«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»

_____ М.Д. Хусаинов

«09» _____ 2022 г.

м.п.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов

для иммуноферментного определения концентрации прокальцитонина

в сыворотке (плазме) крови человека

(Прокальцитонин – ИФА – БЕСТ)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «Прокальцитонин-ИФА-БЕСТ» предназначен для количественного определения концентрации прокальцитонина (ПКт) в сыворотке (плазме) крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. ПКт является предшественником гормона кальцитонина с молекулярной массой 14,5 кДа (116 аминокислот). В норме их синтез осуществляется в С-клетках щитовидной железы, однако, при генерализации бактериальной инфекции бактериальные экзо- и эндотоксины при участии цитокинов стимулируют синтез ПКт в паренхимальных клетках легких, поджелудочной железы, печени, в макрофагах, моноцитах, др. тканях. Это приводит к значительному повышению ПКт у пациентов с бактериальным сепсисом, особенно при тяжелом сепсисе и/или септическом шоке в течение 6–12 часов после генерализации инфекции. При этом повышения уровня кальцитонина не происходит.

1.3. Определение уровней ПКт в сыворотке и плазме крови рекомендуется для диагностики сепсиса, септического шока и тяжелых бактериальных инфекций; для дифференциального диагноза инфекционной и неинфекционной этиологии лихорадки неясного генеза; для мониторинга состояния больных с сепсисом, шоком; оценки эффективности проводимого лечения; оценки прогноза для данного больного. ПКт также используют для ранней диагностики инфекционных осложнений у хирургических пациентов; пациентов интенсивной терапии; реципиентов после пересадки почки, печени, сердца; пациентов, находящихся на искусственной вентиляции легких; пациентов с иммуносупрессией; пациентов с нейтропенией; пациентов с заболеваниями неясного генеза.

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

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Метод определения основан на твердофазном иммуноферментном анализе. Специфическими реагентами набора являются моноклональные антитела к прокальцитонину, сорбированные на поверхности лунок разборного планшета; биотинилированные поликлональные антитела к ПКт человека. На первой стадии анализа исследуемые и контрольные образцы инкубируют в лунках с иммобилизованными антителами. Имеющийся в образцах ПКт связывается с иммобилизованными антителами. Связавшийся ПКт взаимодействует при инкубации с конъюгатом №1 (биотинилированные поликлональные антитела к ПКт человека). На третьей стадии связавшийся конъюгат № 1 взаимодействует при инкубации с конъюгатом № 2 (стрептавидин с пероксидазой хрена). Количество связавшегося конъюгата №2 определяют цветной реакцией с использованием субстрата пероксидазы хрена – перекиси водорода и хромогена – тетраметилбензидина. Интенсивность желтого окрашивания пропорциональна концентрации ПКт в анализируемом образце.

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

После измерения оптической плотности (ОП) раствора в лунках на основании калибровочного графика рассчитывается концентрация ПКт в анализируемых образцах.

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

- планшет разборный с иммобилизованными моноклональными антителами к ПКт, готовый для использования – 1 шт.;
- калибровочные образцы, содержащие ПКт (0; 0,05; 0,2; 0,8; 3,2 и 12,8 нг/мл), лиофилизированные – 6 флаконов;
- контрольный образец, содержащий ПКт (концентрация указана на флаконе), лиофилизированный – 1 флакон;
- конъюгат № 1, биотинилированные поликлональные антитела к ПКт, готовый для использования – 1 флакон (13 мл);
- конъюгат № 2, стрептавидин – пероксидаза хрена, готовый для использования – 1 флакон, (13 мл);
- раствор для разведения образцов (РРО) – 1 флакон (28 мл);
- раствор для восстановления калибровочных и контрольного образцов (РВО) – 1 флакон (5,0 мл);
- 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 2 флакона (по 28 мл);
- раствор тетраметилбензидина плюс (раствор ТМБ плюс); готовый для использования – 1 флакон (13 мл);
- стоп-реагент; готовый для использования – 1 флакон (12 мл).

Набор дополнительно комплектуется:

- пленкой для заклеивания планшета – 3 шт.;
- ванночкой для реагентов – 4 шт.;
- наконечниками для пипеток на 5-200 мкл – 32 шт.;
- трафаретами для построения калибровочного графика – 2 шт.

По согласованию с потребителем дополнительно поставляется:

- планшет для предварительного разведения исследуемых образцов – 1 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Наличие гемоглобина, билирубина, триглицерида, альбумина, С-реактивного белка в исследуемых образцах не влияют на результаты анализа. Влияния антимикробной химиотерапии, вазоактивных лекарственных препаратов, болеутоляющих средств, антикоагулянтов или мочегонных средств на измерение концентрации ПКт не выявлено.

3.2. Воспроизводимость. Коэффициент вариации результатов определения содержания ПКт в одном и том же образце с использованием набора «Прокальцитонин-ИФА-БЕСТ» не превышает 8%.

3.3. Линейность. Зависимость концентрации ПКт в образцах сыворотки крови при разведении их сывороткой крови, не содержащей Пкт, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 0,05–12,8 нг/мл и составляет 90–110%.

3.4. Точность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации ПКт предписанной в пробе, полученной путем смешивания равных объемов контрольного образца и калибровочного образца 0,2 нг/мл. Процент «открытия» составляет 90–110 %.

3.5. Чувствительность. Минимально определяемая концентрация ПКт, рассчитанная на основании среднего арифметического значения из десяти измерений оптической плотности «нулевого» калибровочного образца плюс 2 s (среднее квадратичное отклонение от среднего арифметического значения), не превышает 0,04 нг/мл.

3.6. Клиническая проверка. Концентрацию ПКт измеряли в сыворотке и плазме крови, взятой у 172 здоровых лиц в возрасте 20–50 лет. Содержание ПКт в сыворотке крови здоровых доноров не превышает 0,1 нг/мл.

3.7. Рекомендуется в каждой лаборатории при использовании набора уточнить значения концентрации прокальцитонина, соответствующие нормальным у обследуемого контингента людей.

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

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2б (Приказ Минздрава № 4н от 06.06.2012 г.).

4.2. Все компоненты набора являются нетоксичными. Стоп-реагент обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента на кожу и слизистые необходимо промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.

4.3. При работе с исследуемыми 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 клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР 17 февраля 1991 г. и методических указаниях МУ-287-113-00.

4.4. 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.

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

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

4.7. 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. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках стрипов при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–655 нм; допускается измерение при длине волны 450 нм;
- термостатируемый шейкер орбитального типа, поз-воляющий производить встряхивание при 600–800 об/мин и температуре 37±1°С;
- холодильник бытовой;
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 5–5000 мкл;
- пипетка полуавтоматическая многоканальная со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объемы жидкости от 5 до 350 мкл;
- промывочное устройство для планшетов;
- флаконы вместимостью 10–15 мл;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- колба вместимостью 1000 мкл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- дезинфицирующий раствор.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Для проведения анализа не следует использовать гемолизированную, мутную сыворотку крови.

6.2. Образцы сыворотки (плазмы) крови можно хранить при температуре от 2 до 8°С не более 24 часов при условии отсутствия микробной контаминации или при температуре минус 20°С (и ниже) не более 3 мес. Допускается трехкратное замораживание и оттаивание пробы. После размораживания образцы следует тщательно перемешать.

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

6.3. Образцы сывороток крови, содержащие взвешенные частицы, необходимо очистить центрифугированием при 3000 об/мин в течение 10–15 мин при температуре от 18 до 25°С.

В случае подозрения на наличие генерализованной бактериальной инфекции (сепсис, септический шок и т.д.) следует развести пробы раствором для разведения образцов в планшете для предварительного разведения в 20 раз (10 мкл исследуемого образца + 190 мкл РРО) и анализировать обе пробы (без разведения и разведенную) одновременно.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Подготовка реагентов.

Перед проведением анализа исследуемые образцы и все компоненты набора, в том числе и запечатанный пакет с планшетом, следует выдержать при температуре от 18 до 25°С в течение времени не менее 30 мин.

7.2. Подготовка планшета

Вскрыть пакет выше замка и установить на рамку необходимое для проведения анализа количество стрипов. Использовать в течение 1 часа после установки. Оставшиеся неиспользованные стрипы немедленно поместить вновь в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух, плотно закрыть замок.

Хранить при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности набора.

7.3. Приготовление промывочного раствора

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

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

Приготовленный промывочный раствор можно хранить при температуре от 2 до 8°С не более 5 сут.

7.4. Подготовка калибровочных и контрольного образцов

В каждый флакон с калибровочным или контрольным образцом внести по 0,3 мл раст-вора для восстановления калибровочных и контрольного образцов. Выдержать до полного растворения содержимого. Восстановленные или размороженные (в случае дробного использования набора) образцы тщательно перемешать.

Восстановленные калибровочные и конт-рольный образцы в плотно закрытых флаконах хранить при температуре минус 20°С и ниже в течение всего срока годности набора. Допускается двенадцатикратное замораживание и оттаивание образцов.

7.5. Подготовка конъюгата № 1

Конъюгат № 1 готов к использованию.

Необходимое количество конъюгата отобрать в чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента.

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

Остатки конъюгата № 1 из флакона или ванночки утилизировать (***не сливать во флакон с исходным конъюгатом***).

После вскрытия можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности набора.

7.6. Подготовка конъюгата № 2.

Конъюгат № 2 готов к использованию.

Необходимое количество конъюгата отобрать в чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента.

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

Остатки конъюгата № 2 из флакона или ванночки утилизировать (***не сливать во флакон с исходным конъюгатом***).

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

После вскрытия можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности набора.

7.7. Подготовка раствора тетраметилбензидина плюс.

Раствор ТМБ плюс готов к использованию.

Необходимое количество раствора ТМБ плюс отобрать в чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента и поместить в защищенное от света место.

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

Раствор ТМБ плюс после первого вскрытия флаконов можно хранить при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности.

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 неконтролирумому окислению ТМБ в ходе реакции. После работы посуду ополоснуть водой, промыть 70% этиловым спиртом и тщательно отмыть дистиллированной водой.*

7.8. Стоп-реагент готов к использованию.

После вскрытия можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности набора.

ПРОВЕДЕНИЕ ИФА

7.9. Внести во все лунки по 100 мкл раствора для разведения образцов.

Внести в соответствующие лунки в дубликатах по 20 мкл каждого калибровочного и конт-рольного образцов. В остальные лунки внести в дубликатах по 20 мкл анализируемых образцов сыворотки (плазмы) крови.

Внесение образцов необходимо производить быстро, в течение времени не более 10 мин.

7.10. Планшет заклеить пленкой и инкубировать в течение 60 мин при встряхивании на шейкере при температуре 37±1°С и 700 об/мин.

7.11. По окончании инкубации снять пленку и удалить в сосуд с дезинфицирующим раствором. Содержимое лунок удалить отсасыванием в сосуд с дезинфицирующим раствором и промыть, добавляя во все лунки по 350 мкл промывочного раствора (см п. 7.3.). Процесс промывки повторить 4 раза. Общее количество отмывок равно 5. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее
30 сек. *Необходимо следить за полным опорожнением лунок после каждого цикла отмывки.* Затем удалить остатки жидкости из лунок, постукивая планшетом в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.

7.12. Внести во все лунки по 100 мкл конъюгата № 1 (см. п. 7.5.). Планшет заклеить пленкой и инкубировать в течение 30 мин при встряхивании на шейкере при температуре 37±1°С и 700 об/мин.

Для внесения конъюгата № 1 использовать ванночку для реагента и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

7.13. По окончании второй инкубации удалить содержимое лунок и промыть планшет, как указано в п. 7.11.

7.14. Внести во все лунки по 100 мкл конъюгата № 2 (см п. 7.6). Планшет заклеить пленкой и инкубировать в течение 30 мин при встряхивании на шейкере при температуре 37±1°С и 700 об/мин.

Для внесения конъюгата № 2 использовать ванночку для реагента и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

7.15. По окончании третьей инкубации удалить содержимое лунок и промыть планшет, как указано в п. 7.11.

7.16. Внести во все лунки по 100 мкл раст-вора ТМБ плюс (см. 7.7.). Инкубировать в защищенном от света месте в течение 25 мин при температуре от 18 до 25°С.

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

7.17. Внести во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раст-вор тетраметилбензидина плюс, по 100 мкл стоп-реагента.

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

Для внесения стоп-реагента использовать ванночку для реагента и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

8.1. Измерить величину оптической плотности растворов в лунках на спектрофотометре вертикального сканирования в двухволновом режиме: при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–655 нм; допускается измерение при длине волны 450 нм (выведение спектрофотометра на нулевой уровень («бланк») осуществлять по воздуху).

Измерение проводить не позднее 10 мин после остановки реакции.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

9.1. Построить в линейных координатах калибровочный график зависимости оптической плотности (ед. опт. плотн.) от концентрации ПКт в калибровочных образцах (нг/мл).

9.2. Определить содержание ПКт в контрольном образце и в анализируемых образцах по калибровочному графику.

9.3. Если концентрация ПКт в анализируемом образце превышает 12,8 нг/мл, образец следует дополнительно развести раствором для разведения образцов в 20 раз (10 мкл исследуемого образца + 190 мкл раствора для разведения образцов), повторить анализ и полученный результат умножить на 20.

10. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

10.1. Транспортирование набора должно проводиться при температуре от 2 до 8°С. Допускается транспортирование при температуре до 25°С не более 10 сут. Замораживание компонентов набора не допускается.

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре от 2 до 8°С. Замораживание компонентов набора не допускается.

Срок годности набора реагентов – 12 месяцев со дня выпуска.

10.3. Дробное использование набора может быть реализовано в пределах всего срока годности набора.

В случае дробного использования набора:

- неиспользованные стрипы можно хранить в плотно закрытом пакете при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности набора;
- восстановленные калибровочные образцы, контрольный образец хранить в плотно закрытых флаконах при температуре минус 20°С и ниже в течение всего срока годности набора. Допускается двенадцатикратное замораживание и оттаивание образцов;
- 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином, раствор для разведения образцов, раствор для восстановления калибровочных и контрольного образцов и стоп-реагент после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности набора;
- конъюгат № 1, конъюгат № 2, раствор ТМБ плюс после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности набора;
- промывочный раствор можно хранить при температуре от 2 до 8°С не более 5 сут.

10.4. Построение калибровочного графика необходимо проводить для каждого независимого эксперимента, а также рекомендуется определение концентрации ПКт в контрольном образце.

10.5. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

10.6. При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (ФСБ-Т×25, стоп-реагент), которые взаимозаменяемы во всех наборах АО «Вектор-Бест».

Нельзя использовать реагенты из наборов других фирм-производителей.

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

По вопросам, касающимся качества набора «Прокальцитонин-ИФА-БЕСТ»,
обращаться в АО «Вектор-Бест»
по адресу:

630559, Новосибирская обл.,
Новосибирский район,
п. Кольцово, а/я 121,
тел. (383) 363-13-46,
E-mail: vbobtk@vector-best.ru

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ

Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом.

Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

Все реагенты наборов, содержащие в своем составе материалы человеческого происхождения, инактивированы.

Антитела к ВИЧ-1,2 и вирусу гепатита С и HBsAg отсутствуют.

Не применять набор реагентов по назначению после окончания срока годности.

Транспортирование должно проводиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида.

При динамическом наблюдении пациента для получения результатов, адекватно отражающих изменение концентрации прокальцитонина в крови, необходимо использовать наборы реагентов одного наименования (одного предприятия-изготовителя).

1. Гарантийные обязательства

Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

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

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.

2. Обеспечение безопасности персонала

Обращение с материалами, контактирующими с исследуемыми образцами

Материалы, контактирующие с исследуемыми образцами, следует дезинфицировать согласно МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения» (утв. департаментом госсанэпиднадзора Минздрава РФ от 30.12.1998).

Порядок утилизации или уничтожения компонентов набора

При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПиНом 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами». Дезинфекцию наборов реагентов следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

3. Обеспечение получения правильных результатов анализа

Достоверность и воспроизводимость результатов анализа зависят от выполнения следующих основных правил:

– не проводите ИФА в присутствии паров кислот, щелочей, альдегидов или пыли, которые могут менять ферментативную активность конъюгатов;

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

– ферментативная реакция чувствительна к присутствию ионов металлов, поэтому не допускайте контактов каких-либо металлических предметов с конъюгатом и раствором ТМБ;

– избегайте загрязнения компонентов набора микроорганизмами и химическими примесями, для этого используйте в работе чистую посуду и чистые одноразовые наконечники для каждого реагента, контроля, образца;

– рабочие поверхности столов, оборудования следует обрабатывать 70% этиловым спиртом (не допускается использование перекиси водорода, хлорсодержащих растворов);

– никогда не используйте одну и ту же емкость для конъюгата и раствора ТМБ;

– перед отбором раствора ТМБ из флакона необходимо протереть конус пипетки (внутреннюю и внешнюю поверхности) сначала дистиллированной водой, а затем 70% этиловым спиртом, так как малейшее загрязнение пипеток конъюгатом может привести к контаминации всего содержимого флакона;

– если допущена ошибка при внесении анализируемых образцов, нельзя, опорожнив эту лунку, вносить в нее новый образец; такая лунка бракуется.

Качество промывки лунок планшета играет важную роль для получения правильных результатов анализа:

– Для аспирации анализируемых образцов и последующей промывки рекомендуется использовать автоматическое или ручное промывочное устройство.

– Не допускайте высыхания лунок планшета в перерыве между завершением промывки и внесением реагентов.

– Добивайтесь полного заполнения и опорожнения всех лунок планшета в процессе промывки. Недостаточная аспирация жидкости в процессе промывки может привести к понижению чувствительности и специфичности анализа.

– Следите за состоянием промывочного устройства – регулярно (1 раз в неделю) обрабатывайте шланги и емкости 70% этиловым спиртом.

– Для предотвращения засорения игл промывочного устройства в конце рабочего дня обязательно выполните процедуру ополаскивания системы подачи жидкости дистиллированной водой.

4. Условия правильности работы набора

Результаты анализа исследуемых образцов учитывать, если будут выполнены следующие условия:

– соотношение оптических плотностей калибровочных образцов: $ОП_0 < ОП_{0,05} < ОП_{0,2} < ОП_{0,8} < ОП_{3,2} < ОП_{12,8}$;

– $ОП_{12,8} \geq 1,0$ ед. опт. плотн. (о.е.);

– $ОП_0 \leq 0,2$ о.е.;

– вычисленное по калибровочному графику значение концентрации прокальцитонина в контрольном образце попадает в пределы, указанные на этикетке флакона.

$ОП_0$, $ОП_{0,05}$, $ОП_{0,2}$, $ОП_{0,8}$, $ОП_{3,2}$ и $ОП_{12,8}$ – среднее значение оптической плотности калибровочных образцов 0; 0,05; 0,2; 0,8; 3,2 и 12,8 нг/мл соответственно.

5. Расчет результатов анализа

По результатам измерения вычислить среднее арифметическое значение оптической плотности (ОП) в лунках с анализируемыми образцами.

Построить калибровочный график зависимости оптической плотности (ось ординат) от концентрации прокальцитонина (ось абсцисс) в калибровочных образцах. Для этого на прилагаемом трафарете для построения графика против концентрации каждого калибровочного образца отложить соответствующее ей среднее значение оптической плотности. Последовательно соединить полученные точки отрезками прямых линий.

Пример калибровочного графика представлен на рисунке.

Определить концентрацию Пкт в контрольном образце и анализируемых образцах по калибровочному графику. Для этого на оси ординат отметить среднее значение ОП анализируемого образца. Провести прямую линию, параллельно оси абсцисс, до пересечения с калибровочным графиком. От точки пересечения опустить перпендикуляр на ось абсцисс. По полученной точке пересечения определить значение концентрации Пкт в образце.

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

6. ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

ПКт можно использовать для дифференциального диагноза:

– инфекционной и неинфекционной этиологии (например, острого панкреатита);

– бактериальных и вирусных инфекционных заболеваний (например, острого менингита, сепсиса новорожденных);

– острых бактериальных инфекций и хронических воспалительных процессов, например аутоиммунных заболеваний;

– реакций против трансплантата и инфекционных осложнений бактериальной и грибковой природы.

Уровни ПКт незначительно повышаются также при тяжелой пневмонии, перитоните.

Описано небольшое количество ситуаций, когда причиной повышения ПКт являлись неинфекционные причины. Например, к ним относятся:

– первый день или первые дни после обширной травмы, большого хирургического вмешательства, тяжелых ожогов, терапии с помощью медикаментов, вызывающих высвобождение провоспалительных цитокинов;

– рождение (1–2 день);

– пациенты с длительным или тяжелым кардиогенным шоком;

– пациенты с тяжелыми и продолжительными нарушениями микроциркуляции;

– пациенты с мелкоклеточным раком бронхов или медуллярным раком щитовидной железы (С-клеток).

Поэтому уровень ПКт всегда нужно интерпретировать с учетом клинического состояния пациента!

У 80–90% здоровых людей концентрация ПКт менее 0,05 нг/мл, у остальных не выше 0,1 нг/мл.

Контроль состояния пациента в динамике нужно проводить всегда с одинаковым материалом.

7. Краткая схема проведения ИФА для набора реагентов «Прокальцитонин-ИФА-БЕСТ»

Использовать только после внимательного ознакомления с инструкцией!

Внести:	по 100 мкл РРО.
Внести:	по 20 мкл калибровочных образцов и контрольного образца в дублях; по 20 мкл анализируемых образцов в дублях.
Инкубировать:	60 мин, 37°С, 700 об/мин.
Промыть:	промывочным раствором, 350 мкл, 5 раз.
Внести:	по 100 мкл конъюгата № 1.
Инкубировать:	30 мин, 37°С, 700 об/мин.
Промыть:	промывочным раствором, 350 мкл, 5 раз.
Внести:	по 100 мкл конъюгата № 2.
Инкубировать:	30 мин, 37°С, 700 об/мин.
Промыть:	промывочным раствором, 350 мкл, 5 раз.
Внести:	по 100 мкл раствора тетраметилбензидина.
Инкубировать:	25 мин, 18–25°С, в темноте.
Внести:	по 100 мкл стоп-реагента.
Измерить:	ОП при 450 нм / референсная длина волны 620–655 нм.

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

8. Графические символы

REF	Номер по каталогу	IVD	Медицинское изделие для диагностики *in vitro*
Σ n	Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов		Не стерильно
LOT	Код партии		Температурный диапазон
	Изготовитель		Дата изготовления
	Использовать до ...		Обратитесь к инструкции по применению
	Осторожно! Обратитесь к Инструкции по применению	YYYY-MM-DD YYYY-MM	Дата в формате Год-Месяц-День Год-Месяц

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 227-75-47.

Таблица расхода компонентов набора реагентов

Кол-во используемых стрипов	Конъюгат № 1, мл	Конъюгат № 2, мл	Раствор ТМБ плюс, мл	Промывочный раствор	
				ФСБ-Т×25, мл	Дистил. вода, мл
2	2,0	2,0	2,0	4,0	до 100
3	3,0	3,0	3,0	6,0	до 150
4	4,0	4,0	4,0	8,0	до 200
5	5,0	5,0	5,0	10,0	до 250
6	6,0	6,0	6,0	12,0	до 300
7	7,0	7,0	7,0	14,0	до 350
8	8,0	8,0	8,0	16,0	до 400
9	9,0	9,0	9,0	18,0	до 450
10	10,0	10,0	10,0	20,0	до 500
11	11,0	11,0	11,0	22,0	до 550
12	12,0	12,0	12,0	24,0	до 600

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

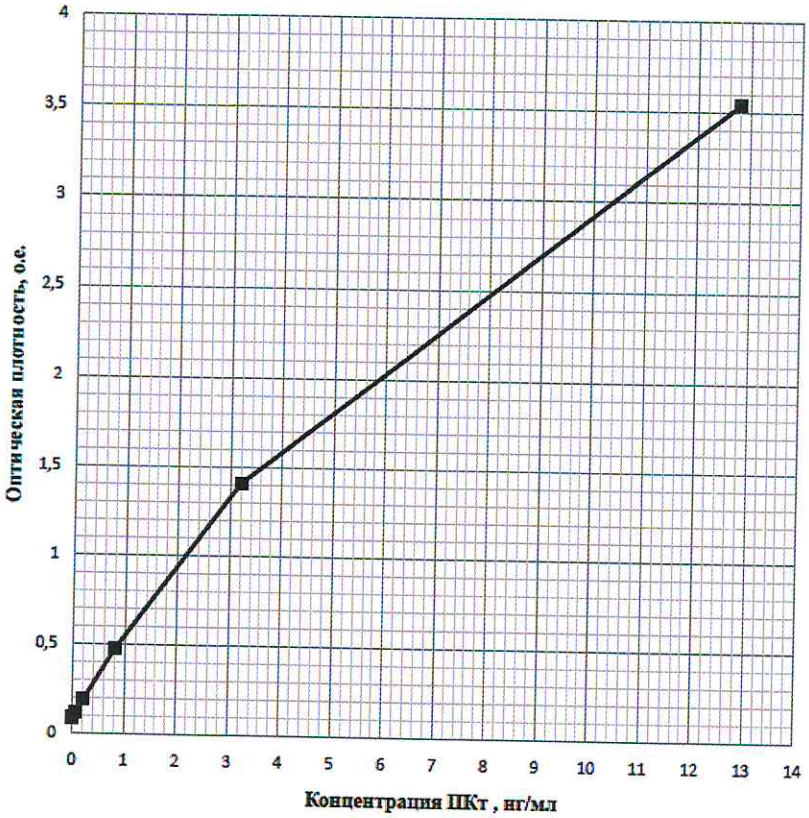


Рис. Пример зависимости оптической плотности от концентрации ПКт в калибровочных образцах.

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