УТВЕРЖДАЮ
Директор ООО фирмы
«Технология-Стандарт»
_____ А.П. Момот
«___» _____ 2017 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения D-димера в плазме крови

(Тех-D-димер-тест)

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор «Тех-D-димер-тест» предназначен для качественного или полуколичественного определения D-димера в плазме крови человека. D-димер – один из важнейших маркеров активации свёртывания крови, поскольку он формируется и попадает в кровоток в результате образования и последующего лизиса плазмином стабилизированного фибрина. D-димер присутствует в плазме крови практически здоровых людей, однако его уровень в норме не превышает 250 нг/мл. Повышение уровня D-димера имеет диагностическое значение у больных с тромбозом глубоких вен, тромбоэмболией легочной артерии, ДВС-синдромом различного генеза, при тромболитической терапии, беременности.

Набор реагентов предназначен только для профессионального использования.

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Принцип метода. В тесте используются моноклональные антитела, специфичные к D-димеру фибрина, но не к фибриногену и продуктам его деградации. Антитела связаны с частицами латекса, поэтому при смешивании на горизонтальной поверхности латексной суспензии с плазмой, содержащей D-димер, появляется видимая агглютинация.

Состав набора (варианты комплектации):

Комплектация № 1

1. Латексный реагент (суспензия латексных частиц, покрытых моноклональными антителами к D-димеру), 0,9 мл – 1 фл.
2. Позитивный контроль (лиофилизированная плазма с высоким уровнем D-димера), на 1 мл – 1 фл.
3. Негативный контроль (лиофилизированная плазма, не содержащая D-димер), на 1 мл – 1 фл.
4. Буфер солевой, 10 мл – 1 фл.
5. Пластина тестовая (на 6 тестовых ячеек) – 8 шт.
6. Палочка для перемешивания – 25 шт.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Комплектация № 2

1. Латексный реагент (суспензия латексных частиц, покрытых моноклональными антителами к D-димеру), 1,7 мл – 1 фл.

2. Позитивный контроль (лиофилизированная плазма с высоким уровнем D-димера), на 1 мл – 1 фл.

3. Негативный контроль (лиофилизированная плазма, не содержащая D-димер), на 1 мл – 1 фл.

4. Буфер солевой, 10 мл – 2 фл.

5. Пластина тестовая (на 6 тестовых ячеек) – 16 шт.

6. Палочка для перемешивания – 50 шт.

Комплектация № 3

1. Латексный реагент (суспензия латексных частиц, покрытых моноклональными антителами к D-димеру), 0,9 мл – 1 фл.

2. Латексный реагент (суспензия латексных частиц, покрытых моноклональными антителами к D-димеру), 1,7 мл – 1 фл.

3. Позитивный контроль (лиофилизированная плазма с высоким уровнем D-димера), на 1 мл – 1 фл.

4. Негативный контроль (лиофилизированная плазма, не содержащая D-димер), на 1 мл – 1 фл.

5. Буфер солевой, 10 мл – 3 фл.

6. Пластина тестовая (на 6 тестовых ячеек) – 22 шт.

7. Палочка для перемешивания – 70 шт.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Результаты, получаемые при применении набора «Тех-D-димер-тест», являются качественными, т.е. расцениваются как положительные или отрицательные, а при исследовании разведений плазмы – как полуколичественные.

При исследовании контрольной плазмы (позитивный контроль), входящей в состав набора, отмечается наличие агглютинации частиц латекса в течение не более 200 с.

При исследовании контрольной плазмы (негативный контроль), входящей в состав набора «Тех-D-димер-тест», отмечается отсутствие агглютинации частиц латекса в течение 200 с.

Чувствительность латексного реагента к D-димеру составляет 250 нг/мл.

Использование в наборе высокоочищенных моноклональных антител для покрытия латексных частиц, позволяет достичь высокой специфичности определения. Латексный реагент высокоспецифичен по отношению к D-димеру и не дает перекрестных реакций с фибриногеном и продуктами его деградации.

Нормативные и фактические значения аналитических показателей указаны в паспорте к набору.

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Диагностическая чувствительность набора составила 96,24%, диагностическая специфичность – 94,40% с доверительной вероятностью 90%. Данные получены при проведении клинических испытаний в экспертной организации.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а (приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 4н от 06.06.2012 г.).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения in vitro.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

Компоненты набора реагентов не содержат антитела к ВИЧ 1, 2 и вирусу гепатита С и HBsAg.

При работе с набором следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

При работе с набором следует надевать одноразовые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатитов или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

ОБОРУДОВАНИЕ, МАТЕРИАЛЫ, РЕАГЕНТЫ

- Центрифуга лабораторная;
- дозаторы на 0,02, 0,1, 1,0 мл;
- вода дистиллированная;
- секундомер;
- пробирки;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ АНАЛИЗИРУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую пробирку, содержащую 3,2-3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрат натрия). Соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Возможно использование вакуумных систем для забора крови, содержащих цитрат натрия (3,2-3,8 %). Кровь центрифугируют при 1200-1600 g в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы крови, имеющей сгустки, гемолиз и полученной более 2 ч назад, а также замороженной плазмы крови.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ И ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ К РАБОТЕ

Латексный реагент в составе данного набора находится в жидком состоянии. Перед использованием требует тщательного перемешивания (рекомендуется использовать устройство типа Вортекс).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Буфер солевой в составе данного набора находится в жидком состоянии и готов к использованию.

Во флакон с позитивным контролем внести 1,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °С) и легком покачивании в течение 3 мин. Аналогично развести содержимое флакона с негативным контролем.

Все реагенты перед использованием необходимо выдержать при комнатной температуре в течение не менее 10 мин.

2. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

2.1. КАЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ (СКРИНИНГ)

1. Добавить 0,02 мл исследуемого образца или контрольной плазмы в одну из ячеек тестовой пластины.

2. Добавить в эту же ячейку (рядом с образцом) 0,02 мл латексного реагента.

3. Быстро перемешать образцы и латексный реагент, используя палочку для перемешивания. Включить секундомер.

4. Осторожно покачивая пластину через 180-200 с определить наличие или отсутствие агглютинации частиц латекса.

Если в исследуемых образцах отсутствует агглютинация, то результат следует считать отрицательным и дальнейшего исследования образцы не требуют.

Агглютинация (результат положительный) характеризуется появлением негомогенности смеси, усиливающейся с течением времени.

Агглютинацию частиц латекса в образцах сравнивают с результатами исследования контрольных плазм. Позитивный контроль является только качественным и не подлежит дальнейшему разведению.

Иногда образцы при смешивании с латексом могут дать белые хлопья, которые нельзя путать с агглютинацией.

2.2. ПОЛУКОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ

Выполняется только с образцами, показавшими положительный результат при качественном анализе (скрининге, см. п. 2.1).

1. Последовательно развести 0,1 мл исследуемого образца в 2, 4, 8 и 16 раз с помощью буфера солевого в соответствии с таблицей 1.

Таблица 1

Схема разведения образца плазмы для выполнения полуколичественного анализа

№ разведения образца	Разведение образца плазмы	Исследуемый образец плазмы	Буфер солевой
1	1+1	0,1 мл	0,1 мл
2	1+3	0,1 мл разведения №1	0,1 мл
3	1+7	0,1 мл разведения №2	0,1 мл
4	1+15*	0,1 мл разведения №3	0,1 мл

* при концентрации D-димера >4000 нг/мл целесообразно использовать более высокие разведения исследуемого образца

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

2. Промаркировать пластины тестовые, указав величину разведения образца и смешать соответствующие разведения образца с латексной суспензией на пластине тестовой, как описано в процедуре для качественного анализа (см. п. 2.1).

3. Агглютинация частиц латекса появляется в течение 180-200 с в образцах с содержанием D-димера выше 250 нг/мл.

Исследуя разведения образцов, вызывающих агглютинацию, определяют концентрацию D-димера в соответствии с формулой:

D-димер (нг/мл) = 250 × F,

где F – наибольшее разведение образца, вызывающее агглютинацию латексных частиц.

Пример вычисления концентрации D-димера представлен в таблице 2.

Таблица 2

Пример учета результатов агглютинации частиц латекса при определении D-димера

Разведение (образец + буфер солевой)	F	Результат агглютинации
Без разведения	1	+
1+1	2	+
1+3	4	+
1+7	8	-
1+15	16	-

D-димер (нг/мл) = 250 × 4 = 1000 нг/мл

При высоких концентрациях D-димера агглютинация более выражена и проявляется быстрее.

3. ЧТЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Повышение уровня D-димера (свыше 250 нг/мл) характерно для различных вариантов внутрисосудистого свертывания крови (тромбозы магистральных сосудов, ТЭЛА, ДВС-синдром и др.). Высокие показания теста наблюдаются и при лечении больных активаторами фибринолиза (стрептокиназой, авелизином, актилизе и др.), в связи с чем метод используется в комплексе с определением концентрации фибриногена для контроля такой терапии.

4. ВНУТРИЛАБОРАТОРНЫЙ КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для проведения внутрилабораторного контроля качества рекомендуется использовать позитивный и негативный контроли. Контрольные плазмы разводятся в день исследования и служат для проверки правильности выполнения анализа.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

Набор рассчитан на исследование 45 образцов плазмы крови в комплектации № 1, в комплектации № 2 – 85 образцов плазмы крови и в комплектации № 3 – 130 образцов плазмы крови, при расходе латексного реагента по 20 мкл на 1 анализ.

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности (18 мес) в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим.

Допускается транспортировка набора при температуре до +25 °С в течение 30 суток транс-

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

портом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида.

Разведенные контрольные плазмы можно хранить при комнатной температуре (+18... +25 °С) не более 8 ч, при температуре +2... +8 °С в течение недели. Допускается однократное замораживание плазмы при -20...-40 °С и хранение в течение месяца.

Латексный реагент и буфер солевой, после вскрытия флаконов можно хранить при комнатной температуре (+18... +25 °С) не более двух недель или не более месяца – при температуре +2... +8 °С, не замораживать.

Не следует смешивать реагенты из наборов разных серий.

Медицинское изделие, пришедшее в негодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежит утилизации как медицинские отходы класса А (СанПиН 2.1.7.2790-10).

ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации в течение указанного срока годности при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и применения.

Безопасность, качество и эффективность изделия гарантируются производителем в течение всего срока годности.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора. Любые отклонения от рекомендованных процедур проведения анализа и приготовления реагентов могут привести к получению неверных результатов исследования.

По вопросам, касающимся качества набора «Тех-D-димер-тест», следует обращаться в ООО фирму «Технология-Стандарт» по адресу: 656037, г. Барнаул, а/я 1351; тел.: (3852) 22-99-37, 22-99-38, 22-99-39. E-mail: mail@tehnologia-standart.ru. http://www.tehnologia-standart.ru.

Составители:
Директор ООО фирмы
«Технология-Стандарт» д.м.н., проф. _____ А.П. Момот

«СОГЛАСОВАНО»
Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР» _____ П.К. Варнавичус
«___» 05 МАЙ 2017 2017 г.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru