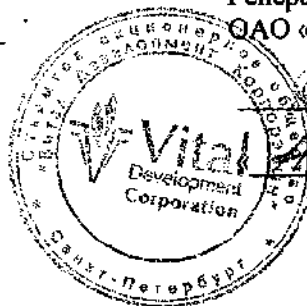


УТВЕРЖДЕНА
Приказом Росздравнадзора
от _____ г. № _____

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»

КОПИЯ ВЕРНА
ГЕН. ДИРЕКТОР

Е.Н.СХОЛЛЬ-ЭНГБЕРТС



Е.Н.Схолль-Энгбертс

2011 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения концентрации
С-реактивного белка (СРБ) в сыворотке крови
иммунотурбидиметрическим методом

(СРБ - Витал)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов СРБ-Витал предназначен для количественного определения концентрации С-реактивного белка (СРБ) в сыворотке крови человека иммунотурбидиметрическим методом в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и научно-исследовательской практике.

СРБ является неспецифическим белком острой фазы, который секретируется в кровь при воспалительных процессах различного генеза, за исключением вирусных инфекций. Количественное определение уровня СРБ в крови имеет важное диагностическое значение, т.к. повышение его концентрации отражает интенсивность воспалительного процесса, а также используется для дифференциальной диагностики первичных и вторичных иммунодефицитов и аутоиммунных заболеваний. Особо важное значение имеет определение концентрации СРБ для дифференциальной диагностики начальных стадий сердечной патологии, когда даже незначительное повышение уровня СРБ в крови может свидетельствовать о высоком риске развития кардиологических заболеваний.

Набор рассчитан для проведения 100 или 500 определений при расходе по 500 мкл реагента 1 и 50 мкл реагента 2 на один анализ.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Определение основано на методе иммунотурбидиметрического анализа. Исследуемые, калибровочные и контрольные образцы смешивают с буфером и антисывороткой к СРБ. В результате иммунологической реакции формируются иммунные комплексы СРБ с соответствующими антителами, и образуется мутная суспензия, оптическая плотность которой измеряется фотометрически при длине волны 600 нм. Содержание СРБ в анализируемых образцах прямо пропорционально величине оптической плотности исследуемых образцов и определяется по калибровочному графику.

2.2. Состав набора:

В состав набора входят следующие компоненты:

- реагент 1: {буфер [натрия фосфат двузамещенный, калия дигидрофосфат, 100 ммоль/л; натрия хлорид, 154 ммоль/л] pH 7,43; полиэтиленгликоль, 60 г/л; натрия азид, 0,95 г/л}, готов к использованию - 1 флакон (100 мл) или 2 флакона (по 250 мл);

- реагент 2: антисыворотка {фосфатный буфер [натрия фосфат двузамещенный, калия дигидрофосфат; 100 ммоль/л; натрия хлорид, 154 ммоль/л] pH 7,43; козыи поликлональные антитела к СРБ человека; натрия азид, 0,95 г/л}, готов к использованию - 1 флакон (5 мл или 25 мл);
- калибровочные пробы на основе сыворотки крови человека, содержащие 0; 6,0; 12; 48; 120 и 220 мкг/мл СРБ человека; калибровочные пробы откалиброваны по Международному стандартному материалу BCR-ERM-DA470 (RPPHS/IFCC); готовы к использованию – 6 флаконов (по 0,5 мл);
- контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием СРБ, готова к использованию – 1 флакон (0,5 мл).

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Перекрестная реакция используемой антисыворотки к СРБ с другими белками сыворотки крови человека практически отсутствует.

Линейная область определения концентрации СРБ – в диапазоне концентраций от 6,0 до 220 мкг/мл, отклонение от «линейности» - не более 8 %.

Чувствительность определения – не более 3,0 мкг/мл.

Коэффициент вариации результатов определений - не более 7 %.

Качество набора может проверяться по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.

Нормальная величина концентрации СРБ в сыворотке крови составляет не более 10 мкг/мл.

Рекомендуется в каждой лаборатории уточнить диапазон нормальных величин СРБ для обследуемого контингента людей.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

Реагенты 1 и 2 содержат токсичное соединение – натрия азид. Следует избегать попадания реагентов 1 и 2 на кожу и слизистые; в случае попадания их на кожу и слизистые необходимо промыть пораженные участки большим количеством проточной воды.

Меры предосторожности - соблюдение «Правил устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г).

При работе с набором необходимо надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, т.к. кровь человека является потенциально инфицированным материалом, способным длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

- Автоматический (полуавтоматический) биохимический анализатор или спектрофотометр, длина волны 340 нм, кювета с длиной оптического пути 10 мм;
- пипетки полуавтоматические одноканальные, позволяющие отмерять объемы жидкости 0,03, 0,05 и 0,5 мл;
- пробирки вместимостью 3,0-5,0 мл;
- перчатки резиновые или пластиковые.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Свежая негемолизированная сыворотка крови человека.

Сыворотку крови следует отделить от форменных элементов не позднее, чем через 1 ч после забора крови.

Образцы сыворотки крови можно хранить при температуре 2-8°C не более 2 сут; при необходимости более длительного хранения (до 3 мес) – при температуре минус 20°C и ниже. Повторное замораживание образцов не допускается.

7. ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Компоненты набора и исследуемые образцы сыворотки крови выдержать при комнатной температуре (18-25°C) в течение времени не менее 30 мин.

Реагент 1, реагент 2, калибровочные пробы и контрольная сыворотка готовы к использованию.

8. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Приготовить и промаркировать соответствующим образом по одной пробирке для каждой калибровочной пробы, для контрольной (холостой) пробы, для контрольной сыворотки и для каждого образца анализируемого образца сыворотки крови.

Внести в соответствующие пробирки, кроме пробирки с контрольной (холостой) пробой, по 0,5 мл реагента 1; в пробирку с контрольной (холостой) пробой внести 0,53 мл реагента 1. Добавить в соответствующие пробирки для калибровочных проб и контрольной сыворотки по 0,03 мл калибровочных проб и контрольной сыворотки, в остальные пробирки - по 0,03 мл исследуемых образцов сыворотки крови.

Тщательно перемешать содержимое пробирок и измерить оптическую плотность (ОП₁) калибровочных проб, контрольной сыворотки и анализируемых образцов сыворотки крови против контрольной (холостой) пробы при длине волны 340 нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм при комнатной температуре (18-25°C).

Добавить во все пробирки по 0,05 мл реагента 2 (антисыворотка), тщательно перемешать пробы, инкубировать при комнатной температуре в течение 5 мин (точно!), после чего измерить оптическую плотность (ОП₂) калибровочных проб, контрольной сыворотки и анализируемых образцов сыворотки крови против контрольной (холостой) пробы при длине волны 340 нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм.

9. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Вычислить изменение оптической плотности калибровочных проб ($\Delta ОП$) по формуле:

$$\Delta ОП = ОП_2 - ОП_1$$

Построить калибровочный график зависимости ОП от концентрации СРБ в калибровочных пробах, откладывая на оси ординат величины ОП калибровочных проб, а на оси абсцисс – их концентрацию.

Вычислить $\Delta ОП = ОП_2 - ОП_1$ для опытных проб и контрольной сыворотки и определить по калибровочному графику содержание СРБ в исследуемых образцах сыворотки крови и в контрольной сыворотке.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор должен храниться при температуре 2-8°C в упаковке предприятия-изготовителя в сухом месте в течение всего срока годности. Допускается хранение набора при температуре до 25°C не более 5 сут. Замораживание компонентов набора не допускается.

Срок годности набора – 2 года.

Реагент 1, реагент 2, калибровочные пробы и контрольную сыворотку после вскрытия флаконов можно хранить при температуре 2-8°C в темном месте не более 4 недель.

Для отбора и добавления анализируемых проб и компонентов набора рекомендуется использовать полуавтоматические одноканальные пипетки, аттестованные на точность по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования.

Если концентрация СРБ в анализируемой пробе превышает 220 мкл/мл, необходимо анализируемый образец развести реагентом 1 в 5 раз, повторить анализ и полученный результат умножить на 5.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение Инструкции по применению набора.

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться в ОАО "Витал Девелопмент Корпорэйшн" по адресу:

194 156, Санкт-Петербург, пр. Энгельса, д. 27.

Тел/факс: (812) 326-61-98.

и на кафедру КЛД ГОУ ДПО «РМАПО Росздрава» по адресу:

116 000, Москва, 2-й Боткинский пр, д. 5.

Тел.: (495) 945-82-22.

Генеральный директор
ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»

Зав. кафедрой клинической лабораторной
диагностики с курсом молекулярной медицины,
директор НЦ «Институт лабораторной медицины»
ГОУ ВПО СПбГМУ им. акад. И.П.Павлова Росздрава,
Главный специалист-эксперт
по клин. лаб. диагностике Росздравнадзора
по С-ЗФО, д. м. н., профессор



В.Л.Эмануэль



Эмануэль В.Л.
19.08.2001

Прошито, пронумеровано,
и скреплено печатью

Всего 1
Ген. директор
Схолль-Энгберге Е.Н.

