«УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный директор
АО «Вектор-Бест»
_____ М.Д. Хусаинов
«21» _____ 2022 г.
м.п.

ИНСТРУКЦИЯ
по применению Набора реагентов для иммуноферментного определения концентрации N-терминального фрагмента предшественника мозгового натрийуретического пептида в сыворотке крови
(NTproBNP-ИФА-БЕСТ)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «NTproBNP-ИФА-БЕСТ» предназначен для определения концент-рации N-терминального фрагмента предшественника мозгового натрийуретического пептида (NTproBNP) в сыворотке крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Натрийуретические гормоны являются регуляторами водно-солевого обмена веществ в организме. Натрийуретический пептид В-типа (мозговой натрийуретический пептид или BNP) синтезируется главным образом в кардиомиоцитах желудочков в виде белков-предшественников – preproBNP. Основным стимулом его секреции является повышение напряжения миокарда при увеличении давления в левом желудочке сердца.

В дальнейшем preproBNP расщепляется и высвобождается в кровь в виде N терминального фрагмента, состоящего из 76 аминокислот – NTproBNP, и активного гормона, содержащего 32 аминокислоты – BNP. Регуляция секреции BNP происходит на уровне экспрессии гена и в ответ на соответствующие стимулы может возрастать очень быстро. NTproBNP имеет более длительный период полураспада (120 мин), чем циркулирующий в кровотоке BNP (20 мин), он может определяться в крови в течение нескольких дней. Высокая концентрация и стабильность в сыворотке и плазме крови позволяют использовать NTproBNP для оценки функции миокарда.

При сердечно-сосудистой патологии натрийуретические пептиды хорошо отражают сократительную функцию сердца. Прогрессирование сердечной недостаточности сопровождается повышением содержания NTproBNP, при этом, с увеличением его концентрации, возрастает риск смертельного исхода.

1.3. Количественное определение содержания NTproBNP в сыворотке крови применяется для ранней диагностики и определения степени тяжести сердечной недостаточности. Динамическое исследование концентрации NTproBNP может быть использовано для оценки эффективности терапии и прогноза у пациентов с дисфункцией левого желудочка.

1.4. Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 42 неизвестных образцов, 5 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 твердофазном иммуноферментном анализе с применением двух типов моноклональных антител к NTproBNP.

В лунках планшета при добавлении исследуемого образца и конъюгата во время инкубации происходит связывание сывороточного NTproBNP с моноклональными антителами к NTproBNP, иммобилизованными на внутренней поверхности лунок, и моноклональными антителами к NTproBNP, конъюгированными с пероксидазой. После удаления избытка несвязавшегося конъюгата, во время инкубации с раствором тетраметилбензидина, происходит окрашивание раствора в лунках. Степень окраски пропорциональна концентрации NTproBNP в анализируемых пробах. После измерения величины оптической плотности раствора в лунках на основании калибровочного графика рассчитывается концентрация NTproBNP в анализируемых образцах.

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

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

- планшет разборный (12 восьмилуночных стрипов) с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок моноклональными антителами к NTproBNP, готовый для использования – 1 шт.;
- калибровочные образцы К1, К2, К3, К4 и К5 на основе сыворотки крови человека, аттестованные относительно стандарта «Liquichek Cardiac Markers Plus Control» (фирма BioRad, Франция), содержащие известные количества NTproBNP; точные величины концентрации NTproBNP в калибровочных образцах указаны на этикетках флаконов, лиофилизированные – 5 флаконов;
- контрольный образец на основе сыворотки крови человека с известным содержанием NTproBNP, лиофилизированный – 1 флакон;
- конъюгат моноклональных антител к NTproBNP с пероксидазой хрена, концентрат – 1 флакон (0,7 мл);
- раствор для разведения образцов (РРО) – 1 флакон (12,0 мл);
- раствор для разведения конъюгата (РРК) – 1 флакон (13,0 мл);
- раствор для разведения сывороток (РРС) – 1 флакон (12,0 мл);
- 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 1 флакон (28,0 мл);
- субстратный буферный раствор (СБР) – 1 флакон (13,0 мл);
- тетраметилбензидин (ТМБ), концентрат – 1 флакон (1,0 мл);
- стоп-реагент, готовый для использования – 1 флакон (12,0 мл).

Набор дополнительно комплектуется:

- пленкой для заклеивания планшета – 1 шт.;
- трафаретом для построения калибровочного графика – 1 шт.;
- ванночкой для реагентов – 2 шт.;
- наконечниками для пипеток на 4–200 мкл – 16 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Используемые в наборе реагентов моноклональные антитела обеспечивают высокую специфичность выявления NTproBNP.

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

3.3. Линейность. Отклонение от расчетной величины концентрации NTproBNP при разведении анализируемых проб сывороткой крови, не содержащей NTproBNP, не превышает 10% в диапазоне концентраций К2–К5.

3.4. Точность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации NTproBNP предписанной в пробе, полученной путем смешивания равных объемов контрольного образца и калибровочного образца К3. Процент «открытия» составляет 90–110%.

3.5. Чувствительность. Минимальная достоверно определяемая набором концентрация NTproBNP не превышает 20 пг/мл.

3.6. Клиническая проверка. Концентрация NTproBNP, измеренная в сыворотке крови 165 здоровых лиц в возрасте 20–50 лет с использованием набора «NTproBNP-ИФА-БЕСТ», не превышала 200 пг/мл, при этом средняя концентрация составила 50 пг/мл. Изменение содержания NTproBNP в зависимости от пола и возраста представлены в таблице 1.

3.7. Рекомендуется в каждой лаборатории при использовании набора уточнить значения концентрации NTproBNP, соответствующие нормальным для данного региона у обследуемого контингента людей.

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

Таблица №1

Изменение содержания NTproBNP
в зависимости от пола и возраста

	Мужчины (45–59 лет)	Женщины (45–59 лет)	Мужчины (≥60 лет)	Женщины (≥60 лет)
Концентрация, пг/мл	100	144	172	225

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 1 (ГОСТ Р 51609-2000).

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 набором следует соблю--
дать «Правила устройства, техники безопас-ности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений сис-темы Министерства здравоохранения СССР»
(Москва, 1981 г.).

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, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

- спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках стрипов при длине волны 450 нм и/или в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–655 нм;
- шейкер термостатируемый орбитального типа, позволяющий производить встряхивание при температуре 37±1°С и 400–800 об/мин;
- холодильник бытовой;
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 50–5000 мкл;
- пипетка полуавтоматическая многоканальная со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объемы жидкости 50, 100 и 300 мкл;
- промывочное устройство для планшетов;
- флаконы вместимостью 10–15 мл;
- цилиндр мерный вместимостью 500 мл;
- колбы вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- бумага фильтровальная лабораторная;

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

– дезинфицирующий раствор.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

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

6.2. Образцы сыворотки крови можно хранить при температуре 2–8°С не более 5 сут или при температуре минус 20°С (и ниже) не более 3 мес.

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 18–25°С.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

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

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

7.3. Приготовление калибровочных образцов и контрольного образца

Для восстановления необходимо добавить в каждый лиофилизированный образец 1,5 мл раствора для разведения образцов (РРО), оставить не менее чем на 15 минут для полного растворения и аккуратно перемешать, избегая пенообразования.

Восстановленные образцы стабильны в течение 2 часов при 2–8°С. Для увеличения срока стабильности их необходимо аликвотировать сразу же после восстановления и хранить при –20°С в течение 3 мес. Каждая аликвота образцов может быть заморожена и разморожена только один раз.

7.4. 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 30–40°С до полного растворения осадка.

В таблице 2 приведен расход реагентов в зависимости от количества используемых стрипов.

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

7.5. Приготовление рабочего раствора конъюгата

Готовится за 5–10 мин до начала анализа.

В таблице 2 приведен расход реагентов в зависимости от количества используемых стрипов.

В соответствии с числом используемых стрипов в отдельный чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента внести необходимое количество раствора для разведения конъюгата (РРК), добавить соответствующее количество концентрата конъюгата, тщательно перемешать.

Рабочий раствор конъюгата можно хранить при температуре 18–25°С не более 3 ч.

7.6. Приготовление рабочего раствора тетраметилбензидина

Готовится за 5–10 мин до окончания инкубации.

В таблице 2 приведен расход реагентов в зависимости от количества используемых стрипов.

В соответствии с числом используемых стрипов в отдельный чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента внести необходимое количество субстратного буферного раствора (СБР), добавить соответствующее количество концентрата ТМБ, тщательно перемешать.

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.*

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

Рабочий раствор тетраметилбензидина можно хранить в защищенном от света месте при температуре 18–25°С не более 3 ч.

ПРОВЕДЕНИЕ ИФА

7.7. Внести в соответствующие лунки в дуб-ликатах по 100 мкл каждого калибровочного образца и по 100 мкл контрольного образца. В остальные лунки внести в дубликатах по 100 мкл анализируемых образцов сыворотки крови.

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

7.8. Внести во все лунки по 50 мкл рабочего раствора конъюгата (см п. 7.5).

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

7.9. Планшет заклеить пленкой и инкубировать в течение 60 мин при встряхивании на шейкере при температуре 37°С, с интенсивностью перемешивания 650 об/мин.

7.10. 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. 7.4), чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок каждого стрипа. В каждую лунку вносить не менее 350 мкл жидкости в процессе каждого цикла промывки. *Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого цикла отмывки.* По окончании промывки остатки влаги из лунок тщательно удалить, постукивая перевернутым планшетом по фильтровальной бумаге.

7.11. Внести во все лунки по 100 мкл рабочего раствора тетраметилбензидина (см. п. 7.6) и инкубировать в темноте в течение 15 мин при встряхивании на шейкере при температуре 37°С, с интенсивностью перемешивания 650 об/мин.

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

7.12. Внести во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и рабочий раствор тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента; при этом содержимое лунок окрашивается в желтый цвет.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Измерить величину оптической плотности растворов в лунках стрипов 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 NTproBNP в калибровочных образцах (пг/мл).

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

9.3. Если концентрация NTproBNP в анализируемых образцах сыворотки крови превышает концентрацию NTproBNP в калибровочном образце с максимальным его содержанием, образцы следует развести раствором для разведения сывороток (РРС) в 10 раз (20 мкл исследуемого образца + 180 мкл раствора для разведения сывороток), повторить анализ и полученный результат умножить на 10.

10. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

10.1. Транспортирование наборов должно проводиться при температуре 2–8°С. Допускается транспортирование наборов при температуре до 25°С не более 10 сут.

Замораживание компонентов набора не допускается.

10.2. Набор реагентов «NTproBNP-ИФА-БЕСТ» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре 2–8°С в течение всего срока годности (9 мес). Допускается хранение набора при температуре до 25°С не более 10 сут.

Замораживание компонентов набора не допускается.

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

10.3. Дробное использование набора может быть реализовано не позднее 3 мес с момента проведения первого иммуноферментного анализа, но в пределах срока годности набора.

В случае дробного использования набора:

- неиспользованные стрипы можно хранить в плотно закрытом пакете при температуре 2–8°С в течение всего срока годности набора;
- 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином, раствор для разведения образцов, раствор для разведения сывороток, раствор для разведения конъюгата, субстратный буферный раст-вор и стоп-реагент после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре 2–8°С в течение всего срока годности набора;
- концентрат тетраметилбензидина после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре 2–8°С в течение всего срока годности набора;
- калибровочные образцы, контрольный образец после восстановления можно хранить при температуре 2–8°С в течение 2 ч или при –20°С в течение 3 мес;
- концентрат конъюгата после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре 2–8°С в течение всего срока годности набора;
- рабочий раствор конъюгата можно хранить при температуре 18–25°С не более 3 ч;
- промывочный раствор можно хранить при температуре 2–8°С не более 5 сут;
- рабочий раствор тетраметилбензидина можно хранить в защищенном от света месте при температуре 18–25°С не более 3 ч.

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

10.5. Образцы сыворотки крови можно хранить при температуре 2–8°С не более 5 суток или при температуре минус 20°С (и ниже) не более 3 мес, допускается однократное замораживание-размораживание образцов сыворотки крови.

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

10.7. 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.

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 NTproBNP 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.

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

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 исследуемыми образцами

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.

Обращение с материалами, контактирующими с исследуемыми образцами

Материалы, контактирующие с исследуемыми образцами, следует дезинфицировать в соответствии п. 4.7. настоящей инструкции и 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;

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

– перед отбором 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.

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

– 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: $ОП_1 < ОП_2 < ОП_3 < ОП_4 < ОП_5$;

– $ОП_5 \geq 1{,}0$ ед. опт. плотн. (о.е.);

– $ОП_0 \leq 0{,}1$ о.е.;

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

$ОП_1$, $ОП_2$, $ОП_3$, $ОП_4$ и $ОП_5$ – среднее значение оптической плотности калибровочных образцов 1, 2, 3, 4 и 5 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 NTproBNP (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 NTproBN 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 NTproBNP в образце.

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

ОЖИДАЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ:

- **нормальные концентрации NTproBNP:** 0–200 пг/мл;
- **сердечная недостаточность:** более 200 пг/мл.

6. Краткая схема проведения ИФА для набора реагентов «NTproBNP-ИФА-БЕСТ»

Использовать только после внимательного ознакомления с инструкцией!

Внести:	по 100 мкл калибровочных образцов и контрольного образца в дубликатах; по 100 мкл анализируемых образцов в дубликатах.
Внести:	по 50 мкл рабочего раствора конъюгата.
Инкубировать:	60 мин, 37°С, 650 об/мин.
Промыть:	промывочным раствором, 350 мкл, 5 раз.
Внести:	по 100 мкл рабочего раствора тетраметилбензидина.
Инкубировать:	15 мин, 37°С, 650 об/мин, 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

Таблица №2

Расход компонентов набора реагентов

Кол-во используе-мых стрипов	Промывочный раствор		Рабочий раствор конъюгата		Рабочий раствор ТМБ	
	ФСБ-Т, концентрат, мл	Дистил. вода, мл	Конъюгат, концентрат, мл	РРК, мл	ТМБ, концентрат, мл	СБР, мл
2	4,0	до 100	0,10	1,0	0,14	2,0
3	6,0	до 150	0,15	1,5	0,21	3,0
4	8,0	до 200	0,20	2,0	0,28	4,0
5	10,0	до 250	0,25	2,5	0,35	5,0
6	12,0	до 300	0,30	3,0	0,42	6,0
7	14,0	до 350	0,35	3,5	0,49	7,0
8	16,0	до 400	0,40	4,0	0,56	8,0
9	18,0	до 450	0,45	4,5	0,63	9,0
10	20,0	до 500	0,50	5,0	0,70	10,0
11	22,0	до 550	0,55	5,5	0,77	11,0
12	24,0	до 600	0,60	6,0	0,84	12,0

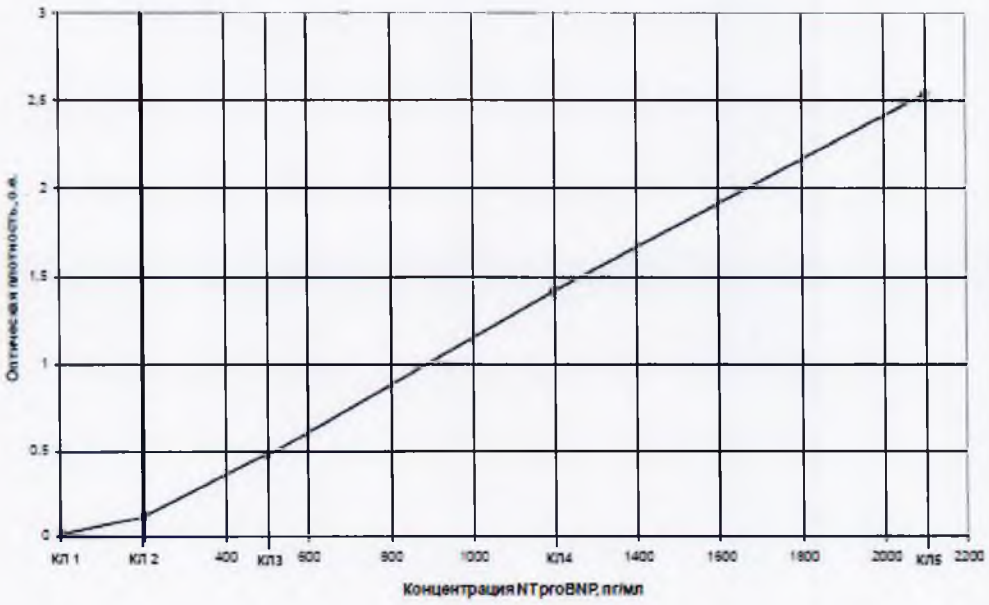


Рис. Пример зависимости оптической плотности
от концентрации NTproBNP в калибровочных образцах

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

Графические символы

	Изготовитель		Дата изготовления
	Код партии		Обратитесь к инструкции по применению
	Номер по каталогу		Медицинское изделие для диагностики *in vitro*
	Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению.		Использовать до....
	Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов		Температурный диапазон
	Не стерильно		Не допускать воздействия солнечного света

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

630559, Новосибирская область,
Новосибирский район,
п. Кольцово, а/я 121,
тел. (383) 227-67-64,
E-mail: vbobtk@vector-best.ru
Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 227-75-41.

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