Версия 2-2022

«**УТВЕРЖДАЮ**»
Генеральный Директор
АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»

_____ А.Г. Плехов

«___» _____ 2022 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов
для количественного иммуноферментного определения
25-ОН витамина D
в сыворотке крови человека
«25-ОН витамин D-Имаксиз (IMAXYZ)»
ТУ 21.20.23-116-94568735-2021

1. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ

1.1. НАЗНАЧЕНИЕ. Набор реагентов для количественного иммуноферментного определения 25-ОН витамина D в сыворотке крови человека «25-ОН витамин D-Имаксиз (IMAXYZ)» предназначен для количественного определения концентрации 25-гидрокси-витамина D (сокращенно 25-ОН витамин D) в сыворотке крови человека. Набор предназначен для лабораторной in vitro диагностики и применяется для оценки статуса 25-ОН витамина D в организме человека. Набор может быть использован для обследования всех групп населения без градации по демографическому или популяционному признаку.

1.2. Область применения - в клинической лабораторной диагностике, клинической медицине и медицинской биохимии.

Набор «25-ОН витамин D-Имаксиз (IMAXYZ)» может быть использован на фотометрах вертикального сканирования, позволяющих производить измерение оптической плотности раствора в лунках при 450 нм. Для проведения анализа необходим автоматический промыватель для микропланшетов или дозирующее устройство и прибор для встряхивания микропланшета (термостатируемый шейкер), позволяющий производить встряхивание со скоростью 650–800 об/мин при комнатной температуре +18–25 °С. Набор может быть использован на автоматических иммуноферментных анализаторах, программы адаптации на автоматические анализаторы предоставляются по запросу.

1.3. Показания к использованию набора – обследование пациентов с заболеваниями, связанными с дефицитом или передозировкой витамина D. Противопоказаний нет.

1.4. Функциональное назначение набора – диагностика дефицита или передозировки витамина D, при снижении всасываемости витамина D в кишечнике, гипокальцемии, гипофосфатемии, гипокальцеурии, при повышенном уровне щелочной фосфатазы, при деминерализации костной ткани.

Показания к назначению исследования:

- дефицит витамина D (симптомы рахита у детей, остеопороза – у взрослых);
- комплексная диагностика обмена кальция;
- синдром мальабсорбции (нарушение всасывания питательных веществ в кишечнике);
- контроль эффективности лечения препаратами, содержащими витамин D;
- подготовка к беременности или во время беременности;
- повышенная усталость, депрессивные состояния.

Избыток витамина D обладает токсическим эффектом (чаще наблюдается у детей). В таком случае нарушается обмен кальция и фосфора, страдают почки, возникает задержка роста, нарушается функционирование иммунной системы, появляются тошнота, рвота, запоры, снижаются аппетит и масса тела.

1.5. Витамин D относится к группе жирорастворимых витаминов. Витамин D и его метаболиты можно разделить на группу холекальциферола (витамина D_3) и группу эргокальциферола (витамина D_2). Из них витамин D_3 образуется, главным образом, в коже под воздействием ультрафиолетовых лучей солнечного света, а источником витамина D_2 служит пища. Обозначение D без указания цифровых индексов подразумевает суммарно D_2 и D_3. Нативный витамин D, образующийся в коже и получаемый из продуктов питания, биологически инертен. Для активации и превращения в активную форму в организме он проходит два процесса гидроксилирования: в печени путем гидроксилирования витамина D_3

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

(холекальциферол) ферментом холекальциферол 25 - гидроксилазой. Затем 25-гидрокси витамин D превращается в почках с помощью фермента 25 (OH) D-1α-гидроксилазы в кальцитриол (1,25- (OH) $2D_3$), который является активной формой витамина D. Он также может быть преобразован в 24-гидроксикальцидиол в почках посредством 24-гидроксилирования.

Концентрация общего 25-OH витамина D считается лучшим индикатором статуса витамина D в организме, именно этот показатель рекомендовано использовать для выявления дефицита витамина D и контроля применения препаратов витамина D в лечебных целях. Важно, что в данном исследовании 25-OH витамин D_2 и 25-OH витамин D_3 измеряются эквимолярно, и суммарный результат 25-OH витамин D отражает вклад обоих компонентов. Диапазон нормы широко варьируется в зависимости от нескольких факторов, включая возраст и географическое положение.

Определение концентрации активной формы – 1,25-дигидроксивитамина D – для оценки статуса витамина D не рекомендовано, это целесообразно лишь при некоторых заболеваниях в качестве дополнительного к 25-OH витамина D теста.

1.6. Набор «25-OH витамин D-Имаксиз (IMAXYZ)» рассчитан на проведение анализа в дубликатах 40 неизвестных, 6 калибровочных проб, одной пробы контрольной сыворотки и одной пробы для определения оптической плотности раствора тетраметилбензидина (ТМБ), всего 96 определений при использовании всех стрипов одновременно.

В случае дробного применения необходима обязательная постановка всех калибровочных проб для каждого отдельного анализа.

1.7. В состав набора входят следующие компоненты:

- микропланшет – 1 упаковка;
- конъюгат – 1 флакон (14 мл);
- комплект калибровочных проб – 6 флаконов (по 0,5 мл);
- контрольная сыворотка – 1 флакон (0,5 мл);
- буфер А – 1 флакон (14 мл);
- буфер ДН – 1 флакон (14 мл);
- раствор ТМБ – 1 флакон (14 мл);
- стоп-реагент – 1 флакон (14 мл);
- Буфер П – 1 флакон (50 мл);
- пакет закрывающийся – 1 шт.;
- пленка для заклеивания микропланшета – 2 шт.;
- ванночки для внесения реагентов – 2 шт.;
- одноразовые наконечники для дозаторов – 16 шт.

1.8. Потенциальный потребитель - квалифицированные лабораторные и медицинские работники или прошедшие обучение врачи, медсестры или техники-лаборанты, или врачи клинико-диагностических лабораторий. Профессиональная квалификационная группа «Врачи и провизоры» всех уровней (Приказ №526 от 06.08.2007г. «Об утверждении профессиональных квалификационных групп должностей медицинских и фармацевтических работников.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

В наборе «25-OH витамин D-Имаксиз (IMAXYZ)» использована технология количественного конкурентного твердофазного иммуноферментного анализа. Для реализации этого варианта на внутренней поверхности лунок микропланшетов иммобилизованы антитела к 25-OH витамину D.

На первой стадии анализа при добавлении калибровочных и исследуемых образцов и денатурирующего буфера происходит диссоциация аналита (25-OH витамина D) с белком-переносчиком, высвободившийся 25-OH витамин D связывается с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок антителами к 25-OH витамину D.

На второй стадии при добавлении конъюгата 25-OH витамина D с пероксидазой происходит его связывание с оставшимися свободными антителами к 25-OH витамину D, иммобилизованными на внутренней поверхности лунок.

По окончании инкубации во время промывки происходит удаление всех не связавшихся компонентов из зоны реакции, причем количество связанного конъюгата будет обратно пропорционально количеству 25-OH витамин D, содержащегося в исследуемых образцах.

Во время инкубации с раствором ТМБ происходит окрашивание в синий цвет раствора в лунках. Степень окраски обратно пропорциональна концентрации 25-OH витамина D в анализируемых образцах.

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

Реакцию останавливают, добавляя стоп-реагент (при этом цвет раствора меняется с синего на желтый). Измеряют оптическую плотность раствора в лунках и проводят расчет концентрации 25-ОН витамина D в исследуемых образцах и контрольных материалах по калибровочному графику.

Калибровочный график строится на основании результатов анализа калибровочных проб, участвующих в анализе одновременно с исследуемыми образцами.

2. СОСТАВ НАБОРА

МИКРОПЛАНШЕТ — **1 упаковка**

Разборный полистирольный микропланшет со стрипами, разделяемыми на отдельные лунки, с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок моноклональными антителами к 25-ОН витамину D, маркирован «Микропланшет с антителами к 25-ОН витамину D».

КОНЪЮГАТ — **флакон, 14 мл**

Конъюгат 25-ОН витамина D с пероксидазой, маркирован «Конъюгат».

КАЛИБРОВОЧНЫЕ ПРОБЫ (КП)

Калибровочные пробы на основе сыворотки крови, изготовленные гравиметрическим методом и аттестованные по внутреннему референсному стандарту производства АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн», изготовленного с использованием 25-ОН витамина D (чистота по данным ВЭЖХ ≥98%).

КП № 1 – 1 флакон, 0,5 мл, содержащий известное количество 25-ОН витамина D, маркирован «Калибровочная проба № 1».

КП № 2 – 1 флакон, 0,5 мл, содержащий известное количество 25-ОН витамина D, маркирован «Калибровочная проба № 2».

КП № 3 – 1 флакон, 0,5 мл, содержащий известное количество 25-ОН витамина D, маркирован «Калибровочная проба № 3».

КП № 4 – 1 флакон, 0,5 мл, содержащий известное количество 25-ОН витамина D, маркирован «Калибровочная проба № 4».

КП № 5 – 1 флакон, 0,5 мл, содержащий известное количество 25-ОН витамина D, маркирован «Калибровочная проба № 5».

КП № 6 – 1 флакон, 0,5 мл, содержащий известное количество 25-ОН витамина D, маркирован «Калибровочная проба № 6».

КОНТРОЛЬНАЯ СЫВОРОТКА (КС) — **1 флакон, 0,5 мл**

Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови, изготовленная гравиметрическим методом и аттестованная по внутреннему референсному стандарту производства АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн», изготовленного с использованием 25-ОН витамина D (чистота по данным ВЭЖХ ≥98%).

Примечание

Точные номиналы калибровочных проб и контрольной сыворотки указаны на этикетках флаконов и в паспорте к набору реагентов.

БУФЕР А — **1 флакон, 14 мл**

Водно-солевой раствор, маркирован «Буфер А».

ДЕНАТУРИРУЮЩИЙ БУФЕР — **1 флакон, 14 мл**

Водно-солевой раствор, содержащий вытесняющий агент, маркирован «Буфер ДН»

РАСТВОР ТМБ — **1 флакон, 14 мл**

Раствор тетраметилбензидина, маркирован «Раствор ТМБ».

СТОП-РЕАГЕНТ — **1 флакон, 14 мл**

1М соляная кислота (HCl), маркирован «Стоп-реагент».

БУФЕР П — **1 флакон 50 мл**

Концентрированный водно-солевой раствор для промывки лунок (20-кратный концентрат), маркирован «Буфер П».

Пакет закрывающийся — **1 шт.**

Пакет прозрачный с замком из пленки полиэтиленовой, предназначенный для хранения микропланшета с антителами к 25-ОН витамину D в случае дробного использования набора.

Пленка для заклеивания микропланшета — **2 шт.**

Прозрачная целлюлозная пленка на липкой основе, предназначенная для заклеивания микропланшета при проведении инкубации для предотвращения неравномерного испарения реакционной смеси из лунок микропланшета и для защиты от загрязнения.

Ванночки для внесения реагентов — **2 шт.**

Ванночки из полипропилена, предназначенные для оптимизации отбора растворов конъюгата и ТМБ 8-канальными дозаторами во избежание их контаминации.

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

Одноразовые наконечники для дозаторов **16 шт.**

Конусообразные наконечники из полипропилена, предназначенные для отбора растворов конъюгата и ТМБ при помощи дозаторов.

Примечания

1. Сыворотки крови человека и компоненты сыворотки крови, входящие в состав калибровочных проб и контрольной сыворотки, инактивированы и протестированы на отсутствие антител к ВИЧ 1,2, вируса гепатита С и HBsAg.

2. Материалы животного происхождения, входящие в состав компонентов набора, не представляют опасности для человека.

3. Метрологическая прослеживаемость калибровочных проб и контрольной сыворотки, входящих в состав набора «25-ОН витамин D-Имаксиз (IMAXYZ)» осуществляется с использованием 25-ОН витамина D (чистота по данным ВЭЖХ ≥98%).

4. В комплект поставки входят: набор реагентов, инструкция по применению, паспорт.

5. Калибровочные пробы и контрольная сыворотка аттестуются относительно внутренних референсных стандартов, изготовленных с использованием первичного калибратора 25-ОН витамина D (чистота по данным ВЭЖХ ≥98%) в соответствии с протоколом переноса калибровки по ГОСТ ISO 17511-2011.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

3.1. Чувствительность. Минимальная достоверно определяемая набором концентрация 25-ОН витамина D в сыворотке крови человека – 0,3 нг/мл.

3.2. Специфичность. Перекрестные реакции антител к 25-ОН витамину D приведены в таблице:

Форма витамина D	**Перекрестная реактивность, %**
25-ОН витамин D_3, 25-ОН витамин D_2	100%
витамин D_3 (холекальциферол)	<0,1%
витамин D_2 (эргокальциферол)	<0,1%

3.3. Точность. Соответствие измеренной концентрации 25-ОН витамина D в пробе, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы № 3, составляет 90–110%.

3.4. Линейность. Зависимость концентрации 25-ОН витамина D в образцах сыворотки крови при разведении калибровочной пробой № 1, имеет линейный характер в диапазоне концентраций калибровочных проб № 2 – № 6 и составляет 90–110%.

3.5. Коэффициент вариации результатов определения 25-ОН витамина D в одном и том же образце с использованием набора «25-ОН витамин D-Имаксиз (IMAXYZ)» не превышает 8%.

3.6. Нормальные значения.

Для определения статуса Витамина D можно использовать следующие критерии оценки:

Статус Витамина D	**25-ОН Витамин D (нг/мл)**
Дефицит	<10
Недостаточность	10 – 29
Достаточный уровень	30 – 100
Токсичность	>100

Результаты анализа не могут быть единственной причиной терапевтического заключения и должны коррелировать с другими клиническими исследованиями и диагностическими тестами.

При использовании набора рекомендуется уточнить значения концентраций 25-ОН витамина D, соответствующие нормальным, с учетом особенностей популяции.

4.7. Интерференция. На результаты анализа не оказывало влияние присутствие таких потенциально интерферирующих веществ, как гемоглобин в концентрации до 5 г/л, триглицериды до концентрации 20 ммоль/л, билирубин до концентрации 50 мг/дл и общий белок до концентрации 100 г/л.

4.8. Аналитические характеристики метода исследования, используемого в наборе «25-ОН витамин D-Имаксиз (IMAXYZ)», установлены в соответствии с требованиями ГОСТ Р 53022.2-2008, ГОСТ ISO 17511-2011.

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

4. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

5.1. Исследуемые образцы – негемолизированная, прозрачная, нелипемичная сыворотка крови.

5.2. Взятие крови для анализа следует проводить с использованием стандартных процедур для венозной крови, а образцы сыворотки должны быть освобождены от клеток крови центрифугированием. После центрифугирования сыворотка крови должна быть перенесена в отдельную пробирку.

5.3. Не допускается использование в качестве консерванта азида натрия, так как он является ингибитором ферментной метки, входящей в состав набора.

5.4. Образцы сыворотки крови следует использовать в течение 7 суток с момента их получения при условии хранения при температуре +2–8 °С. Для более длительного хранения образцы необходимо заморозить при температуре ниже –20 °С не более чем на 1 месяц. При необходимости более длительного хранения образцы заморозить при температуре ниже –70 °С. Избегать повторного замораживания образцов.

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

5.1. Потенциальный риск применения набора — класс 2а.

5.2. Реагенты, входящие в состав набора, предназначены исключительно для лабораторной in vitro диагностики, набор должен применяться специалистами, имеющими необходимую квалификацию в данной области в соответствии с требованиями документов, регламентирующих деятельность лаборатории.

5.3. Стоп-реагент представляет собой 1 М раствор соляной кислоты. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые оболочки. В случае попадания раствора стоп-реагента на кожу и слизистые оболочки необходимо промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.

5.4. В учреждениях, в которых осуществляется работа с наборами реагентов, следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности» и СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

5.5. Несмотря на то, что производные крови человека, входящие в состав наборов, были проверены на наличие антител к ВИЧ 1 и 2 типа, вирусу гепатита С, а также HBsAg и дали отрицательный результат, необходимо с калибраторами и контрольными материалами обращаться как с образцами, несущими инфекционную опасность, так как ни один существующий метод тестирования не может на 100% гарантировать отсутствие инфекционных агентов. При работе с исследуемыми образцами пациентов следует соблюдать меры предосторожности как в отношении инфекционно опасного материала. Настоятельно рекомендуется использование одноразовых перчаток и других рекомендованных мер защиты (спецодежды), позволяющих снизить риск инфицирования.

5.6. Все материалы, контактировавшие с образцами крови пациентов, должны быть инактивированы официально регламентированными методами (автоклавированием в течение 1 часа при +121 °С или обработкой в соответствии с инструкцией каким-либо лабораторным дезинфектантом). Жидкие отходы, включая промывочные воды, должны быть инактивированы в соответствии с инструкцией каким-либо лабораторным дезинфектантом, предназначенным для этих целей.

5.7. Физические риски (возможность самопроизвольного взрыва и возгорания) отсутствуют.

5.8. Запрещается прием пищи, использование косметических средств и курение в помещениях, предназначенных для работы с наборами реагентов.

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

- одно- или многоканальные дозаторы с изменяемым объемом отбора жидкостей в диапазонах 10–100 мкл, 50–300 мкл для постановки анализа и в диапазонах 100–1000 мкл, 1000–5000 мкл, 1000–10000 мкл для приготовления реагентов;
- одноразовые наконечники для дозаторов;
- ванночки для внесения реагентов;
- фотометр вертикального сканирования, позволяющий производить измерение оптической плотности раствора в лунках при 450 нм;
- автоматический промыватель для планшетов или дозирующее устройство;
- прибор для встряхивания микропланшета (или термостатируемый шейкер), позволяющий производить встряхивание со скоростью 650–800 об/мин при комнатной температуре +18–25 °С;
- фильтровальная бумага;
- цилиндр мерный на 500 мл;
- стакан стеклянный вместимостью 1000 мл;

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

– вода деионизованная или дистиллированная;
– перчатки одноразовые.

7. ПОДГОТОВКА

8.1. Все реагенты перед проведением анализа должны быть тщательно перемешаны и доведены до комнатной температуры +18–25 °С.

8.2. Микропланшет. Перед вскрытием упаковку с микропланшетом необходимо выдержать при комнатной температуре +18–25 °С не менее 30 минут во избежание конденсации влаги на поверхности лунок. Открыть упаковку и переставить на свободную рамку необходимое количество стрипов или лунок. Оставшиеся стрипы хранить в упаковке и в пакете закрывающемся с герметично закрытым замком при температуре +2–8 °С в течение всего срока годности.

8.3. Предварительное разведение исследуемых образцов. Если значения 25-ОН витамина D в исследуемых образцах по предварительным данным выше значения концентрации калибровочной пробы № 6, образцы следует развести калибровочной пробой № 1 в 10 раз:

90 мкл калибровочной пробы № 1 + 10 мкл исследуемого образца.

Тщательно перемешать.

Для расчета концентрации необходимо учитывать фактор разведения.

8.4. Жидкие калибровочные пробы и контрольная сыворотка готовы к использованию.

8.5. Конъюгат, буфер А, буфер ДН, раствор ТМБ, и стоп-реагент готовы к использованию.

8.6. Приготовление промывочного буфера. Необходимое количество Буфера П развести деионизованной или дистиллированной водой в 20 раз.

Например:

10 мл Буфера П + 190 мл деионизованной или дистиллированной воды.

Тщательно перемешать, избегая пенообразования. Готовый к использованию промывочный буфер хранить закрытым при комнатной температуре +18–25 °С не более 7 суток. Оставшийся неиспользованным 20-кратный Буфер П хранить закрытым при температуре +2–8 °С в течение всего срока годности.

8. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

9.1. Составить протокол маркировки лунок. Лунки промаркировать следующим образом:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	ТМБ	ТМБ	1	1	9	9	17	17	25	25	33	33
B	КП1	КП1	2	2	10	10	18	18	26	26	34	34
C	КП2	КП2	3	3	11	11	19	19	27	27	35	35
D	КП3	КП3	4	4	12	12	20	20	28	28	36	36
E	КП4	КП4	5	5	13	13	21	21	29	29	37	37
F	КП5	КП5	6	6	14	14	22	22	30	30	38	38
G	КП6	КП6	7	7	15	15	23	23	31	31	39	39
H	КС	КС	8	8	16	16	24	24	32	32	40	40

9.2. В лунки, предназначенные для калибровочных проб и контрольной сыворотки, внести по 100 мкл Буфера А.

9.3. В лунки, предназначенные для исследуемых образцов, внести по 100 мкл Буфера ДН.

9.4. Внести в соответствующие лунки по 25 мкл калибровочных проб и контрольной сыворотки; в оставшиеся лунки — по 25 мкл исследуемой сыворотки крови в дубликатах. *Общее время внесения калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов не должно превышать 20 минут во избежание получения неправильных результатов исследования.*

9.5. Заклеить лунки микропланшета пленкой, входящей в состав набора.

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

9.6. Инкубировать микропланшет при встряхивании в течение 90 минут в термостатируемом шейкере **при комнатной температуре +18–25 °С** со скоростью **не ниже 650–800 об/мин**.

ВНИМАНИЕ! Соблюдение температурных условий проведения анализа является гарантией качества получаемых результатов. Во избежание получения неверных результатов измерения не допускайте превышения рекомендованного температурного диапазона проведения анализа.

9.7. По окончании инкубации удалить пленку, удалить содержимое лунок в специальную емкость для сбора инфицированного материала и промыть лунки четыре раза. При каждой промывке во все лунки добавить по 300 мкл промывочного буфера, приготовленного по п. 8.6, с последующим удалением жидкости в емкость для инфицированного материала. По окончании промывки тщательно удалить остатки жидкости из лунок постукиванием микропланшета в перевернутом положении по фильтровальной бумаге до исчезновения следов наличия жидкости в лунках. При использовании автоматического промывающего устройства тщательно следить за точностью наполнения и полнотой удаления жидкости из лунок микропланшета.

9.8. Во все лунки, кроме А1 и А2, внести по 100 мкл Конъюгата.

9.9. Заклеить лунки микропланшета пленкой, входящей в состав набора. Не применять повторно пленку, использовавшуюся на первой стадии анализа!

9.10. Инкубировать стрипы в течение 30 минут в термостатируемом шейкере **при комнатной температуре +18–25 °С** со скоростью **не ниже 650–800 об/мин**.

9.11. По окончании инкубации удалить пленку, удалить содержимое лунок и промыть лунки согласно п. 9.7.

9.12. Внести во все лунки по 100 мкл раствора ТМБ. Инкубировать микропланшет в темноте. Возможны 2 варианта инкубации с ТМБ:

– инкубировать микропланшет в течение 10 минут в темноте **при встряхивании** в термостатируемом шейкере **при температуре +37 °С** со скоростью 650–800 об/мин;

– инкубировать микропланшет в течение 15–30 минут в зависимости от степени развития окраски в темноте **без встряхивания при комнатной температуре +18–25 °С.**

9.13. Остановить ферментную реакцию добавлением в каждую лунку по 100 мкл стоп-реагента с той же скоростью и в той же последовательности, что и раствор ТМБ. Цвет реакционной смеси в лунках должен измениться с синего на желтый. Встряхнуть на шейкере в течение 1–2 мин для равномерного перемешивания. Время между остановкой реакции и измерением оптической плотности (ОП) не должно превышать 20 минут.

Примечание

Максимальная ОП при проведении ферментной реакции не должна превышать пределов линейного измерения прибора, используемого в лаборатории. Диапазон линейности измерения необходимо уточнить в паспорте прибора. Рекомендуемая максимальная оптическая плотность – не более 2,5 ед. ОП.

Схема проведения анализа приведена на Рисунке 1.

9.14. В случае дробного использования микропланшета необходимо разделить микропланшет на стрипы и использовать при проведении анализа необходимое количество стрипов.

9. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

9.1. Измерить на фотометре вертикального сканирования ОП раствора в лунках при длине волны 450 нм.

9.2. Определить среднее значение ОП в лунках А1 и А2 (контроль ТМБ) и вычесть его из среднего значения ОП калибровочных проб, контрольной сыворотки и анализируемых образцов.

10. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

10.1. Результаты анализа следует учитывать, если среднее значение ОП в лунках А1 и А2 не превышает 0,1 ед.ОП.

10.2. В линейных координатах построить график зависимости ОП (ед.опт.плотн.) от концентрации 25-ОН витамина D в калибровочных пробах (нг/мл), используя средние значения ОП дубликатов.

10.3. Определить содержание 25-ОН витамина D в исследуемых образцах и контрольной сыворотке по калибровочному графику, используя среднее значение ОП для дубликатов.

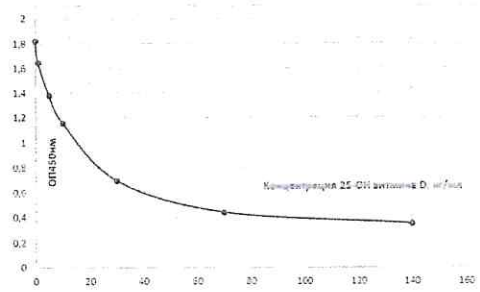
10.4. При необходимости пересчета единиц измерения для 25-ОН витамина D в нмоль/л следует полученное значение концентрации в нг/мл умножить на 2,496.

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

10.5. При наличии автоматической программы расчета на фотометре в качестве метода аппроксимации калибровочной кривой выбрать метод 4PL, 5PL или кубический сплайн.

10.6. На рисунке 2 приведен типичный график зависимости ОП калибровочных проб от концентрации в них 25-ОН витамина D. Данный график приведен исключительно в целях иллюстрации и не может быть использован для расчета концентрации +25-ОН витамина D в образцах сывороток пациентов. Внешний вид графика зависит от выбранного метода аппроксимации.

Рисунок 2



11. ОГРАНИЧЕНИЯ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ АНАЛИЗА

11.1. При использовании набора для проведения нескольких независимых серий анализов необходимо иметь в виду, что количество независимых экспериментов ограничено объемом калибровочных проб.

11.2. Для каждого независимого эксперимента настоятельно рекомендуется построение нового калибровочного графика и определение концентрации аналита в контрольной сыворотке.

11.3. Не допускается использование реагентов разных серий при проведении анализа, а также использование ТМБ, стоп-реагента и промывочного буфера других фирм-производителей.

11.4. После окончания внесения реагентов необходимо плотно закрыть крышки флаконов и поместить их на хранение при температуре +2–8 °С.

11.5. Результаты теста должны интерпретироваться только в сочетании с другими исследованиями и процедурами при диагностике и мониторинге заболевания, а определение концентрации 25-ОН витамина D в сыворотке крови пациентов не должно заменять другие клинические методы обследования.

12. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ НАБОРА

12.1. Набор реагентов для количественного иммуноферментного определения 25-ОН витамина D в сыворотке крови человека «25-ОН витамин D-Имаксиз (IMAXYZ)» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2–8 °С в течение всего срока годности.

12.2. Транспортирование наборов должно производиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с требованиями и правилами, принятыми на данном виде транспорта, при температуре +2–8 °С. Допускается транспортирование наборов при температуре до +25 °С не более 10 суток.

12.3. Замораживание компонентов не допускается. Использование набора, транспортировавшегося или хранившегося с нарушением регламентированного температурного режима, не допускается.

13. УСЛОВИЯ ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

13.1. Срок годности набора — 24 месяца. До окончания срока годности набора реагентов, при условии соблюдения температурного режима хранения, транспортирования и эксплуатации, производитель гарантирует работоспособность набора и соответствие всех аналитических характеристик набора заявленным. Не допускается использование набора реагентов по истечению срока годности. Набор реагентов не подлежит ремонту и техническому обслуживанию.

13.2. В случае дробного использования компоненты набора необходимо после вскрытия хранить следующим образом:

– стрипы микропланшета поместить в упаковку с этикеткой (если стрипы упакованы в упаковку из 2-слойного полиэтилена), который затем вложить в пакет закрывающийся и герметично закрыть. Хранить в герметично закрытом пакете при температуре +2–8 °С в течение всего срока годности;

– жидкие калибровочные пробы и контрольную сыворотку после вскрытия флаконов хранить в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2–8 °С в течение всего срока годности;

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

– конъюгат, Буфер А, Буфер ДН, раствор ТМБ, концентрированный Буфер П и стоп-реагент после вскрытия флаконов хранить в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2–8 °С в течение всего срока годности;

– промывочный буфер, подготовленный к использованию, хранить закрытым при комнатной температуре +18–25 °С не более 7 суток. Не добавлять в емкость с используемым промывочным раствором вновь приготовленный раствор.

13.3. Производитель набора АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» произвел верификацию и валидацию набора «25-ОН витамин D-Имаксиз (IMAXYZ)». Результаты верификации и валидации, отраженные в протоколах предварительных испытаний опытных партий набора, признаны удовлетворяющими параметрам, заявленным в настоящей технической документации.

13.4. В процессе верификации и валидации набора «25-ОН витамин D-Имаксиз (IMAXYZ)» была проведена оценка стабильности набора при хранении, использовании и транспортировке (ГОСТ Р ИСО 23640-2015); результаты, отраженные в протоколах стабильности набора и его компонентов, соответствуют заявленным срокам годности при хранении, использовании и транспортировке в соответствующих условиях.

13.5. В процессе разработки набора «25-ОН витамин D-Имаксиз (IMAXYZ)» были оценены риски, связанные с возможным изменением параметров проведения анализа в лабораториях потребителей: изменение температуры инкубации, скорости вращения шейкера и времени раскапывания образцов. Оценка проводилась в соответствии с МИ СМК 07 по ИСО 14971:2007 «Медицинские изделия – Применение менеджмента риска к медицинским изделиям». По результатам анализа риски минимизированы до уровня «приемлемый».

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

13.7. Достоверность и воспроизводимость результатов анализа зависят от выполнения следующих основных правил при работе с набором реагентов:

– для дезинфекции исследуемых образцов, посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, следует использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие воздействия на реагенты, используемые при проведении ИФА, например, комбинированные средства на основе четвертичных аммониевых соединений (ЧАС), спиртов, третичных аминов. Использование дезинфицирующих средств, содержащих активный кислород и хлор, а также альдегиды в помещениях, используемых для постановки ИФА, может приводить к получению неправильных результатов анализа;

– поскольку наличие паров кислот, щелочей, альдегидов может менять ферментативную активность конъюгатов и ТМБ, нельзя проводить анализ при наличии в воздухе рабочей зоны таких соединений;

– стадия, когда проводится реакция окрашивания с ТМБ, чувствительна к присутствию ионов металлов, поэтому контакт каких-либо металлических предметов с конъюгатом и раствором ТМБ может изменить ход реакции;

– используйте в работе чистую посуду и чистые одноразовые наконечники для каждого реагента, контроля, образца во избежание микробной контаминации компонентов набора и значительного снижения сроков хранения компонентов, входящих в его состав;

– запрещается использование одной и той же емкости для конъюгата и раствора ТМБ во избежание их перекрестной контаминации и искажения результатов анализа;

– при частичном отборе раствора ТМБ из флакона следует учитывать тот факт, что загрязнение поверхности пипеток конъюгатом может привести к контаминации всего содержимого флакона с ТМБ и, как следствие, изменению его цвета;

– если допущена ошибка при внесении реагентов или образцов в лунку, нельзя, удалив неправильно внесенные реагенты, вносить в нее новый реагент; такая лунка должна быть исключена при учете результатов анализа;

– рабочие поверхности столов, оборудования следует обрабатывать 70% этиловым спиртом или специальными растворами на основе спиртов (не допускается использование перекиси водорода, хлорсодержащих и альдегидсодержащих растворов);

– в связи с тем, что качество промывки лунок микропланшета играет важную роль для получения правильных результатов анализа, то для удаления не связавшихся компонентов реакции из лунок микропланшета и последующей промывки рекомендуется использовать автоматическое или

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

ручное промывающее устройство и контролировать равномерность и качество наполнения лунок, а также полноту удаления из них жидкости.

14. СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ

Согласно классификации по СанПиН 2.1.3684 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» компоненты набора могут быть отнесены к классу «Б». Утилизацию использованных реагентов, материалов, контактировавших с образцами крови пациентов, контрольными и калибровочными материалами и реагентов с истекшим сроком годности производить в соответствии с СанПиН 2.1.3684 в отношении отходов класса «Б».

Дезинфекцию следует проводить в соответствии с МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

15. ЗАЩИТА ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Производитель гарантирует, что набор реагентов «25-ОН витамин D-Имаксиз (IMAXYZ)» для иммуноферментного анализа разработан и произведен с целью предотвращения любых рисков для окружающей среды. Набор в процессе использования не оказывает воздействия на окружающую среду и не приводит к ущербу для нее при соблюдении всех мер безопасности и утилизации набора, рекомендованных производителем.

16. ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

По вопросам, касающимся качества набора «25-ОН витамин D-Имаксиз (IMAXYZ)», следует обращаться к производителю — в Акционерное Общество «Витал Девелопмент Корпорэйшн» (АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн») по адресу:

194356, Россия, Санкт-Петербург, дорога в Каменку, д. 56, лит. А

Тел./факс +7 812 250-55-10.

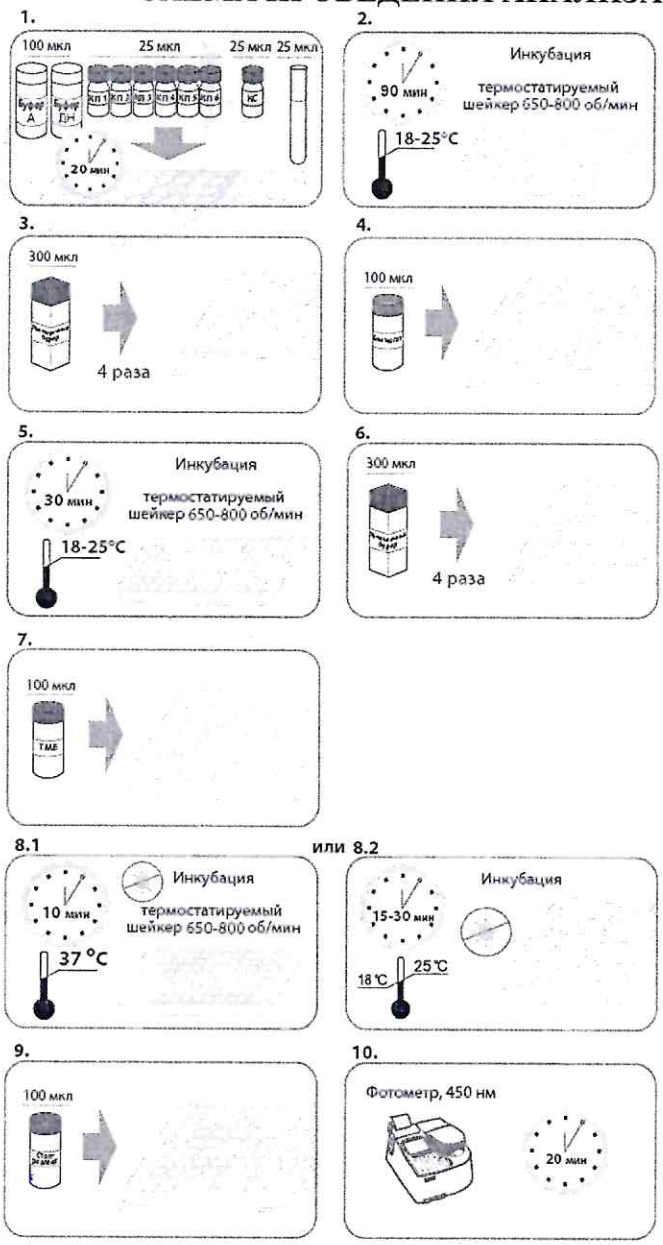
Генеральный директор
АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» А.Г. Плехов

Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР» П.К. Варнавичус

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

Рисунок 1

СХЕМА ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА



СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА

Производитель	Использовать до
Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению	Дата выпуска
2 °C 8 °C Хранить при +2-8 ° С	LOT Номер серии
IVD Изделие для диагностики in vitro	REF Каталожный номер
Биологическая опасность	

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

Прошито, пронумеровано,
и скреплено печатью

Всего 11 листа(ов)

Генеральный директор Плехов А.Г.

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 11 ЛИСТОВ

«20» 04 2022 год

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

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