

ВЕКТОР



Набор реагентов  
для иммуноферментного определения  
концентрации С-реактивного белка  
в сыворотке крови

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

*Утверждена 21.01.2016*

---

---

**СРБ – ИФА – БЕСТ  
высокочувствительный**

НАБОР РЕАГЕНТОВ  
**A-9002**



## **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, аттес-

тованные 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 высокочувствительного 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%.

---

\* по ГОСТ Р 51352-2013.

**3.5.\*** Чувствительность. Минимально определяемая концентрация СРБ, рассчитанная на основании среднего арифметического значения оптической плотности калибровочного образца  $V_0$  плюс  $2\sigma$  (среднее квадратичное отклонение от среднего арифметического значения  $V_0$ ) 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 2б (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 клиничко-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 чело-

века 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 дезинфек-

ции, 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  $37\pm 1^\circ\text{C}$  и 400–800 об/мин;
- микроцентрифуга, позволяющая центрифугировать при 1500–2000 об/мин;
- термостат, поддерживающий температуру  $37\pm 1^\circ\text{C}$ ;
- 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 гемолизованную, мутную сыворотку крови.

**6.2.** Образцы сыворотки крови можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 48 ч, при температуре минус 20°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.

**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

### **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 дублях 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  $18\text{--}25^\circ\text{C}$ .

*Для внесения раствора тетраметилбензида 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 тетраметилбензида, 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.о. 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 ЗАО «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**

**высококчувствительный»,**

следует обращаться в ЗАО «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:  $ОП_0 < ОП_{0,5} < ОП_1 < ОП_2 < ОП_5 < ОП_{10}$ ;

–  $ОП_{10} \geq 0,9$  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.

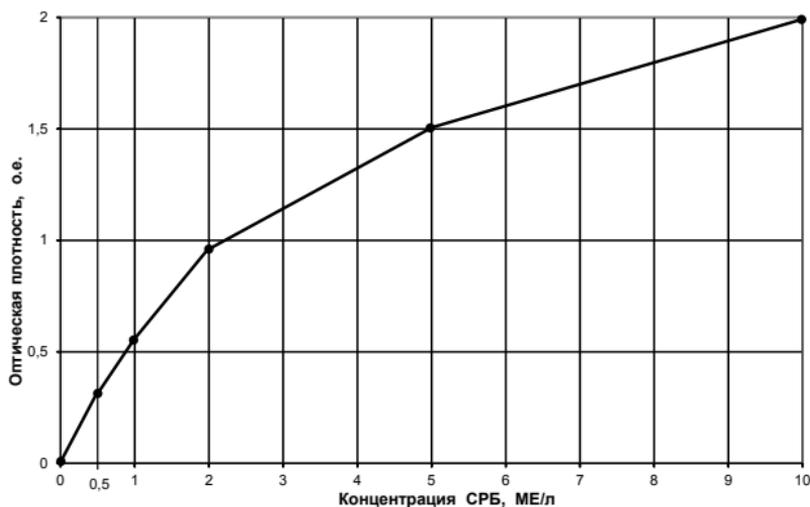
Пример калибровочного графика представлен на рисунке.

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



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

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  $\alpha_2$  – 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 деструкции 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  
высококочувствительный»**

*Использовать только после тщательного  
ознакомления с инструкцией!*

- Внести:** по 10 мкл калибровочных и контрольного образцов в дублях;  
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 n-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.**

18.04.16.

ЗАКРЫТОЕ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО  
«ВЕКТОР-БЕСТ»

Международные сертификаты  
ISO 9001 и ISO 13485

**НАБОРЫ РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИФА**

Вирусные гепатиты А, В, С, D, Е, G, ТТ;  
ВИЧ-инфекция; ИППП; ТОРСН-инфекции;  
герпесвирусные инфекции; беременность;  
аутоиммунные, системные, паразитарные,  
желудочно-кишечные заболевания;  
гормоны; опухолевые и кардиомаркеры;  
цитокины, аллергены и др.

***Точная диагностика –  
эффективное лечение!***

**Наш адрес:** 630117, Новосибирск-117, а/я 492  
Тел./факс: (383) 227-73-60 (многоканальный)  
Тел.: (383) 332-37-10, 332-37-58, 332-36-34,  
332-67-49, 332-67-52

*E-mail:* [vbmarket@vector-best.ru](mailto:vbmarket@vector-best.ru)

Internet: [www.vector-best.ru](http://www.vector-best.ru)