг/мл). Результаты анализов, проведенных с использованием набора реагентов, свидетельствуют об отсутствии перекрестной реактивности

4.1. Специфичность. Используемые в наборе реагентов моноклональные антитела обеспечивают высокую специфичность выявления тропонина I.

4.2. Воспроизводимость. Коэффициент вариации результатом определения содержания тропонина I в одном и том же образце с использованием набора «Тропонин I – ИФА – БЕСТ» не превышает 8%.

4.3. Линейность. Отклонение от расчётной величины концентрации тропонина I при разведении калибровочных образцов, содержащих 6.0; 3.0; 1.0 нг/мл, в 2 раза; калибровочного образца, содержащего 0.3 нг/мл, в 3 раза. %.

4.4. Точность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации тропонина I предписанной в пробе, полученной путём смешивания равных объёмов контрольного образца и калибровочного образца 0.3 нг/мл. Процент «открытия» составляет 90-110%.

4.5. Чувствительность. Минимальная достоверно определяемая набором концентрация тропонина I не превышает 0.02 нг/мл.

4.6. Референсные значения: <0.1 нг/мл.

4.7. Диагностическая чувствительность набора: (95.81 % - 100%).

4.8. Диагностическая специфичность набора: (89.50 % - 100%).

4.9. Рекомендуется в каждой лаборатории при использовании набора уточнить значения концентрации тропонина I, соответствующие нормальным для данного региона у обследуемого контингента людей.

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

5.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2б. (в соответствии с Приказом МЗ РФ №4н от 06.06.2012).

5.2. Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом. Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

5.3. Все компоненты набора являются нетоксичными. Стоп-реагент, раствор ТМБ (тетраметилбензидина), обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента на кожу и слизистые необходимо промыть поражённый участок большим количеством проточной воды.

5.4. При работе с набором следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

5.5. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы сыворотки крови человека следует рассматривать как потенциально инфекционные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатита или возбудителей других инфекций.

5.6. Химическая посуда и оборудование, которые используются в работе с набором, должны быть соответствующим образом промаркированы и храниться отдельно.

5.7. Запрещается приём пищи, использование косметических средств и курение в помещениях, предназначенных для работы с наборами.

5.8. Для дезинфекции исследуемых образцов, посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, следует использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, например, комбинированные средства на основе ЧАС (четвертичных аммониевых соединений), спиртов, третичных аминов. Использование дезинфицирующих средств, содержащих активный кислород и хлор (H_2O_2 , деохлор, хлорамин), приводит к серьезному искажению результатов ИФА.

5.9. При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению населения, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

– Спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках стрипов при длине волны 450 нм и/или в двухволновом режиме При основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620 нм – 655 нм. В качестве примера - Анализатор имуноферментный автоматический «Evolis», фирма «BioRad», Франция, № ФСЗ 2009/05133

– шейкер термостатируемый орбитального типа, позволяющий производить встряхивание при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$ и 400-800 об/мин:

– холодильник бытовой;

- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости 5-5000 мкл;
- пипетка полуавтоматическая многоканальная со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объёмы жидкости 50, 100 и 300 мкл;
- промывочное устройство для планшетов;
- флаконы вместимостью 10-15 мл;
- цилиндр мерный вместимостью 500 мл;
- колбы вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- дезинфицирующий раствор.

7. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

7.1. Для проведения анализа не следует использовать гемолизированную, мутную сыворотку крови, а также сыворотку крови, содержащую азид натрия.

7.2. Образцы сыворотки крови можно хранить при температуре 2-8°C не более 24 часов или при температуре минус 20°C (и ниже) не более 3 мес.

Повторное замораживание образцов сыворотки крови не допускается. После размораживания образцы тщательно перемешать.

7.3. Образцы сывороток крови, содержащие осадок, необходимо очистить центрифугированием при 1000-1500 об/мин в течение 5 минут при температуре 18-25°C.

8. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

8.1. Перед проведением анализа компоненты набора исследуемые образцы сыворотки крови следует выдержать при температуре 18-25°C в течение времени не менее 30 мин.

8.2. Подготовка планшета разборного

Вскрыть пакет выше замка и установить на рамку необходимое для проведения анализа количество стрипов. Оставшиеся неиспользованные стрипы немедленно поместить вновь в пакет, удалить из него воздух и плотно закрыть замок: хранить при температуре 2-8°C в течение всего срока годности.

8.3. Приготовление калибровочных образцов и контрольного образца

Калибровочные и контрольный образцы готовы к использованию.

Перед проведением анализа флаконы с калибровочными образцами и контрольным образцом встряхнуть.

8.4. Приготовление промывочного раствора

Внести в мерный цилиндр необходимое количество концентрата ФСБ-Т×25 и добавить соответствующее количество дистиллированной воды. При выпадении осадка солей в концентрате необходимо прогреть его при температуре 30-40°C до полного растворения осадка.

В таблице приведен расход реагентов в зависимости от количества используемых стрипов.

Приготовленный промывочный раствор можно хранить при температуре 2-8 С не более 5 сут.

Таблица расхода компонентов набора реагентов

Кол-во используемых стрипов	Промывочный раствор		Конъюгат, мл	Раствор ТМБ, мл
	Концентрат ФСБ-Т х25 (25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином), мл	Дистиллированная вода, мл		
2	4.0	до 100	1,0	2,0
3	6.0	до 150	1.5	3,0
4	8.0	до 200	2.0	4,0
5	10.0	до 250	2.5	6,0
6	12.0	до 300	3.0	6,0
7	14.0	до 350	3.5	7,0
8	16.0	до 400	4.0	8,0
9	18.0	до 450	4,5	9,0
10	20.0	до 500	5.0	10,0
11	22.0	до 550	5,5	11,0
12	24.0	до 600	6.0	12,0

8.5. Подготовка конъюгата.

Конъюгат готов к использованию. В соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) отобрать в чистый флакон или в пластшсовую ванночку для реагента необходимое количество конъюгата. После проведения ИФА остатки конъюгата из флакона или ванночки утилизировать (не сливать во флакон с исходным конъюгатом).

В таблице приведен расход реагентов в зависимости от количества используемых стрипов.

8.6. Подготовка раствора тетраметилбензидина.

Раствор ТМБ готов к использованию. Исключить воздействие прямого света на раствор тетраметилбензидина. Непосредственно перед внесением и в соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) отобрать необходимое количество раствора ТМБ в чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента.

Утилизировать раствор тетраметилбензидина, оставшийся в ванночке или флаконе после проведения ИФА (не сливать во флакон с исходным раствором).

Внимание! Для работы с раствором ТМБ необходимо использовать только одноразовые наконечники. Посуду, предназначенную для раствора ТМБ, нельзя отмывать с применением синтетических моющих средств, поскольку даже их следы ведут к неконтролируемому окислению ТМБ в ходе реакции. После работы посуду ополоснуть водой, промыть 70% этиловым спиртом и тщательно отмыть дистиллированной водой.

8.7. Внести в соответствующие лунки в дубликатах по 100 мкл каждого калибровочного образца и по 100 мкл контрольного образца. В остальные лунки внести в дубликатах по 100 мкл анализируемых образцов сыворотки крови.

Внесение образцов необходимо производить быстро, в течение времени не более 10 мин при использовании всех лунок планшета.

8.8. Внести во все лунки по 50 мкл конъюгата (см п. 7.5).

Для внесения конъюгата использовать ванночку для реагентов и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

8.9. Планшет заклеить пленкой и инкубировать в течение 60 мин при встряхивании на шейкере при температуре 37°C, с интенсивностью перемешивания 650 об/мин.

8.10. По окончании инкубации снять липкую пленку и поместить ее в сосуд в дезинфицирующим раствором. Содержимое лунок удалить в сосуд с дезинфицирующим раствором и промыть лунки планшета 5 раз промывочным раствором (п. 7.4.). При этом в каждую лунку вносить не менее 350 мкл жидкости в процессе одного промывания.

Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. Необходимо следить за полным опорожнением лунок после каждого цикла отмывки. По окончании каждой промывки остатки влаги из лунок тщательно удалить, постукивая перевернутым планшетом по фильтрованной бумаге.

8.11. Внести во все лунки по 100 раствора ТМБ (см. п. 7.6) и инкубировать в темноте в течение 15 мин при встряхивании на шейкере при температуре 37°C, с интенсивностью перемешивания 650 об/мин.

Для внесения раствора ТМБ использовать ванночку для реагента и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

8.12. Внести во все лунки с той же скоростью и той же последовательности, как и раствор ТМБ, по 100 мкл стоп-реагента; при этом содержимое лунок окрашивается в жёлтый цвет.

Примечание: Референсные значения: <0,16 нг/мл

9. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Измерить величину оптической плотности растворов в лунках стрипов на спектрофотометре вертикального сканирования в двухволновом режиме: при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620 нм – 655 нм; допускается измерение при длине волны 450 нм (выведено спектрофотометра на нулевой уровень («бланк»)) осуществлять по воздуху). Измерение проводить не позднее 10 мин после установки реакции.

10. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ

10.1. Построить в линейных координатах калибровочный график зависимости оптической плотности (ед. оп. плотн.) от концентрации тропонина I в калибровочных образцах (нг/мл).

10.2. Определить содержание тропонина I в контрольном образце и анализируемых образцах по калибровочному графику.

10.3. Если концентрация тропонина I в анализируемых образцах сыворотки крови превышает 6 нг/мл, образцы следует развести раствором для разведения сывороток в 10 раз (20 мкл исследуемого образца + 180 мкл раствора для разведения сывороток). повторить анализ и полученный результат умножить на 10.

11. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

11.1. Набор реагентов для количественного иммуноферментного определения in vitro тропонина I в сыворотке крови "Тропонин I-ИМБИАН-ИФА" по ТУ 21.20.23-072-41390295-2021 должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре 2-8 °C в течение всего срока годности (9 мес).

Транспортирование наборов должно производиться всеми видами крытого транспорта с соблюдением условий и требований, установленных на данном виде транспорта, при температуре не от 2 до 8°C. Допускается транспортирование набора при температуре до 25°C не более 10 сут.

Приготовленный промывочный раствор можно хранить при температуре 2-8°C не более 5 сут.

Замораживание компонентов набора не допускается.

11.2. Для получения надёжных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

11.3. Дробное использование набора может быть реализовано в течение всего срока годности. В случае дробного использования набора:

- неиспользованные стрипы можно хранить в плотно закрытом пакете при температуре 2–8°C в течение всего срока годности;

- концентрат ФСБ-Т х25 (25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином), раствор для разведения сывороток (PPC) и стоп-реагент после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре 2–8 °C в течение всего срока годности;

- Раствор ТМБ (тетраметилбензидина) после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре 2–8°C, избегая попадания прямых солнечных лучей, в течение всего срока годности;

- калибровочные образцы, контрольный образец и конъюгат после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре 2–8 °C в течение всего срока годности;

- промывочный раствор можно хранить при температуре 2–8 °C не более 5 сут;

11.4. Построение калибровочного графика необходимо проводить для каждого независимого эксперимента, а также рекомендуется определение концентрации тропонина I в контрольном образце.

11.5. Образцы сыворотки крови можно хранить при температуре 2–8°C не более суток или при температуре минус 20°C (и ниже) не более 3 мес. допускается однократное замораживание-размораживание образцов сыворотки крови.

11.6. Для получения надёжных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

11.7. При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (ФСБ-Тх25, стоп-реагент), которые взаимозаменяемы во всех наборах "Тропонин I-ИМБИАН-ИФА".

12. ГАРАНТИИ

Производитель гарантирует соответствие характеристик изделия заявленным в эксплуатационной документации при условии применения в соответствии с инструкцией и по назначению, предусмотренному производителем.

По всем вопросам, для получения технической консультации, рекламациям и поддержки следует обращаться к производителю на территории РФ:

ООО «ИМБИАН ЛАБ»

Адрес: 630559, Россия, Новосибирская обл., Г.О. Рабочий поселок Кольцово, РП Кольцово, ул. Садовая, д. 2/7, этаж 2, помещ. 2

Телефон: 8-800-600-90-77.

E-mail: info@imbian.ru

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ НА УПАКОВКЕ И ЭТИКЕТКАХ

Символ	Наименование
	Изготовитель
	Дата изготовления
	использовать до...
	температурный диапазон
	обратитесь к инструкции по применению
	код партии
	Беречь от влаги
	Вверх
	Хрупкое, обращаться осторожно
	медицинское изделие для диагностики in vitro
	осторожно! обратитесь к инструкции по применению
	Нестерильно

	номер по каталогу
	содержимое достаточно для проведения n- количества тестов
	Не использовать при поврежденной упаковке
	H302: Вредно при проглатывании, H315: При попадании на кожу вызывает раздражение, H319: При попадании в глаза вызывает выраженное раздражение
	Не допускать воздействия солнечного света
	Обращаться с осторожностью

Сшито и заверено печатью 15
(мед. ос.) лист 06

Генеральный директор ООО «Имбиан лаб»
Осипова В.В.

