

УТВЕРЖДЕНА

«УТВЕРЖДАЮ»

Приказом Росздравнадзора

от \_\_\_\_\_ 200\_\_ г.

№ \_\_\_\_\_

Генеральный директор ООО «Хема-Медика»

Ю. С. Лебедин

«*Ю. С. Лебедин*» 2007 г.



**ИНСТРУКЦИЯ**  
**по применению Набора реагентов для иммуноферментного определения**  
**тропонина I в сыворотке и плазме крови**  
**«ТРОПОНИН I-ИФА»**

**1. НАЗНАЧЕНИЕ.**

**1.1.** Набор реагентов «ТРОПОНИН I-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации тропонина I в сыворотке или плазме крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа.

**1.2.** Количественное определение тропонина I (ТнI) позволяет проводить лабораторную диагностику острого инфаркта миокарда (ИМ), повторного ИМ и ИМ, развившегося на фоне тяжелой органической патологии миокарда.

ТнI - белок с молекулярной массой 22.5 кД - входит в состав тропонинового комплекса, играющего важную роль в регуляции мышечных сокращений клеток поперечно-полосатой мускулатуры и миокарда. Известно три изоформы ТнI человека: две специфичны для скелетной мускулатуры, и одна - для миокарда. Кардиоспецифическая изоформа ТнI не экспрессируется ни в каких иных тканях, кроме миокарда. Ее структурные отличия позволяют с помощью иммунологических методов отличать ее от других изоформ ТнI. ТнI появляется в кровотоке через 4-6 часов после развития характерного болевого приступа; его уровень достигает максимума в течение первых 16-20 часов. В течение первого дня после инфаркта кинетика высвобождения ТнI из некротических тканей миокарда аналогична кинетике выхода СКМВ, на протяжении последнего десятилетия считающегося «золотым» стандартом в диагностике ОИМ.

Однако в то время, как уровень СКМВ остается повышенным лишь в течение двух-трех дней после развития болевого приступа, ТнI в кровотоке определяется на протяжении одной недели после развития первых симптомов заболевания. Поэтому ТнI может использоваться не только для ранней, но и для отдаленной диагностики ОИМ, когда образец сыворотки получен спустя несколько дней после развития болевого приступа.

В этом отношении ТнI сходен с ТнТ - другим представителем тропонинового семейства из группы маркеров поражения миокарда. Вместе с тем, было показано (Adams et al., Amer. Heart J, 1996; 131:308-12), что в отсутствие каких-либо проявлений ишемической болезни сердца концентрации ТнТ (равно как и уровни СКМВ) в крови нередко повышаются у больных, находящихся на хроническом диализе, а также у пациентов с хроническими заболеваниями скелетной мускулатуры. Это объясняется тем, что у больных этой группы кардиоспецифические формы ТнТ и СКМВ могут экспрессироваться в скелетной мускулатуре. В то же время экспрессии кардиоспецифической формы ТнI в скелетной мускулатуре и повышения концентрации этого маркера в крови больных данной группы выявлено не было.

**2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА.**

**2.1. Принцип работы Набора.** Определение основано на использовании «сэндвич»-варианта твердофазного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы моноклональные антитела к тропонину I человека. В лунках планшета, при добавлении анализируемого образца, во время инкубации происходит связывание тропонина I, содержащегося в образце, с антителами на твердой фазе. Количество связавшегося тропонина I пропорционально его

концентрации в анализируемой пробе. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата моноклональных антител к тропонину I с пероксидазой. В результате образуется связанный с пластиком «сэндвич», содержащий пероксидазу. Во время инкубации с раствором тетраметилбензидина происходит окрашивание растворов в лунках. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации тропонина I в анализируемом образце. Концентрацию тропонина I в анализируемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания тропонина I в калибровочных пробах.

## **2.2. Состав Набора:**

- планшет 96-луночный полистироловый стрипированный, с сорбированными на внутренней поверхности лунок моноклональными анти- тропонин I -антителами - 1 шт.;
- калибровочные пробы на основе сыворотки крови человека, с использованием препарата тропонина I человека, содержащие известные количества тропонина I - 0; 0,3; 1; 3 и 10 нг/мл, лиофильно высушенные в стеклянных флаконах емкостью 2,0 мл с пластиковыми крышками, поступающими в комплекте с флаконами; концентрации тропонина I в калибровочных пробах могут несколько отличаться от указанных величин, точные величины указаны на этикетках пробирок (флаконов - 5 флаконов (по 1,0 мл каждый);
- конъюгат, готов к использованию - 1 флакон (6,0 мл);
- раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), готов к использованию - 1 флакон (11 мл);
- контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием тропонина I, лиофильно высушенная в стеклянных флаконах емкостью 2,0 мл с пластиковыми крышками, поступающими в комплекте с флаконами - 1 флакон (1,0 мл);
- концентрат отмывочного раствора - 1 флакон (22 мл);
- стоп-реагент (5% серная кислота), готов к использованию -1 флакон (11 мл);
- липкая лента для заклеивания планшета - 1 шт.

## **3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ.**

**3.1. Специфичность.** Использование моноклональных антител к тропонину I позволяет достичь высокую специфичность анализа.

**3.2. Воспроизводимость.** Коэффициент вариации результатов определения содержания тропонина I в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «ТРОПОНИН I-ИФА» не превышает 8,0%.

**3.3. Линейность.** Зависимость концентрации тропонина I в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей тропонина I, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 0,3-10 нг/мл и составляет  $\pm 10,0\%$ .

**3.4. Точность.** Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» тропонина I - соответствие измеренной концентрации тропонина I предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 1 нг/мл. Процент «открытия» составляет 90 -110%.

**3.5. Чувствительность.** Минимальная достоверно определяемая Набором концентрация тропонина I не превышает 0,25 нг/мл.

**3.6. Клиническая проверка.** Концентрация тропонина I в сыворотке (плазме) крови у здоровых людей находится не превышает 0,3 нг/мл.

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

## **4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.**

**4.1. Потенциальный риск применения Набора – класс 2б (ГОСТ Р 51609-2000).**

**4.2.** Все компоненты Набора, за исключением стоп-реагента (раствор серной

кислоты), в используемых концентрациях являются нетоксичными.

Раствор серной кислоты обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. При попадании на кожу и слизистые следует смыть кислоту большим количеством проточной воды.

**4.3.** При работе с Набором следует соблюдать «Правила 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.).

**4.4.** При работе с Набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

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

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность раствора в лунках при длине волны 450 нм;
- термостат, поддерживающий температуру  $+37 \pm 0,1$  °C;
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 50; 100 и 250 мкл;
- цилиндр мерный вместимостью 500 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- бумага фильтровальная.

## **6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА.**

**6.1.** Перед проведением анализа компоненты Набора и исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови следует выдержать при комнатной температуре ( $+18-25$  °C) в течение времени не менее 30 мин.

**6.2.** Образцы сыворотки (плазмы) крови, используемые для анализа, можно хранить при температуре  $+2-8$  °C не более 24 ч или при температуре  $-20$  °C не более 2 недель. Не допускается повторное замораживание-оттаивание анализируемых образцов. При несоблюдении этих условий возможно резкое снижение уровня тропонина I в исследуемых образцах.

**6.3.** Для проведения анализа не следует использовать гемолизированную, мутную сыворотку (плазму) крови, а также сыворотку (плазму) крови, содержащую азид натрия.

**6.4.** Исключается использование для анализа образцов крови людей, получавших для диагностики или терапии препараты, в состав которых входят мышинные антитела.

**6.5.** При использовании Набора для проведения нескольких независимых серий анализов следует иметь в виду, что для каждого независимого определения необходимо построение нового калибровочного графика; кроме этого, рекомендуется определение концентрации тропонина I в контрольной сыворотке.

### **6.6. Приготовление планшета.**

Вскрыть пакет с планшетом и установить на рамку необходимое количество стрипов. Вскрытые стрипы следует использовать в течение 1 ч, длительному хранению не подлежат. Оставшиеся неиспользованными стрипы, чтобы предотвратить воздействие на них влаги, необходимо тщательно заклеить липкой лентой для заклеивания планшета и хранить в упаковке при температуре  $+2-8$  °C в течение всего срока годности Набора.

### **6.7. Приготовление отмывочного раствора.**

Содержимое флакона с концентратом отмывочного раствора перенести в мерный цилиндр вместимостью 500 мл, добавить 198 мл дистиллированной воды и тщательно перемешать.

В случае дробного использования Набора следует отобрать необходимое

количество концентрата отмывочного раствора и развести дистиллированной водой в 10 раз (1 объем концентрата + 9 объемов дистиллированной воды).

Приготовленный отмывочный раствор можно хранить при комнатной температуре (+18-25 °C) не более 2 дней или при температуре +2-8 °C не более 10 дней.

#### **6.8. Приготовление калибровочных проб и контрольной сыворотки.**

Внести во флаконы с калибровочными пробами и контрольной сывороткой по 1,0 мл дистиллированной воды. Через 10 мин тщательно перемешать, избегая вспенивания. Разведенные калибровочные пробы и контрольная сыворотка должны быть использованы в течение 1 ч после растворения лиофилизированных порошков. Для длительного хранения необходимо отобрать аликвоты калибровочных проб и контрольной сыворотки и заморозить их при температуре -30 °C.

В таком виде калибровочные пробы и контрольная сыворотка хранятся в течение всего срока годности Набора. Перед использованием аликвоты необходимо разморозить при комнатной температуре (18-25 °C) и тщательно перемешать.

### **7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА.**

**7.1.** Внести в соответствующие лунки в дубликатах по 50 мкл каждой калибровочной пробы и контрольной сыворотки. В остальные лунки внести в дубликатах по 50 мкл анализируемых образцов сыворотки (плазмы) крови.

Внесение образцов необходимо производить в течение времени не более 5-10 мин.

**7.2.** Внести во все лунки по 50 мкл конъюгата.

**7.3.** Аккуратно перемешать содержимое планшета круговыми движениями по горизонтальной поверхности, заклеить планшет липкой лентой для заклеивания планшета и инкубировать его в течение 60 мин при температуре +37 °C.

**7.4.** По окончании инкубации удалить содержимое лунок аспирацией (например, с помощью водоструйного насоса) или декантированием и промыть лунки 5 раз. При каждой промывке добавить во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора, перемешать содержимое планшета круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок постукиванием планшета в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.

**7.5.** Внести во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина (ТМБ).

Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) в лунки необходимо произвести в течение 1-2 мин.

Инкубировать планшет в темноте при комнатной температуре (+18-25 °C) в течение 15-25 мин в зависимости от степени развития синего окрашивания.

**7.6.** Внести во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), по 100 мкл стоп-реагента; при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.

### **8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ.**

**8.1.** Измерить величину оптической плотности (ОП) в лунках планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм. Измерение ОП растворов в лунках планшета необходимо произвести в течение времени не более 5 мин после внесения стоп-реагента.

В случае невозможности своевременного измерения ОП растворов в лунках на фотометре, планшет можно хранить при температуре +2-8 °C не более 4 ч.

**8.2.** Если программа фотометра позволяет вычитать величину ОП в лунках с калибровочной пробой 0 мМЕд/л из значений ОП всех остальных лунок, то для дальнейших расчетов необходимо использовать величину В - среднее арифметическое значение величины ОП в лунках, содержащих калибровочные или анализируемые пробы. Если же фотометр не позволяет вычитать величину ОП лунок с калибровочной пробой 0 мМЕд/л, то необходимо пользоваться формулой  $B - B_0$ , где  $B_0$  - среднее арифметическое

значение величины ОП в лунках с калибровочной пробой 0 мМЕд/л.

### 9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ.

9.1. Построить в линейных координатах калибровочный график: ось абсцисс - концентрация тропонина I в калибровочных пробах (мМЕд/л), ось ординат - оптическая плотность калибровочных проб (ОП<sub>450</sub>).

9.2. Определить по калибровочному графику содержание тропонина I в анализируемых пробах.

### 10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА.

10.1. Набор реагентов «ТРОПОНИН I-ИФА» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2-8 °С в течение всего срока годности (12 мес.). Допускается хранение Набора при температуре до +25 °С не более 5 сут.

10.2. Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 42 неизвестных образцов, 5 калибровочных проб и 1 пробы контрольной сыворотки (всего 96 определений).

10.3. В случае дробного использования Набора компоненты следует хранить следующим образом:

- вскрытые стрипы следует использовать в течение 1 ч, длительному хранению не подлежат;

- оставшиеся неиспользованными стрипы тщательно заклеить липкой лентой для заклеивания планшета и хранить в упаковке при температуре +2-8 °С в течение всего срока годности Набора;

- конъюгат и раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) после вскрытия флакона можно хранить при температуре +2-8 °С не более 1 мес;

- стоп-реагент после вскрытия флаконов можно хранить при температуре +2-8 °С в течение всего срока годности Набора;

- калибровочные пробы и контрольную сыворотку после вскрытия флаконов можно хранить при температуре +2-8 °С не более 1 мес; при необходимости более длительного хранения - при температуре -30 °С в течение всего срока годности Набора;

- приготовленный отмывочный раствор можно хранить при комнатной температуре (+18-25 °С) не более 2 дней или при температуре +2-8 °С не более 10 дней;

- оставшийся неиспользованным концентрат отмывочного раствора можно хранить при температуре +2-8 °С в течение всего срока годности Набора;

10.4. Запрещается использовать стоп-реагенты из наборов других фирм-производителей.

10.5. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение Инструкции по применению Набора.

*По вопросам, касающимся качества Набора реагентов «ТРОПОНИН I-ИФА», следует обращаться в ООО «Хема-Медика» по адресу: 125319, Москва, 4-я ул. 8 Марта, д. 3, стр.3, тел/факс (095) 1523160; 1523731.*

Руководитель исследовательского  
отдела ООО «Хема-Медика»  Д.С. Кострикин

«СОГЛАСОВАНО»

Заведующий кафедрой клинической  
лабораторной диагностики

ГОУ ДПО РМАПО Росздрава



Д.М.Н., профессор В.В. Долгов

УТВЕРЖДЕНА

«УТВЕРЖДАЮ»

Приказом Росздравнадзора

от \_\_\_\_\_ 200\_\_ г.

№ \_\_\_\_\_

Генеральный директор ООО «Хема-Медика»

Ю. С. Лебедин

2007 г.



## ИНСТРУКЦИЯ

### по применению Набора реагентов для иммуноферментного определения тропонина I в сыворотке и плазме крови «ТРОПОНИН I-ИФА»

#### 1. НАЗНАЧЕНИЕ.

1.1. Набор реагентов «ТРОПОНИН I-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации тропонина I в сыворотке или плазме крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Количественное определение тропонина I (ТнI) позволяет проводить лабораторную диагностику острого инфаркта миокарда (ИМ), повторного ИМ и ИМ, развившегося на фоне тяжелой органической патологии миокарда.

ТнI - белок с молекулярной массой 22.5 кД - входит в состав тропонинового комплекса, играющего важную роль в регуляции мышечных сокращений клеток поперечно-полосатой мускулатуры и миокарда. Известно три изоформы ТнI человека: две специфичны для скелетной мускулатуры, и одна - для миокарда. Кардиоспецифическая изоформа ТнI не экспрессируется ни в каких иных тканях, кроме миокарда. Ее структурные отличия позволяют с помощью иммунологических методов отличать ее от других изоформ ТнI. ТнI появляется в кровотоке через 4-6 часов после развития характерного болевого приступа; его уровень достигает максимума в течение первых 16-20 часов. В течение первого дня после инфаркта кинетика высвобождения ТнI из некротических тканей миокарда аналогична кинетике выхода СКМВ, на протяжении последнего десятилетия считающегося «золотым» стандартом в диагностике ОИМ.

Однако в то время, как уровень СКМВ остается повышенным лишь в течение двух-трех дней после развития болевого приступа, ТнI в кровотоке определяется на протяжении одной недели после развития первых симптомов заболевания. Поэтому ТнI может использоваться не только для ранней, но и для отдаленной диагностики ОИМ, когда образец сыворотки получен спустя несколько дней после развития болевого приступа.

В этом отношении ТнI сходен с ТнТ - другим представителем тропонинового семейства из группы маркеров поражения миокарда. Вместе с тем, было показано (Adams et al., Amer. Heart J, 1996; 131:308-12), что в отсутствие каких-либо проявлений ишемической болезни сердца концентрации ТнТ (равно как и уровни СКМВ) в крови нередко повышаются у больных, находящихся на хроническом диализе, а также у пациентов с хроническими заболеваниями скелетной мускулатуры. Это объясняется тем, что у больных этой группы кардиоспецифические формы ТнТ и СКМВ могут экспрессироваться в скелетной мускулатуре. В то же время экспрессии кардиоспецифической формы ТнI в скелетной мускулатуре и повышения концентрации этого маркера в крови больных данной группы выявлено не было.

#### 2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА.

2.1. Принцип работы Набора. Определение основано на использовании «сэндвич»-варианта твердофазного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы моноклональные антитела к тропонину I человека. В лунках планшета, при добавлении анализируемого образца, во время инкубации происходит связывание тропонина I, содержащегося в образце, с антителами на твердой фазе. Количество связавшегося тропонина I пропорционально его

концентрации в анализируемой пробе. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата моноклональных антител к тропонину I с пероксидазой. В результате образуется связанный с пластиком «сэндвич», содержащий пероксидазу. Во время инкубации с раствором тетраметилбензидина происходит окрашивание растворов в лунках. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации тропонина I в анализируемом образце. Концентрацию тропонина I в анализируемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания тропонина I в калибровочных пробах.

## **2.2. Состав Набора:**

- планшет 96-луночный полистироловый стрипированный, с сорбированными на внутренней поверхности лунок моноклональными анти- тропонин I-антителами - 1 шт.;
- калибровочные пробы на основе сыворотки крови человека, с использованием препарата тропонина I человека, содержащие известные количества тропонина I - 0; 0,3; 1; 3 и 10 нг/мл, лиофильно высушенные в стеклянных флаконах емкостью 2,0 мл с пластиковыми крышками, поступающими в комплекте с флаконами; концентрации тропонина I в калибровочных пробах могут несколько отличаться от указанных величин, точные величины указаны на этикетках пробирок (флаконов - 5 флаконов (по 1,0 мл каждый));
- конъюгат, готов к использованию - 1 флакон (6,0 мл);
- раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), готов к использованию - 1 флакон (11 мл);
- контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием тропонина I, лиофильно высушенная в стеклянных флаконах емкостью 2,0 мл с пластиковыми крышками, поступающими в комплекте с флаконами - 1 флакон (1,0 мл);
- концентрат отмывочного раствора - 1 флакон (22 мл);
- стоп-реагент (5% серная кислота), готов к использованию - 1 флакон (11 мл);
- липкая лента для заклеивания планшета - 1 шт.

## **3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ.**

**3.1. Специфичность.** Использование моноклональных антител к тропонину I позволяет достичь высокую специфичность анализа.

**3.2. Воспроизводимость.** Коэффициент вариации результатов определения содержания тропонина I в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «ТРОПОНИН I-ИФА» не превышает 8,0%.

**3.3. Линейность.** Зависимость концентрации тропонина I в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей тропонина I, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 0,3-10 нг/мл и составляет  $\pm 10,0\%$ .

**3.4. Точность.** Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» тропонина I - соответствие измеренной концентрации тропонина I предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 1 нг/мл. Процент «открытия» составляет 90 -110%.

**3.5. Чувствительность.** Минимальная достоверно определяемая Набором концентрация тропонина I не превышает 0,25 нг/мл.

**3.6. Клиническая проверка.** Концентрация тропонина I в сыворотке (плазме) крови у здоровых людей находится не превышает 0,3 нг/мл.

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

## **4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.**

**4.1. Потенциальный риск применения Набора – класс 2б (ГОСТ Р 51609-2000).**

**4.2.** Все компоненты Набора, за исключением стоп-реагента (раствор серной

кислоты), в используемых концентрациях являются нетоксичными.

Раствор серной кислоты обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. При попадании на кожу и слизистые следует смыть кислоту большим количеством проточной воды.

**4.3.** При работе с Набором следует соблюдать «Правила 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.).

**4.4.** При работе с Набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

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

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность раствора в лунках при длине волны 450 нм;
- термостат, поддерживающий температуру  $+37 \pm 0,1$  °C;
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 50; 100 и 250 мкл;
- цилиндр мерный вместимостью 500 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- бумага фильтровальная.

## **6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА.**

**6.1.** Перед проведением анализа компоненты Набора и исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови следует выдержать при комнатной температуре ( $+18-25$  °C) в течение времени не менее 30 мин.

**6.2.** Образцы сыворотки (плазмы) крови, используемые для анализа, можно хранить при температуре  $+2-8$  °C не более 24 ч или при температуре  $-20$  °C не более 2 недель. Не допускается повторное замораживание-оттаивание анализируемых образцов. При несоблюдении этих условий возможно резкое снижение уровня тропонина I в исследуемых образцах.

**6.3.** Для проведения анализа не следует использовать гемолизированную, мутную сыворотку (плазму) крови, а также сыворотку (плазму) крови, содержащую азид натрия.

**6.4.** Исключается использование для анализа образцов крови людей, получавших для диагностики или терапии препараты, в состав которых входят мышинные антитела.

**6.5.** При использовании Набора для проведения нескольких независимых серий анализов следует иметь в виду, что для каждого независимого определения необходимо построение нового калибровочного графика; кроме этого, рекомендуется определение концентрации тропонина I в контрольной сыворотке.

### **6.6. Приготовление планшета.**

Вскрыть пакет с планшетом и установить на рамку необходимое количество стрипов. Вскрытые стрипы следует использовать в течение 1 ч, длительному хранению не подлежат. Оставшиеся неиспользованными стрипы, чтобы предотвратить воздействие на них влаги, необходимо тщательно заклеить липкой лентой для заклеивания планшета и хранить в упаковке при температуре  $+2-8$  °C в течение всего срока годности Набора.

### **6.7. Приготовление отмывочного раствора.**

Содержимое флакона с концентратом отмывочного раствора перенести в мерный цилиндр вместимостью 500 мл, добавить 198 мл дистиллированной воды и тщательно перемешать.

В случае дробного использования Набора следует отобрать необходимое

количество концентрата отмывочного раствора и развести дистиллированной водой в 10 раз (1 объем концентрата + 9 объемов дистиллированной воды).

Приготовленный отмывочный раствор можно хранить при комнатной температуре (+18-25 °C) не более 2 дней или при температуре +2-8 °C не более 10 дней.

#### **6.8. Приготовление калибровочных проб и контрольной сыворотки.**

Внести во флаконы с калибровочными пробами и контрольной сывороткой по 1,0 мл дистиллированной воды. Через 10 мин тщательно перемешать, избегая вспенивания. Разведенные калибровочные пробы и контрольная сыворотка должны быть использованы в течение 1 ч после растворения лиофилизированных порошков. Для длительного хранения необходимо отобрать аликвоты калибровочных проб и контрольной сыворотки и заморозить их при температуре -30 °C.

В таком виде калибровочные пробы и контрольная сыворотка хранятся в течение всего срока годности Набора. Перед использованием аликвоты необходимо разморозить при комнатной температуре (18-25 °C) и тщательно перемешать.

### **7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА.**

**7.1.** Внести в соответствующие лунки в дубликатах по 50 мкл каждой калибровочной пробы и контрольной сыворотки. В остальные лунки внести в дубликатах по 50 мкл анализируемых образцов сыворотки (плазмы) крови.

Внесение образцов необходимо производить в течение времени не более 5-10 мин.

**7.2.** Внести во все лунки по 50 мкл конъюгата.

**7.3.** Аккуратно перемешать содержимое планшета круговыми движениями по горизонтальной поверхности, заклеить планшет липкой лентой для заклеивания планшета и инкубировать его в течение 60 мин при температуре +37 °C.

**7.4.** По окончании инкубации удалить содержимое лунок аспирацией (например, с помощью водоструйного насоса) или декантированием и промыть лунки 5 раз. При каждой промывке добавить во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора, перемешать содержимое планшета круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок постукиванием планшета в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.

**7.5.** Внести во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина (ТМБ).

Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) в лунки необходимо произвести в течение 1-2 мин.

Инкубировать планшет в темноте при комнатной температуре (+18-25 °C) в течение 15-25 мин в зависимости от степени развития синего окрашивания.

**7.6.** Внести во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), по 100 мкл стоп-реагента; при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.

### **8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ.**

**8.1.** Измерить величину оптической плотности (ОП) в лунках планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм. Измерение ОП растворов в лунках планшета необходимо произвести в течение времени не более 5 мин после внесения стоп-реагента.

В случае невозможности своевременного измерения ОП растворов в лунках на фотометре, планшет можно хранить при температуре +2-8 °C не более 4 ч.

**8.2.** Если программа фотометра позволяет вычитать величину ОП в лунках с калибровочной пробой 0 мМЕд/л из значений ОП всех остальных лунок, то для дальнейших расчетов необходимо использовать величину В - среднее арифметическое значение величины ОП в лунках, содержащих калибровочные или анализируемые пробы. Если же фотометр не позволяет вычитать величину ОП лунок с калибровочной пробой 0 мМЕд/л, то необходимо пользоваться формулой В-В<sub>0</sub>, где В<sub>0</sub> - среднее арифметическое

значение величины ОП в лунках с калибровочной пробой 0 мМЕд/л.

### 9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ.

9.1. Построить в линейных координатах калибровочный график: ось абсцисс - концентрация тропонина I в калибровочных пробах (мМЕд/л), ось ординат - оптическая плотность калибровочных проб (ОП<sub>450</sub>).

9.2. Определить по калибровочному графику содержание тропонина I в анализируемых пробах.

### 10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА.

10.1. Набор реагентов «ТРОПОНИН I-ИФА» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2-8 °С в течение всего срока годности (12 мес.). Допускается хранение Набора при температуре до +25 °С не более 5 сут.

10.2. Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 42 неизвестных образцов, 5 калибровочных проб и 1 пробы контрольной сыворотки (всего 96 определений).

10.3. В случае дробного использования Набора компоненты следует хранить следующим образом:

- вскрытые стрипы следует использовать в течение 1 ч, длительному хранению не подлежат;

- оставшиеся неиспользованными стрипы тщательно заклеить липкой лентой для заклеивания планшета и хранить в упаковке при температуре +2-8 °С в течение всего срока годности Набора;

- конъюгат и раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) после вскрытия флакона можно хранить при температуре +2-8 °С не более 1 мес;

- стоп-реагент после вскрытия флаконов можно хранить при температуре +2-8 °С в течение всего срока годности Набора;

- калибровочные пробы и контрольную сыворотку после вскрытия флаконов можно хранить при температуре +2-8 °С не более 1 мес; при необходимости более длительного хранения - при температуре -30 °С в течение всего срока годности Набора;

- приготовленный отмывочный раствор можно хранить при комнатной температуре (+18-25 °С) не более 2 дней или при температуре +2-8 °С не более 10 дней;

- оставшийся неиспользованным концентрат отмывочного раствора можно хранить при температуре +2-8 °С в течение всего срока годности Набора;

10.4. Запрещается использовать стоп-реагенты из наборов других фирм-производителей.

10.5. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение Инструкции по применению Набора.

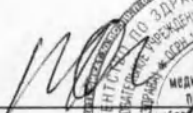
*По вопросам, касающимся качества Набора реагентов «ТРОПОНИН I-ИФА», следует обращаться в ООО «Хема-Медика» по адресу: 125319, Москва, 4-я ул. 8 Марта, д. 3, стр.3, тел/факс (095) 1523160; 1523731*

Руководитель исследовательского  
отдела ООО «Хема-Медика»  Д.С. Кострикин

«СОГЛАСОВАНО»

Заведующий кафедрой клинической  
лабораторной диагностики

ГОУ ДПО РМАПО Росздрава

 д.м.н., профессор В.В. Долгов