

НАБОР ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ D-ДИМЕРА

K-707, D-Dimer Kit

Каталог. № : K-707
Производитель: Cormay (Польша)

Методика от 07-2011



Основой при проведении анализа является оригинал инструкции на английском языке, вложенной в набор. Номер и дата версии оригинала и перевода инструкции должны совпадать.

НАЗНАЧЕНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Данный тест является тестом латексной агглютинации для полуколичественного определения фибрина D-Димера. D-Димер формируется при плазминовой деградации перекрестно-связанного фибрина фактора XIIIa. Повышенные уровни D-Димера обнаруживают при таких клинических заболеваниях, как тромбоз глубоких вен (ТГВ), легочная эмболия (ЛЭ) и диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови (ДВС-синдром).^{1,2} Уровни D-Димера растут во время беременности и высокие уровни ассоциируются с осложнениями³. Анализ D-Димера использует моноклональные антитела, специфичные для D-Димера фибрина, но не для фибриногена или фибрина². Следовательно, D-Димер может быть определен либо в плазме либо в сыворотке.

СОДЕРЖИМОЕ И ПРИГОТОВЛЕНИЕ

Продукт	Набор D-Димер
Кат. №	K-707
D-Димер Латекс	1 x 1.7 мл
Соляной Раствор	2 x 8 мл
D-Димер Контроль (+)	1 x 1 мл
D-Димер Контроль (-)	1 x 1 мл
Тестовые карточки	16 x 6 штук
Палочки для смешивания	50 штук

Количество определений: 80

- D-Димер латекс: 1 флакон, содержащий 1.7 мл суспензии латексных шариков, покрытых моноклональным антителом анти-D-Димера и суспендируют в буфере Hepes, pH 8.2, с 0.2 г/л азида натрия в качестве консерванта. Перед применением перемешать латекс, неоднократно инвертируя флакон для диспергирования осевших частиц латекса.
- Физиологический раствор: 2 флакона, по 8 мл каждый, буферного раствора, pH 7.3. Содержит 0.2 г/л азида натрия. Готов к использованию.
- Положительная Контрольная Плазма: 1 флакон, содержащий 1 мл лиофилизированной человеческой плазмы обогащенной фибрином D-Димера. Содержит 0.1 г/л мертиолат в качестве консерванта. Развести в 1 мл физиологического раствора.
- Отрицательная Контрольная Плазма: 1 флакон, содержащий 1 мл лиофилизированной человеческой плазмы. Содержит 0.1 г/л мертиолат в качестве консерванта. Развести в 1 мл физиологического раствора.
- Тестовые карточки: 16 тестовых карточек для 6 образцов каждая.
- Палочки для смешивания: 50 штук. Могут быть разделены на две части, если необходимо.

Привести все флаконы к комнатной температуре перед использованием.

Дополнительные необходимые материалы:

- Калиброванные пипетки с объемом 20, 50, 200 мкл
- Наконечники
- Пробирки на 3 мл
- Таймер

ХРАНИЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Реагенты стабильны до истечения срока годности, указанного на этикетке при хранении при 2-8 °C. Восстановленные плазмы:

	-20 °C	2-8 °C	20-25 °C
D-Димер Контроль (+)	3 месяца	1 месяц	4 часа
D-Димер Контроль (-)	3 месяца	1 месяц	4 часа

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Избегать контакта с кожей и глазами. Носить соответствующую защитную одежду. Утилизировать компоненты в соответствии с местными правилами по уничтожению инфекционного материала. Все компоненты проверяются на ВИЧ, гепатиты В и С. Однако продукты из крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные. Некоторые компоненты этого набора содержат азид натрия в качестве консерванта. Чтобы предотвратить накопление взрывоопасных азидов в металлической сантехнике, промойте с большим количеством воды и обеззараживайте регулярно раствором гидроксида натрия.

ЗАБОР И ХРАНЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

- Произведите забор венозной крови чистым инструментом в чистую посуду.
- Сразу смешать 9 частей крови и 1 часть цитрата натрия (3.2% или 3.8%) и хорошо перемешать.
(Примечание: рекомендуется использование плазмы или сыворотки, антикоагулированной с ЭДТА. Сыворотка должна быть собрана в присутствии фибринолитического ингибитора (например, в FDP пробирки)).
- Центрифугировать образцы при 1500g в течение 15 мин. (тромбоциты < 10000/мкл).
- Отделить плазму после центрифугирования и хранить в пластиковой или силиконовой стеклянной пробирке.
- Использовать плазму в течение 4 часов, в противном случае хранить замороженной и оттаять непосредственно перед использованием.

Стабильность плазмы: 4 часа при 18-26 °C, 8 часов при 2-8 °C, 14 дней при -20 °C и 6 месяцев при -70 °C.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

А. Качественный метод

- Поместить 20 мл образца, положительной и отрицательной контрольной плазмы в круги на тестовой карте.
- Поместить 20 мл суспензии латекса рядом с каждым кругом.
- Быстро перемешать образец и латекс с использованием чистой палочки для перемешивания каждого образца. Запустить таймер.
- Потрясти аккуратно тестовую карту и считать агглютинацию через 180-200 секунд. Положительные (+) или отрицательные (-) агглютинации сравниваются с результатами, полученными с использованием контролей.

В. Полуколичественный метод, подходит только для образцов, которые дали положительный результат.

- Серийно разбавить 100 мкл образца 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32 и 1:64 со 100 мкл физиологического раствора, используя небольшие тестовые пробирки.

Отметить положения разбавлений образца на тестовой карте и смешать с латексной суспензией как в процедуре А. Концентрация D-Димера определяется из таблицы результатов.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате тестирования последовательно разбавленной плазмы могут быть получены полуколичественные результаты с использованием приведенных ниже таблиц. См. примечания, 1.

Уровни D-Димера, масштаб ИФА, нг/мл

ng/ml	Undil.	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64
< 250	-	-	-	-	-	-	-
250 -500	+	-	-	-	-	-	-
500 -1000	+	+	-	-	-	-	-
1000 -2000	+	+	+	-	-	-	-
2000 -4000	+	+	+	+	-	-	-
4000 -8000	+	+	+	+	+	-	-
8000-16000	+	+	+	+	+	+	-
> 16000	+	+	+	+	+	+	+

Сыворотки или плазмы, содержащие более 250 нг/мл D-Димера, дают картину агглютинации, которая представлена (+).

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Агглютинация происходит в течение 180-200 секунд для образцов, содержащих более 250 нг/мл (по шкале ИФА), поэтому правильно взятые образцы плазмы или сыворотки от нормальных, здоровых людей редко агглютинируют. Если агглютинация наблюдается в течение 180-200 секунд, патологическое состояние, вероятно, существует. Следует отметить, что время распада D-димера в кровотоке составляет около 12 часов, так что повышенные уровни D-

Димера могут сохраняться в течение некоторого времени после того, как активный процесс прекратился.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Положительный и отрицательный контроли, входящие в комплект, должны быть использованы для контроля качества анализа.

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Плазма, содержащая ревматоидный фактор, может дать ложные положительные агглютинации.
2. Отрицательный тест на D-Димер в крови полностью не исключает тромбоз. Обнаружение повышенных уровней D-Димера следует проводить с учетом другой клинической информации в формировании диагноза. Отрицательное предполагаемое значение ТГВ составило 94%⁵.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

В ходе клинических исследований здоровых образцов у пациентов со сфигмографически подтвержденным ТГВ, у пациентов с ДВС, и у пациентов с преэклампсией (Pre-EK), были получены следующие результаты (см. примечание 2):

Patient Group	Total #	Neg.	# of patients with titre						
			1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	>1:64
Normal	101	100	1*	-	-	-	-	-	-
DVT	48	3	10*	7*	14*	6*	2*	4*	2*
DIC	29	0	3	3	4	2	6	3	8
Pre-EC	6	2	1	3	-	-	-	-	-

* Агглютинация была ингибирована добавлением специфических антител D-Димера (0.2 мг/мл).

СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Моноклональные антитела, используемые в данном устройстве, MA-8D3, являются специфичными для D-Димера в силу метода скрининга, используемого для гибрида. Перекрестной реактивности с фибриногеном или дез-АА-фибриногеном не наблюдалось, когда любое из анализируемых веществ использовали вместо плазмы в данном анализе.

Глазмы от 16 пациентов с ревматоидным артритом оценивали и 14 были признаны не агглютинирующими с тестом D-Димера. Агглютинация может быть ингибирована добавлением специфических моноклональных антител D-Димера MA-8D3 к этим двум образцам, но не с добавлением моноклональных тел той же подгруппы, IgG_{1k} (PAM-1). Это указывает на то, что положительная реакция в этих двух образцах была обусловлена повышенной концентрацией D-Димера.

ВОСПРОИЗВОДИМОСТЬ

Три образца плазмы были выбраны для проверки воспроизводимости результатов анализа. Каждый образец был протестирован 10 раз в каждый из трех различных дней. В каждом случае при получении положительных результатов, образец титруют. Наблюдаемые результаты были следующими:

Sample	D-dimer level	Result
Normal	<250 ng/ml	Always negative
Intermediate	3000 ng/ml	Titre always 1:8
High	> 4000 ng/ml	Titre always 1:64

ТОЧНОСТЬ

Анализ D-Димера в крови был сравнен с другим коммерчески доступным латексным методом с использованием таблицы "Уровень D-Димера, Латексная шкала". Оба продукта дали отрицательную реакцию при испытании на 25 обычных образцах.

ПРИМЕЧАНИЯ

1. Результаты могут быть представлены с использованием либо латексной конвенции, либо конвенции ИФА. Некоторые результаты латексного теста выражаются в эквивалентных единицах фибриногена (ЭЕФ); 1 нг/мл D-димера составляет приблизительно 2 ЭЕФ.
2. Диагностическая чувствительность анализа D-Димера в крови ТГВ, рассчитанная из данных выше, составляет 94%⁵.
3. Небольшое количество образцов при смешивании с латексом, могут приводить к появлению белых хлопьев, которые не следует путать с агглютинацией.
4. Агглютинация будет более выраженной, и произойдет быстрее при более высоких концентрациях D-Димера.

ГАРАНТИЯ

Работа с данным продуктом должна проводиться в соответствии с маркировкой и согласно поставляемой литературе. P.Z. Comau отказывается от каких-либо предполагаемых гарантий относительно товарной пригодности или пригодности в каких-либо других целях, и ни в коем случае PZ Comau не несет ответственности за любой ущерб, который не подлежит вышеупомянутому гарантийному ремонту.



ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

ООО «ДИАМЕБ»
ул. Чорновола, 97
г. Ивано-Франковск, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com