

"УТВЕРЖДАЮ"

Генеральный директор
ООО «ИМБИАН ЛАБ»



В.В. Осипова
2021 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинского изделия

**Набор реагентов для количественного иммуноферментного определения in vitro
концентрации D-димера в плазме крови «D димер-ИМБИАН-ИФА»
по ТУ 21.20.23-076-41390295-2021**

(разработана и введена впервые)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Предназначен для количественного определения Д-димера в плазме крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа.

Предназначен для диагностики *in vitro* при профессиональном применении с целью первичной диагностики нарушений системы гемостаза.

В состав набора входят следующие компоненты:

1. Планшет разборный с иммобилизованными моноклональными антителами к D-димеру (96 исследований), готово для использования – 1 шт.
2. Калибровочный образец 1, лиофилизированный - 1 флакон.
3. Калибровочный образец 2, лиофилизированный - 1 флакон.
4. Калибровочный образец 3, лиофилизированный - 1 флакон.
5. Калибровочный образец 4, лиофилизированный - 1 флакон.
6. Калибровочный образец 5, лиофилизированный - 1 флакон.
7. Контрольный образец, лиофилизированный - 1 флакон.
8. Конъюгат, готово для использования - 1 флакон.
9. Раствор для разведения образцов (РРО), готово для использования - 1 флакон.
10. Концентрат ФСБ-Т×25 - 1 флакон.
11. Раствор ТМБ, готово для использования - 1 флакон.
12. Стоп-реагент, готово для использования - 1 флакон.
13. Плёнки для заклеивания планшета - 2 шт.
14. Наконечники для дозаторов на 2-200 мкл. - 16 шт.
15. Ванночки для реагентов - 2 шт.
16. Инструкция по применению – 1 шт.
17. Паспорт – 1 шт.

Принадлежности:

1. Трафарет для построения калибровочного графика - 1 шт.
- Область применения – клиническая лабораторная диагностика.

Описание целевого анализа, сведения о его научной обоснованности

Д-димер – фрагмент молекулы поперечно-сшитого фибрина, образующийся при распаде фибринового сгустка под действием пламина. Предшественником фибрина является растворимый белок плазмы фибриноген, который подвергается ферментативному расщеплению с образованием мономеров фибрина в кровяном русле обнаруживаются крупные фрагменты, содержащие D-D связи (димеры, тримеры и пр.), при лизисе фибриногена – мономерные D и E формы. Активность фибринолиза напрямую связан с количеством продукта деградации фибрина – Д-димера.

Определение Д-димера проводится при подозрении на нарушения в системе свёртывания крови (тромбозе глубоких вен, тромбофлебите, лёгочной эмболии, атеросклерозе, ДВС-синдроме). Д-димер обладает высоким отрицательным предиктивным значением, что позволяет исключить венозные тромбоэмболические осложнения при отрицательном результате анализа. У здоровых людей концентрация Д-димера в крови не превышает 400 – 500 нг/мл ФЭЕ (фибриноген-эквивалентных единиц).

Функциональные назначения

Предназначен для диагностики *in vitro* при профессиональном применении с целью первичной диагностики нарушений системы гемостаза.

Показания и противопоказания к применению изделия

Показания: Изделие предназначено для обследования больных с целью первичной диагностики нарушений системы гемостаза.

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)

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.

Набор рассчитан на проведение анализа 96 образцов, включая контрольный и калибровочные образцы. Возможно дробное использование набора.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Метод определения основан на одностадийном «сэндвич» варианте твердофазного иммуноферментного анализа. В лунки планшета с иммобилизованными моноклональными

антителами вносятся калибровочные и контрольный образцы с известными концентрациями D-димера, исследуемые образцы плазмы и пероксидазный конъюгат антител к D-димеру. Образовавшиеся иммунные комплексы «моноклональные антитела - D-димер-конъюгат» после отмывки избытка конъюгата, выявляют ферментативной реакцией пероксидазы с перекисью водорода в присутствии тетраметилбензидина. После остановки пероксидазной реакции стоп-реагентом измеряют оптическую плотность растворов в лунках. Степень окрашивания пропорциональна концентрации D-димера в образце. Концентрация D-димера в анализируемых образцах рассчитывается на основании калибровочного графика.

2.2. Внешний вид

1.1. Планшет разборный с иммобилизованными моноклональными антителами к D-димеру (96 исследований), готово для использования)	96-луночный разборный полистироловый планшет с прозрачными бесцветными лунками.
1.2. Калибровочный образец 1, лиофилизированный	Аморфные массы розового цвета.
1.3. Калибровочный образец 2, лиофилизированный	Аморфная масса розового цвета.
1.4. Калибровочный образец 3, лиофилизированный	Аморфная масса розового цвета.
1.5. Калибровочный образец 4, лиофилизированный	Аморфная масса розового цвета.
1.6. Калибровочный образец 5, лиофилизированный	Аморфная масса розового цвета.
1.7. Контрольный образец, лиофилизированный	Аморфная масса розового цвета.
1.8. Конъюгат, готово для использования	Жидкость синего цвета.
1.9. Раствор для разведения образцов (РРО), готово для использования	Бесцветная или светло-желтого цвета жидкость.
1.10. Концентрат ФСБ-Т x25	Бесцветная жидкость; допускается наличие осадка солей, растворяющегося при нагревании.
1.11. Раствор ТМБ, готово для использования	Бесцветная или светло-желтого цвета жидкость.
1.12. Стоп-реагент, готово для использования	Бесцветная жидкость.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. * Воспроизводимость - коэффициент вариации не превышает 8%.

3.2. * Линейность в диапазоне концентраций D-димера 250-3000 нг/мл - в пределах 90 % - 110%.

3.3. * Тест на «открытие» - в пределах 90 % - 110%.

3.4. * Аналитическая чувствительность - минимально определяемая концентрация D-димера не превышает 10 нг/мл.

3.5. * Аналитическая специфичность - способность набора обнаруживать D-димер в присутствии различных примесей или матрицы биоматериала и составляет 100 %

3.6. Нормальное значение концентрации D-димера в плазме не превышает 400 – 500 нг/мл ФЭЕ (фибриноген-эквивалентных единиц). Рекомендуется в каждой лаборатории при использовании набора уточнить значения концентрации D-димера, соответствующие нормальным для данного региона.

*по ГОСТ Р 51352-2013

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора- класс 2а. (по приказу МЗ РФ 4н от 6 июня 2012)

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

4.3. Стоп-реагент и раствор ТМБ обладают раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента и раствора ТМБ на кожу и слизистые необходимо промыть поражённый участок большим количеством проточной воды. Некоторые компоненты содержат ProClin 300, ProClin 150, фенол, кислоту серную, натрия мертиолят, тетраметилбензидин в концентрациях.

Все компоненты набора, содержащие в своем составе материалы человеческого происхождения, инактивированы.

4.4. При работе с исследуемыми и контрольным образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом. Основные правила работы изложены в «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР 17 января 1991 г.

4.5. 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».

4.6. Дезинфекцию наборов реагентов, посуды и материалов, контактировавших с исследуемыми и контрольными образцами, следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- спектрофотометр, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках планшета при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620 - 655 нм; допускается измерение при одной длине волны - 450 нм;
- термостатируемый шейкер орбитального типа, поддерживающий температуру $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$, с интенсивностью перемешивания 700 об/мин;
- промывочное устройство для планшетов;
- холодильник бытовой;
- дозаторы одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 5 до 1000 мкл;
- дозаторы многоканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкостей от 5 до 300 мкл;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- флаконы вместимостью 15 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- дезинфицирующие средства.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Требования к условиям и процедурам ведения преаналитического этапа клинических лабораторных исследований с целью исключения или ограничения влияния эндогенных, экзогенных, ятрогенных и иных факторов, мешающих правильному отражению состояния внутренней среды обследуемых пациентов в результатах клинических лабораторных исследований изложены в ГОСТ Р 53079.4-2008 «Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа».

Взятие, транспортирование и хранение исследуемого материала осуществляется согласно МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории», утвержденным Роспотребнадзором и Рекомендациям

«Организация преаналитического этапа при централизации лабораторных исследований», одобренным профильной комиссией Минздрава России по клинической лабораторной диагностике 30.05.2013.

6.2. Для анализа использовать образцы плазмы крови, полученной с использованием в качестве антикоагулянта цитрата натрия (3,2% или 3,8%). Не использовать для анализа сыворотку крови!

6.3. Образцы плазмы крови хранить при температуре (18-26) °С не более 3 часов, при температуре (2-8) °С не более 24 часов или при температуре минус 18 °С и ниже, если требуется более длительное хранение. После размораживания образцы следует тщательно перемешать.

6.4. Образцы плазмы крови, содержащие взвешенные частицы, необходимо очистить центрифугированием.

7. ПОДГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

7.1. Внимание! Тщательное соблюдение описанных ниже требований позволит избежать искажения результатов ИФА.

- Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать при температуре (18-26) °С не менее 30 мин.

- При дробном использовании набора после отбора необходимого количества компонентов флаконы с растворами необходимо плотно закрыть, а оставшиеся стрипы сразу упаковать в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух и плотно закрыть замок. Упакованные стрипы, плотно закрытые флаконы с исходными компонентами (кроме калибровочных и контрольного образцов) хранить при температуре (2-8) °С, использовать в течение всего срока годности. Допускается хранение концентрата ФСБ-Т х25 и стоп-регента при температуре (2-30) °С. Флаконы с калибровочными и контрольным образцами после восстановления хранить только в замороженном состоянии при температуре -18 °С и ниже, в течение всего срока годности набора,

- Необходимо избегать воздействия прямого солнечного света на раствор ТМБ при подготовке и проведении ИФА.

- При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (концентрат ФСБТ х25, раствор ТМБ, стоп-реагент), которые взаимозаменяемы в наборах ООО «ИМБИАН ЛАБ».

- Нельзя использовать реагенты из наборов других фирм-производителей. - Для приготовления растворов и проведения ИФА следует использовать одноразовые наконечники для дозаторов.

- При использовании автоматического устройства для промывки планшетов необходимо следить за чистотой ёмкости для промывочного раствора и соединительных шлангов: в них не должно быть микробной контаминации. Для предотвращения засорения игл промывочного устройства в конце рабочего дня обязательно следует выполнить процедуру

ополаскивания системы подачи жидкости дистиллированной водой. Один раз в неделю необходимо производить замачивание всей системы промывочного устройства в 70% этиловом спирте или в другом растворе, рекомендованном инструкцией к прибору.

- Для дезинфекции посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС (четвертичных аммониевых соединений), спиртов, третичных аминов.

- В случае повторного использования посуды (ванночки) для конъюгата необходимо

промыть проточной водой и тщательно ополоснуть дистиллированной водой; посуду (ванночки) для раствора ТМБ ополоснуть водой, промыть 70% этиловым спиртом, а затем дистиллированной водой. Нельзя обрабатывать посуду (ванночки) дезинфицирующими растворами и моющими средствами.

- Дозаторы и рабочие поверхности обрабатывать только 70% раствором этилового спирта. Не использовать перекись водорода, хлорамин.

7.2. Подготовка планшета.

Вскрыть пакет с планшетом выше замка. Оставить на рамке необходимое для проведения анализа количество стрипов.

7.3. Приготовление промывочного раствора.

Перемещать содержимое флакона с концентратом ФСБ-Т х25. При выпадении в концентрате осадка солей необходимо прогреть его при температуре (30) °С до полного растворения осадка.

В соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов набора) внести в мерный цилиндр необходимое количество концентрата ФСБ-Т х25 и довести до соответствующего объема дистиллированной водой, тщательно перемешать.

Хранение: при температуре (2-8) °С не более 1 месяца или при (18-26) °С не более 7 дней.

7.4. Калибровочные и контрольный образцы.

Готовить непосредственно перед проведением анализа! ** В каждый флакон с лиофилизированными калибровочными и контрольным образцами добавить по 150 мкл дистиллированной воды, выдержать в течение 10 минут и тщательно перемешать пипетированием, избегая образования пены. Сразу после отбора необходимого количества образцов (восстановленных либо размороженных) флаконы тщательно закрыть и поместить в морозильную камеру. Допускается не более 5 циклов замораживания/оттаивания.

7.5. Конъюгат.

Конъюгат готов к использованию. В соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) отобрать в чистый флакон или в ванночку для реагента необходимое количество конъюгата.

7.6. Раствор ТМБ.

Раствор ТМБ готов к использованию. В соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) отобрать необходимое количество раствора ТМБ в чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента.

7.7. Стоп-реагент. Стоп-реагент готов к использованию.

Таблица расхода компонентов

Количество используемых стрипов	Промывочный раствор		Конъюгат, мл	Раствор ТМБ, мл
	Концентрат ФСБ-Т×25, мл	Дистиллированная вода, мл		
2	4,0	до 100	2,0	2,0
3	6,0	до 150	3,0	3,0
4	8,0	до 200	4,0	4,0
5	10,0	до 250	5,0	5,0
6	12,0	до 300	6,0	6,0
7	14,0	до 350	7,0	7,0
8	16,0	до 400	8,0	8,0
9	18,0	до 450	9,0	9,0
10	20,0	до 500	10,0	10,0
11	22,0	до 550	11,0	11,0
12	24,0	до 600	12,0	12,0

8. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

8.1. Внести в дублях, начиная с верхних лунок первых двух стрипов, по 10 мкл каждого калибровочного образца и по 10 мкл контрольного образца. В остальные лунки внести в дублях по 10 мкл анализируемых образцов плазмы крови. время внесения образцов не должно превышать 10 мин.

8.2. Внести во все лунки по 100 мкл конъюгата (см п. 7.5). Стрипы заклеить пленкой и инкубировать 60 мин при встряхивании в термостатируемом шейкере при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ с интенсивностью перемешивания 700 об/мин. Остатки конъюгата из ванночки или флакона утилизировать (не сливать во флакон с исходным конъюгатом).

8.3. По окончании инкубации снять липкую пленку и поместить ее в сосуд с дезинфицирующим раствором. С помощью промывочного устройства промыть лунки планшета 5 раз промывочным раствором (п. 7.3), чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок каждого стрипа. В каждую лунку вносить 400 мкл жидкости в процессе каждого цикла промывки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. По окончании промывки остатки влаги из лунок тщательно удалить, постукивая перевернутым планшетом по фильтровальной бумаге.

8.4. Внести во все лунки по 100 мкл раствора ТМБ (см п. 7.6). Стрипы заклеить пленкой и инкубировать 15 мин при встряхивании в термостатируемом шейкере при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ с интенсивностью перемешивания 700 об/мин

Остатки раствора ТМБ из ванночки или флакона утилизировать (не сливать во флакон с исходным конъюгатом).

8.5. Внести во все лунки по 100 мкл стоп-реагента.

8.6. Измерить величину оптической плотности (ОП) растворов в лунках на спектрофотометре в двухволновом режиме: при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620 - 655 нм. Допускается измерение при одной длине волны - 450 нм. Время между остановкой реакции и измерением оптической плотности не должно превышать 5 мин.

9. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ

9.1. Построить в линейных координатах калибровочный график зависимости среднего арифметического значения оптической плотности (ед. опт. плотн.) от концентрации D-димера в калибровочных образцах (нг/мл). Построение калибровочного графика необходимо проводить для каждого независимого эксперимента.

9.2. Определить концентрацию D-димера в контрольном образце и анализируемых образцах по калибровочному графику. Значение концентрации D-димера в контрольном образце должно попадать в пределы, указанные на этикетке флакона.

9.3. Если значение оптической плотности образца превышает значения ОП для калибровочного образца 3000 нг/мл, то данный образец анализируют повторно после дополнительного разведения раствором для разведения образцов в 2,4,8 раз. Дополнительные разведения выподнять в отдельной чистой пробирке при тщательном перемешивании анализируемого образца и РРО, затем повторить анализ и полученный для данного образца результат умножить на величину дополнительного разведения (2,4,8).

10. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

10.1. Транспортировать изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, при температуре (2-8) °С. Допускается транспортирование при температуре до 26 °С не более 10 суток.

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре (2-8) °С в течение всего срока годности.

10.3. Срок годности набора - 12 месяцев со дня выпуска. Не допускается применение наборов по истечении срока их годности.

Приготовленный промывочный раствор хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 1 месяца или при (18-26) °С не более 7 дней.

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

10.5. Набор предназначен для однократного применения

11. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

11.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации. Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

11.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

11.3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

По вопросам, касающимся качества медицинского изделия, следует обращаться в ООО «ИМБИАН ЛАБ» по адресу:

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

тел. 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 13

(тридцать) лист 6

Генеральный директор ООО «Имбиан лаб»

Осипова В.В.

