

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»

М.Д. Хусаинов

«07» *декабря* 2022 г.

М.П.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов

для высокочувствительного иммуноферментного определения концентрации

С-реактивного белка в сыворотке крови

(СРБ – ИФА – БЕСТ высокочувствительный)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для высокочувствительного иммуноферментного определения концентрации С-реактивного белка в сыворотке крови «СРБ – ИФА – БЕСТ высокочувствительный» предназначен для высокочувствительного определения концентрации С-реактивного белка (СРБ) в сыворотке крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Определение концентрации С-реактивного белка как белка острой фазы и неспецифического маркера воспаления может быть использовано в клинической диагностике для определения активности воспалительной составляющей заболеваний различного генеза и для оценки динамики процесса на фоне проводимого лечения. Определение СРБ с помощью высокочувствительного метода имеет особую ценность, поскольку выводит СРБ в разряд важных прогностических кардиомаркеров, позволяющих контролировать риск развития сердечно-сосудистых заболеваний.

1.3. Набор рассчитан на проведение анализа в дублях 41 исследуемых, 6 калибровочных образцов и 1 контрольного образца (всего 96 определений при использовании всех стрипов планшета).

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Метод определения основан на одностадийном «сэндвич» – варианте твердофазного иммуноферментного анализа с применением моноклональных антител к СРБ.

В лунках планшета при добавлении исследуемого образца и конъюгата, во время инкубации происходит связывание С-реактивного белка с моноклональными антителами к СРБ, иммобилизованными на внутренней поверхности лунок планшета, и конъюгатом моноклональных антител к СРБ с пероксидазой хрена. После удаления избытка несвязавшегося конъюгата, во время инкубации с раствором тетраметилбензидина плюс происходит окрашивание раствора в лунках. Степень окраски пропорциональна концентрации СРБ в анализируемых образцах. После измерения величины оптической плотности раствора в лунках на основании калибровочного графика рассчитывается концентрация СРБ в анализируемых образцах.

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

- планшет разборный (12 восьмилуночных стрипов) с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок моноклональными антителами к СРБ, готовый для использования – 1 шт.;
- калибровочные образцы, содержащие известные количества СРБ – 0; 0,5; 1,0; 2,0; 5,0; 10 МЕ/л, аттестованные по WHO International Standard HUMAN C-REACTIVE PROTEIN 1st international Standard NIBSC 85/506, концентрации СРБ в калибровочных образцах могут несколько отличаться от указанных величин, точные величины указаны на этикетках пробирок, готовые для использования – 6 пробирок (по 0,15 мл);

- контрольный образец на основе инактивированной сыворотки крови человека с известным содержанием СРБ, аттестованный по WHO International Standard HUMAN C-REACTIVE PROTEIN 1st international Standard NIBSC 85/506, не содержащий антитела к ВИЧ-1, 2 и вирусу гепатита С, HBsAg, и антиген р24 ВИЧ-1, готовый для использования – 1 пробирка (0,15 мл);
- конъюгат моноклональных антител к СРБ с пероксидазой хрена, готовый для использования – 1 флакон (13 мл);
- раствор для разведения сывороток – 2 флакона (по 25 мл);
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином – 1 флакон (28 мл);
- раствор тетраметилбензидина плюс, готовый для использования – 1 флакон (13 мл);
- стоп-реагент, готовый для использования – 1 флакон (12 мл).

Принадлежности:

- пленка для заклеивания планшета – 1 шт.;
- трафарет для построения калибровочного графика – 1 шт.;
- ванночка для реагентов – 2 шт.;
- наконечники для дозатора на 5–200 мкл – 16 шт.;
- планшет для предварительного разведения исследуемых образцов – 1 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Специфичность высоко-чувствительного анализа обеспечивается использованием моноклональных антител, обладающих высокой специфичностью к СРБ.

3.2.* Воспроизводимость. Коэффициент вариации результатов определения СРБ в контрольном образце не превышает 8%.

3.3.* Линейность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «линейность» – отклонение от расчетной величины концентрации СРБ при разведении калибровочных образцов, содержащих 10 МЕ/л, 5 МЕ/л, 2 МЕ/л, 1 МЕ/л в 2 раза. Процент «линейности» составляет: 90–110 %.

3.4.* Точность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации СРБ предписанной в пробе, полученной путем смешивания равных объемов контрольного образца и калибровочного образца 1,0 МЕ/л. Процент «открытия» составляет 90–110%.

3.5.* Чувствительность. Минимально определяемая концентрация СРБ, рассчитанная на основании среднего арифметического значения оптической плотности калибровочного образца B_0 плюс 2σ (среднее квадратичное отклонение от среднего арифметического значения B_0) не превышает 0,05 МЕ/л.

3.6. «Хук»-эффект высоких концентраций при исследовании сывороток крови не обнаружен до концентрации 200 МЕ/л.

3.7. Клиническая проверка. Концентрация СРБ, измеренная в сыворотке крови, взятой у 237 условно здоровых мужчин и женщин юго-восточного региона Западной Сибири в возрасте 20–50 лет, не превышала 5 МЕ/л.

В группе стационарных больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями, в которую вошли 12 больных с ишемической болезнью сердца, 18 больных с нестабильной стенокардией и 14 больных с острым инфарктом миокарда, были больные с низким, средним и высоким риском развития осложнений. При этом значения СРБ распределились следующим образом:

- в группе с низким риском осложнений уровень СРБ составлял менее 1 МЕ/л;
- в группе со средним риском – не более 3 МЕ/л;
- в группе высоким риском – более 3 МЕ/л.

3.8. Рекомендуются в каждой лаборатории при использовании набора уточнить значения концентрации СРБ, соответствующее нормальному для данного региона у обследуемого контингента людей.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 26 (Приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).

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 января 1991 г. и в методических указаниях МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

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 посуды и материалов, контактировавших с исследуемыми и контрольными образцами, рекомендуем использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС, спиртов, третичных аминов. Использование дезинфицирующих средств, содержащих активный кислород и хлор (H_2O_2 , деохлор, хлорамин), приводит к серьезному искажению результатов.

4.8. При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПиН 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».

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;
- шейкер термостатируемый орбитального типа, позволяющий производить встряхивание при температуре $37 \pm 1^\circ C$ и 400–800 об/мин;
- микроцентрифуга, позволяющая центрифугировать при 1500–2000 об/мин;
- термостат, поддерживающий температуру $37 \pm 1^\circ C$;
- промывочное устройство для планшетов;
- холодильник бытовой;
- дозаторы полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 5 до 5000 мкл;
- дозатор полуавтоматический многоканальный со сменными наконечниками, позволяющий отбирать объемы жидкостей от 5 до 350 мкл;
- флаконы вместимостью 15 мл;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- колба вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- дезинфицирующий раствор.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

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

6.2. Образцы сыворотки крови можно хранить при температуре от 2 до $8^\circ C$ не более 48 ч, при температуре минус $20^\circ C$ (и ниже) не более 6 месяцев.

Повторное размораживание образцов сыворотки крови не допускается. После размораживания образцы следует тщательно перемешать.

6.3. Образцы сывороток крови, содержащие осадок, необходимо очистить центрифугированием при 1000–1500 об/мин в течение 5 мин при температуре от 18 до 25°C.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

7.1. Перед проведением анализа компоненты набора и исследуемые образцы следует выдержать при температуре от 18 до 25°C 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. Оставшиеся неиспользованными стрипы немедленно поместить вновь в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух и плотно закрыть замок.

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

7.3. Приготовление промывочного раствора

Внести в мерный цилиндр необходимое количество концентрата фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) и довести до соответствующего объема дистиллированной водой. При выпадении осадка солей в концентрате необходимо прогреть его при температуре 30–40°C до полного растворения осадка.

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

Приготовленный промывочный раствор можно хранить при температуре 2–8°C не более 5 сут.

7.4. Приготовление калибровочных и контрольного образцов

Калибровочные и контрольный образцы готовы к использованию.

Перед проведением анализа пробирки с калибровочными образцами и контрольным образцом встряхнуть или центрифугировать на микроцентрифуге так, чтобы капли растворов со стенок и крышки опустились на дно. Затем содержимое пробирок тщательно перемешать пипетированием, избегая вспенивания.

После отбора части содержимого тщательно укупоренные пробирки хранить при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора.

7.5. Подготовка исследуемых сывороток

Проводится в лунках планшета для предварительного разведения исследуемых сывороток за 5–10 мин до начала постановки анализа.

В лунки планшета для предварительного разведения внести: 90 мкл раствора для разведения сывороток (PPC) + 10 мкл исследуемой сыворотки, тщательно перемешать (раствор А); 90 мкл PPC + 10 мкл раствора А, тщательно перемешать (разведение в 100 раз).

Разведенные исследуемые сыворотки можно хранить при температуре от 18 до 25°C не более 30 мин.

Если концентрация СРБ в анализе превышает 10 МЕ/л, образец необходимо дополнительно развести еще в 10 раз на PPC (например, к 90 мкл PPC добавить 10 мкл уже разведенного в 100 раз образца).

Подготовку рабочего разведения анализируемых образцов (разведение в 100 раз) можно также проводить непосредственно перед началом проведения анализа в отдельных заранее промаркированных пробирках. Для этого в микропробирку на 1,5 мл внести 495 мкл PPC, затем добавить 5 мкл исследуемой сыворотки и тщательно перемешать.

7.6. Подготовка конъюгата

Конъюгат готов к использованию.

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

Оставшийся после проведения ИФА конъюгат утилизировать (*не сливать во флакон с исходным конъюгатом*).

Конъюгат после первого вскрытия флаконов хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора.

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

7.7. Подготовка раствора тетраметилбензидина плюс

Раствор тетраметилбензидина плюс (раствор ТМБ плюс) готов к использованию.

Необходимое количество раствора ТМБ плюс отобрать в чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента.

Оставшийся после проведения ИФА раствор ТМБ плюс утилизировать (*не сливать во флакон с исходным раствором ТМБ плюс*).

Необходимо исключить воздействие прямого солнечного или яркого искусственного света на раствор ТМБ плюс.

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

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

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 неконтролируемому 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 первого вскрытия стоп-реагент можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора.

ПРОВЕДЕНИЕ ИФА

7.9. Внести в соответствующие лунки в дуб-лях по 10 мкл каждого калибровочного образца и по 10 мкл контрольного образца. В остальные лунки внести в дублях по 10 мкл анализируемых образцов сыворотки крови, предварительно разведенных в 100 раз (см п. 7.5).

Время внесения образцов не должно превышать 10 мин при использовании всех лунок планшета.

7.10. Внести во все лунки по 100 мкл конъюгата (см п. 7.6).

Тщательно перемешать в течение 30 сек на шейкере или при помощи дозатора (5–6 круговых движений, во время которых следует 3–4 раза набрать и опорожнить наконечник), избегая образования пены. **Важно перемешать полностью!**

Для внесения конъюгата использовать ванночку для реагента и одноразовые наконечники.

7.11. Планшет заклеить пленкой и инкубировать в термостате при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение 45 мин.

7.12. 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 не менее 350 мкл жидкости в процессе каждого цикла промывки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого цикла промывки. По окончании промывки остатки влаги из лунок тщательно удалить, постукивая перевернутым планшетом по фильтровальной бумаге.

7.13. Внести во все лунки по 100 мкл раствора ТМБ плюс (см п. 7.7) и инкубировать в защищенном от света месте в течение 25 мин при температуре 18–25°C.

Для внесения раствора тетраметилбензидина плюс использовать ванночку для реагента и одноразовые наконечники.

7.14. Внести во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Измерить величину оптической плотности растворов в лунках стрипов на фотометре вертикального сканирования в двухволновом режиме: при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–655 нм. Допускается измерение только при длине волны 450 нм. Измерение проводить через 2–3 мин после остановки реакции в один прием во всех использованных лунках планшета.

Время между остановкой реакции и измерением оптической плотности не должно превышать 10 мин.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

9.1. Вычислить среднее арифметическое значение оптической плотности для каждой пары лунок, содержащих калибровочные образцы.

9.2. Построить в линейных координатах калибровочный график зависимости среднего арифметического значения оптической плотности (ед. опт. плотн.) от концентрации СРБ в калибровочных образцах (МЕ/л).

9.3. Определить содержание СРБ в контрольном образце и исследуемых образцах по калибровочному графику. Вычислить среднее арифметическое значение концентрации для каждой пары лунок, содержащих контрольный и исследуемые образцы.

9.4. Если концентрация СРБ в исследуемом образце превышает 10 МЕ/л, то данный образец анализируют повторно, после дополнительного разведения на РРС в 10 раз (т.е. конечное разведение данного образца 1:1000) для этого добавить к 90 мкл РРС 10 мкл предварительно разведенной в 100 раз исследуемой сыворотки, перемешать. Результаты, полученные для образцов, разведенных в 1000 раз, умножаются на 10 (на величину дополнительного разведения). Если в исследуемом образце ожидается высокое содержание СРБ (острая фаза бактериальной или вирусной инфекции, травма, инфаркт и т.д.), такие образцы сразу следует разводить в 1000 раз.

9.5. Результаты анализа исследуемых образцов учитывать, если вычисленное по калибровочному графику значение концентрации СРБ в контрольном образце соответствует указанному диапазону концентраций на этикетке пробирки.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Набор реагентов «СРБ – ИФА – БЕСТ высокочувствительный» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности (12 мес).

10.2. Транспортирование наборов должно производиться всеми видами крытого транспорта с соблюдением условий и требований, установленных на данном виде транспорта, при температуре от 2 до 8°C. Допускается транспортирование набора при температуре до 25°C не более 10 сут.

Замораживание компонентов набора не допускается.

10.3. Дробное использование набора может быть реализовано в течение всего срока годности. В случае дробного использования набора:

- неиспользованные стрипы можно хранить в плотно закрытом пакете при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора;
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином, раствор для разведения сывороток, конъюгат и стоп-реагент после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора;
- раствор тетраметилбензидина плюс после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора;
- калибровочные образцы, контрольный образец после вскрытия пробирок можно хранить в плотно закрытых пробирках при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности;
- промывочный раствор можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 5 сут.

10.4. Для представления результатов измерений концентрации СРБ в мг/л следует использовать коэффициент пересчета 1,020:

1 МЕ/л СРБ соответствует 1,02 мг/л СРБ.

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

Нельзя использовать реагенты из наборов других фирм-производителей.

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

10.7. Не допускается применение серии набора по истечении срока ее годности.

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 набора
«СРБ – ИФА – БЕСТ высокочувствительный»,
следует обращаться в АО «Вектор-Бест»
по адресу:**

630559, Новосибирская область,
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.

Не применять набор реагентов по назначению после окончания срока годности.

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

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

1. 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;
- 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 обрабатывайте 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 ТМБ из флакона необходимо обрабатывать 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 с раствором ТМБ;
- 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.

2. Условия правильности работы набора

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

- соотношение оптических плотностей калибровочных образцов: $ОП_0 < ОП_{0,5} < ОП_1 < ОП_2 < ОП_5 < ОП_{10}$;
 - $ОП_{10} \geq 1,0$ ед. опт. плотн. (о.е.);
 - $ОП_0 \leq 0,2$ о.е.;
- $ОП_0, ОП_{0,5}, ОП_1, ОП_2, ОП_5$ и $ОП_{10}$ – среднее значение оптической плотности калибровочных образцов 0, 0,5, 1, 2, 5 и 10 МЕ/л соответственно.

3. Расчет результатов анализа

Для построения калибровочного графика на прилагаемом трафарете против концентрации каждого калибровочного образца отложить соответствующее ей среднее значение оптической плотности и последовательно соединить полученные точки отрезками прямых линий.

Пример калибровочного графика представлен на рисунке.

Определить концентрацию СРБ в контрольном образце и в анализируемых образцах по калибровочному графику. Для этого на оси ординат отметить 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 СРБ в образце.

При использовании для расчетов концентраций компьютерного или встроенного в спектрофотометр программного обеспечения в настройках выбрать метод, соответствующий кусочно-линейной аппроксимации.

4. Диагностическая значимость

При любых повреждениях организма развивается каскад физиологических реакций (местных и системных) направленных на восстановление функций, который называют «острой фазой воспаления». Эта фаза включает повышение температуры, лейкоцитоз, повышение иммунореактивности, в том числе радикальные изменения биосинтеза белков печени. Группа белков острой фазы (БОФ) насчитывает до 30 белков плазмы, к их особенностям относятся неспецифичность и высокая корреляция концентраций в крови с активностью заболевания и стадией процесса. Последнее выгодно отличает БОФ от других показателей воспаления, таких как СОЭ или сдвиг лейкоцитарной формулы.

Уникальным маркером острой фазы воспаления является С-реактивный белок (СРБ), так как является очень чувствительным показателем повреждения (концентрация в крови возрастает в 20–100 раз, иногда в 1000 раз!) и самым быстрым (первые 6–10 часов). Это α_2 – глобулин плазмы, относящийся к семейству пентраксинов, состоит из 5 одинаковых, нековалентно связанных субъединиц (каждая с мол. массой 21–23 кДа). Содержание его в крови взрослого человека до 8 мг/л, у новорожденных до 0,5 мг/л. Синтез СРБ осуществляется в гепатоцитах и регулируется при помощи интерлейкинов ИЛ-1 и ИЛ-6.

СРБ – мультифункциональный белок острой фазы, играющий важную роль в защите от чужеродных агентов и в аутоиммунных процессах. Он включается в неспецифический иммунный ответ сразу после проникновения антигена в организм и действует через стимуляцию фагоцитоза нейтрофилов и клеток моноцитарно-макрофагального ряда. Продукты протеолиза СРБ вызывают усиление продукции аниона O_2^- , повышают активность миелопероксидаз, действуют как хемоаттрактанты и регулируют пролиферацию Т- и В- лимфоцитов. Комплексы СРБ и лиганда (компоненты мембран микроорганизмов и/или поврежденных клеток) активируют систему комплемента по классическому или альтернативному пути. Кроме того, СРБ способствует удалению веществ образующихся при деградации клеток.

Степень повышения СРБ различается в зависимости от причины воспаления. Уровень концентрации СРБ достигает 10–30 мг/л при вирусных инфекциях, метастазировании опухоли, хронических или системных ревматических заболеваниях. В случае бактериальных инфекций, обострении хронических болезней, повреждении тканей (хирургические операции, острый инфаркт миокарда) количество СРБ возрастает до 40–200 мг/л. Генерализованные инфекции, ожоги, сепсис сопровождаются самым высоким приростом уровня СРБ – до 300 мг/л и более.

С введением в лабораторную практику высокочувствительных (нижняя граница определения – 0,5 мг/л) методов выявления СРБ, его концентрации, ранее считавшиеся «следовыми» или «фоновыми» (< 5–8 мг/л) стали называть «базовыми» и использовать в кардиологии в качестве прогностического признака при сердечно-сосудистых заболеваниях (ССЗ). Базовый уровень СРБ достоверно значим для острого инфаркта миокарда и мозгового инсульта, особенно в сочетании с определением тропонина, холестерина, фибриногена.

5. Краткая схема проведения ИФА для набора реагентов

«СРБ – ИФА – БЕСТ высокочувствительный»

Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!

Внести: по 10 мкл калибровочных и контрольного образцов в дуб-лях;
по 10 мкл предварительно разведенных анализируемых образцов в дублях.

Внести: по 100 мкл конъюгата.

Тщательно перемешать в течение 30 секунд.

Инкубировать: 45 мин, 37°C.

Промыть: промывочным раствором,
350 мкл, 5 раз.

Внести: по 100 мкл раствора тетраметилбензидина.

Инкубировать: 25 мин, 18–25°C, в темноте.

Внести: по 100 мкл стоп-реагента.

Измерить: ОП при 450 нм / референсная длина волны 620–655 нм.

6. Графические символы

	Номер по каталогу		Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>
	Содержимого достаточно для проведения п-количества тестов		Не стерильно
	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) 363-05-97.

Таблица расхода компонентов набора реагентов

Кол-во используемых стрипов	Конъюгат, мл	Раствор ТМБ, мл	Промывочный раствор	
			ФСБ-Т концентрат, мл	Дистил. вода, мл
2	2.0	2.0	4.0	до 100
3	3.0	3.0	6.0	до 150
4	4.0	4.0	8.0	до 200
5	5.0	5.0	10.0	до 250
6	6.0	6.0	12.0	до 300
7	7.0	7.0	14.0	до 350
8	8.0	8.0	16.0	до 400
9	9.0	9.0	18.0	до 450
10	10.0	10.0	20.0	до 500
11	11.0	11.0	22.0	до 550
12	12.0	12.0	24.0	до 600

* по ГОСТ Р 51352-2013.

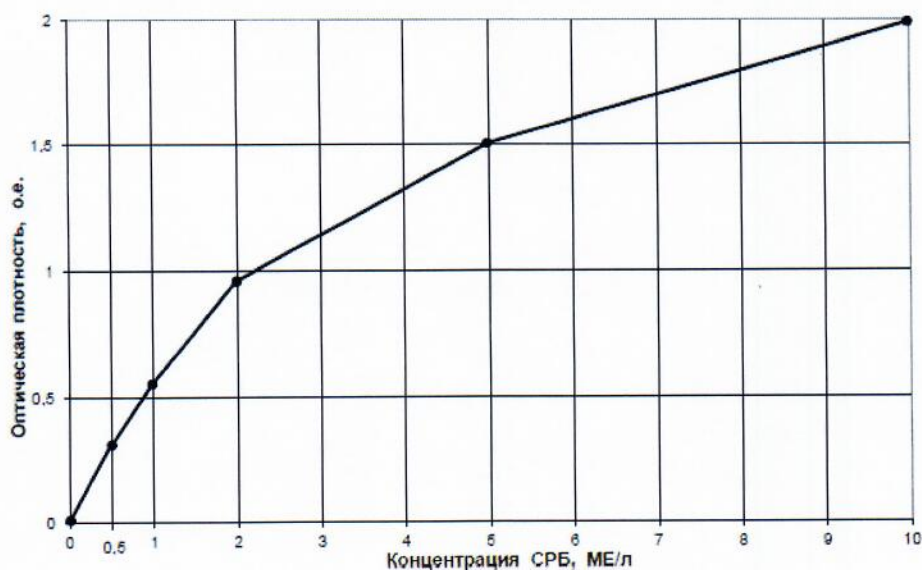


Рис. Пример зависимости оптической плотности от концентрации СРБ в калибровочных образцах.