

УТВЕРЖДАЮ
Директор ООО НПО «БиоТест»
С.Н. Велиев
« 20 » января 2017г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению Набора реагентов «ПрокальцитонинТест» для иммунохроматографического выявления прокальцитонина в сыворотке крови человека

1 Назначение

Набор реагентов «ПрокальцитонинТест» для иммунохроматографического выявления прокальцитонина в сыворотке крови человека - одностадийный тест для полуколичественного определения прокальцитонина в сыворотке крови человека иммунохроматографическим методом *in vitro*.

Набор предназначен для профессионального использования врачом клинической лаборатории лечебного учреждения и служит вспомогательным средством для диагностики и контроля лечения бактериальных инфекций и сепсиса у пациентов обоего пола в возрасте от 3 дней.

2 Характеристика Набора

Набор рассчитан для проведения десяти анализов по выявлению белка прокальцитонина.

Состав Набора: индивидуальных тестов «ПрокальцитонинТест» с влагопоглотителем - 10 шт; наклейка в историю болезни со сравнительной шкалой – 10 шт.

Комплект поставки: Набор реагентов, инструкция по применению-1 шт, паспорт-1 шт.

Компоненты индивидуального теста.

Тестовое устройство, упакованное в индивидуальный пакет из алюминиевой фольги с влагопоглотителем. Тестовая подложка с мембраной содержит: конъюгат коллоидного золота и мышинных моноклональных антител к прокальцитонину ($0,28 \pm 0,04$ мкг); тестовая полоса: мышинные моноклональные антитела к прокальцитонину ($0,37 \pm 0,05$ мкг); контрольная полоса: антитела кролика к иммуноглобулинам мыши ($0,71 \pm 0,12$ мкг).

Методы стерилизации изделия Изделие не требует стерилизации.

Программное обеспечение работы изделия Отсутствует.

Техническое обслуживание и ремонт изделия Изделие не требует технического обслуживания и не подлежит ремонту.

Характеристика прокальцитонина

Прокальцитонин (ПКТ) аминокислотный полипептид с молекулярной массой 12795Да. В норме синтез ПКТ осуществляется в С-клетках щитовидной железы. Концентрация ПКТ в сыворотке здоровых людей (старше 3 дней) составляет не более 0,1 нг/мл. При сепсисе индуцированном бактериями, наблюдается повышение его содержания в крови в диапазоне от 5 нг/мл до 1000 нг/мл. Период полувыведения ПКТ в сыворотке в норме составляет 25-30 часов, а у пациентов с тяжелыми нарушениями функции почек - 30-45 часов. Вирусные инфекции, местные инфекции, аллергические состояния, аутоиммунные заболевания и отторжение трансплантата обычно не приводят к заметному повышению концентрации ПКТ (значения менее 0,5 нг/мл). Диапазон между 0,5 и 2 нг/мл относится к «серой зоне», существует вероятность наличия бактериального сепсиса. Необходимо пристальное наблюдение за пациентом – как с точки зрения клиники, так и с помощью последующего определения уровня ПКТ в течение 6 – 24 часов. Диапазон значений выше 2 нг/мл относится к диагнозу тяжело выраженный ССВР, тяжелый бактериальный сепсис или септический шок.

Диагностическая ценность прокальцитонина заключается в том, что он показывает системные воспаления и не учитывает локальные воспаления. Ежедневный мониторинг уровня ПКТ дает информацию о течении инфекционного процесса и прогнозирует исход заболевания.

Принцип действия: Набор представляет собой конструкцию, состоящую из комбинации мышинных моноклональных антител, кроличьих антител против иммуноглобулинов мыши и пористых материалов. Метод определения основан на взаимодействии мышинных моноклональных антител к молекуле прокальцитонина конъюгированных с частицами коллоидными золотом с прокальцитонином (ПКТ) в исследуемой пробе с образованием устойчивого комплекса. Этот комплекс под воздействием капиллярной силы движется к иммобилизованным на мембране вторым мышинным моноклональным антителам к молекуле прокальцитонина, где и происходит визуализация результата наличия прокальцитонина в тестируемых пробах с высокой специфичностью и чувствительностью. Интенсивность окрашивания тестовой полосы прямо пропорциональна концентрации ПКТ в образце, которая оценивается по сравнительной шкале наклейки. Конъюгат движется далее и связывается с антителами кролика против иммуноглобулинов мыши - контрольная полоса.

3 Аналитические характеристики

Контроль работы теста. Каждый тест снабжен внутренним контролем, в виде контрольной полосы.

Аналитическая чувствительность (минимально достоверная концентрация) (СПП-П, отрицательный контроль 1,2, положительный контроль 1,2,3) составляет 0,3 нг/мл.

Чувствительность определяется по стандартной панели положительных сывороток предприятия, содержащих белок прокальцитонина (СПП-П, положительный контроль 1), как процентное содержание образцов, определенных Набором как положительные, и составляет 100%.

Специфичность определяется по стандартной панели отрицательных сывороток предприятия, содержащих маркер в концентрации, не превышающей пороговую концентрацию и вовсе не содержащих маркер (СПП-П, отрицательный контроль 1, 2) как процентное содержание образцов, определенных набором как отрицательные, и составляет 100%.

Время достижения устойчивых показателей 30 минут.

Контрольные диапазоны концентраций ПКТ и интерпретация уровня ПКТ в сыворотке крови:

- ПКТ менее 0,5 нг/мл – заболевание отсутствует или возможно локальное воспаление;
- ПКТ от 0,5 до 2 нг/мл – системная воспалительная реакция ("серая зона"), умеренная степень. Поставить диагноз сепсиса с уверенностью нельзя, рекомендуется повторить измерение в течение 6-24 часов;
- ПКТ от 2 нг/мл до 10 нг/мл - тяжелый синдром системной воспалительной реакции (ССВР), высокий риск сепсиса;
- ПКТ свыше 10 нг/мл и выше - выраженный ССВР, тяжелый бактериальный сепсис или септический шок.

Диагностическая чувствительность набора: 98,51% (с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическая специфичность: 98,48% (с доверительной вероятностью 95%).

Воспроизводимость результатов: 100%.

4 Меры предосторожности

4.1 Только для диагностики *in vitro*, для профессионального использования.

4.2 Потенциальный риск применения Набора — класс 2Б.

4.3 Все компоненты Набора не токсичны, не горючи и готовы к использованию. Набор не содержит лекарственных средств, потенциально инфекционных животных или человеческих материалов. В состав индивидуального теста входят фиксированные высоко очищенные мышинные моноклональные антитела к прокальцитонину, полученные из гибридом. Антитела не содержат вирусных и чужеродных примесей.

4.4 В составе изделия отсутствуют материалы, вступающие в непосредственный или опосредованный контакт с организмом пациента и персонала, использующего изделие, при выполнении требований эксплуатационной документации. Конструкция изделия обеспечивает простоту в обращении и обслуживании и максимально снижает риск соприкосновения с биологическим материалом теста пользователем.

4.5 Все вносимые образцы, взятые на анализ, должны рассматриваться как потенциально инфицированные и храниться как инфицированные агенты. Персонал, должен быть информирован и обучен правилам безопасного

взятия образцов и должен располагать средствами защиты в соответствии с требованиями ГОСТ Р 52905-2007. После тестирования Набор должен быть утилизирован в специальном биозащитном контейнере или обеззаражен дезинфицирующими средствами, согласно СанПиН 2.1.7.2790-10 "Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами. Отходы класса Б.

4.6. Не используйте реагенты, если защитные пакеты вскрыты или повреждены при транспортировке.

5 Оборудование и материалы, необходимые при работе с Набором

Рекомендуемое оборудование, необходимое для проведения анализа: секундомер, автоматические пипетки с разным вносимым объемом, одноразовые наконечники к пипеткам. Центрифуга лабораторная на 2,5-3,0 тыс. об/мин. Холодильник бытовой.

6 Анализируемые образцы

В качестве образца использовать сыворотку крови человека обоего пола в возрасте более 3 дней. Сыворотку получают путем естественного свертывания либо с использованием активаторов свертывания крови. Неоднородная или гемолизированная сыворотка, содержащая какие-либо видимые включения, анализу не подлежит. Пробы сыворотки, которые не планируется анализировать в течение 6 часов после взятия образца, следует заморозить и хранить при минус 20°C. Не допускать повторного замораживания.

7 Проведение анализа

Все реагенты, входящие в состав Набора готовы к использованию и не требуют специальной предварительной подготовки.

7.1 Последовательность проведения анализа

Проведение анализа состоит из следующих этапов: получение анализируемого образца, внесение подготовленного образца в окно для внесения образца; проведение анализа; учет результатов.

7.2 Получение образца сыворотки

Сбор образцов крови должен производиться в соответствии с надлежащей практикой методом венепункции (ГОСТ Р 53079.4-2008 «Обеспечение качества клинических лабораторных исследований»). Взять образец цельной венозной крови с помощью стандартной лабораторной процедуры (асептическим способом, исключая гемолиз). Для получения сыворотки образца, кровь, взятую без активаторов свертывания крови, поместить в центрифужную пробирку и отстаивать в ней при комнатной температуре до образования сгустка в течение 30-40 минут, и затем центрифугировать образец.

Для получения сыворотки образца с использованием с активатора свертывания крови, образец крови поместить в пробирку с активатором свертывания крови. Время свертывания от 10 до 30 минут. Пробирки можно ставить в центрифугу не ранее 30 минут после взятия крови.

7.3 Внесение образца в иммунологическую планшету

Довести все компоненты Набора до комнатной температуры. Непосредственно перед проведением исследования, извлечь иммунологическую планшету из индивидуальной упаковки и положить на чистую сухую поверхность. Маркировать планшету фамилией или кодовым номером пациента.

Наличие в овальном окошке розового окрашивания – технологическая особенность конструкции тест-полоски, не является неисправностью теста

Внести одновременно подготовленный образец сыворотки по п.7.2 пипеткой в овальное окошко тестовой планшеты (рис.1), объем вносимой пробы должен составлять 100-150 мкл до ограничительной отметки в лунке. Включить секундомер. Образец должен полностью впитаться.



Рис. 1. Внесение образца в иммунологическую планшету

Оценка результатов проводится через 30 минут после внесения образца. Регистрация результатов осуществляется визуально. Время начала и окончания тестирования отметить на наклейке в историю болезни. Результат работы теста обязательно проверяется наличием окрашенной полосы в зоне «контрольной полосы» и сравнением интенсивности окрашивания тестовой полосы со сравнительной шкалой.

Положительный. Выявление в тестовой зоне полосы интенсивностью окрашивания от 0,5 нг/мл и более свидетельствует о положительном результате (рис. 2а). Значение результата исследования определяется дальнейшим визуальным сравнением со стандартными цветными линиями на наклейке со сравнительной шкалой. Диапазон от 0,5 до 2 нг/мл относится к системной воспалительной реакции (серая зона). Поставить диагноз сепсиса с уверенностью нельзя, рекомендуется повторить измерение в течение 6-24 часов. Диапазон значений выше от 2 нг/мл до 10 нг/мл - тяжелый синдром системной воспалительной реакции, высокий риск сепсиса.

ПКТ свыше 10 нг/мл и выше - тяжелый бактериальный сепсис или септический шок.

Отрицательный. Выявление одной линии цвета, либо двух с интенсивностью окрашивания тестовой полосы менее 0,5 нг/мл (рис. 2б). Проявление тестовой линии интенсивностью окрашивания менее 0,5 нг/мл, что свидетельствует о локальном воспалительном заболевании. Во избежание ложных результатов при ранней стадии заболевания, тестирование повторить через 4-6 часов.

Недостовверный. Отсутствие контрольной полосы. (рис. 2в). Причиной может быть неправильное выполнение процедуры анализа или непригодность тестового устройства для анализа. Рекомендуется протестировать образец пациента повторно.



а) Положительный результат

б) Отрицательный результат

в) Недостовверный результат

Рис.2 Оценка результатов

Контроль качества

Данное изделие содержит внутренний контроль качества (розовая линия в контрольной области). Образцы для контроля качества должны быть протестированы в соответствии со стандартами контроля качества, установленными в вашей лаборатории.

7.4 Документирование и архивирование.

Для документации результатов теста (уровня концентрации ПКТ) ставится отметка в наклейку в историю болезни, напротив полоски соответствующего цвета, которая соответствует интенсивности окрашивания тестовой полосы (рис. 3).

Для архивирования результатов теста полностью заполненную наклейку вложить в историю болезни пациента (удалить с обратной стороны карты защитную пленку, чтобы освободить ее клейкую поверхность) .

Рис. 3 Наклейка в историю болезни. Документация результатов теста

8 Ограничения

Набор показывает присутствие ПКТ в образце, которое может варьироваться у пациентов в различных клинических ситуациях. Поэтому следует использовать результаты ПКТ в сочетании с другими лабораторными данными и клиническими признаками пациента, и интерпретировать конкретные значения в контексте клинической ситуации. Ложноотрицательные результаты могут быть получены под влиянием факторов, которые не могут быть проконтролированы производителем, таких как технические или процедурные ошибки, связанные с выполнением анализа

9. Интерференция и перекрестные реакции

Возможные интерференции были определены путем тестирования образцов, в которых содержалось повышенная концентрация предполагаемого материала, который может присутствовать в сыворотке пациента. Повышенное содержание общего холестерина и гемоглобина до критического (12 ммоль/л и 150 г/л соответственно) не оказывают влияние на тестировании образцов. Повышенный билирубин в концентрации выше 150 мкмоль/л затрудняет считывание результатов и является ограничением метода. Повышенный уровень глюкозы в сыворотке не влияет на процедуру тестирования. Повышенное содержание в сыворотке антител ревматоидного фактора не влияет на процедуру тестирования. Вирусные и грибковые инфекции не оказывают существенного влияния на процедуру тестирования. Активаторы свертывания крови не оказывают влияния на процедуру тестирования.

Повышенный уровень ПКТ может появляться у следующих групп пациентов по причинам, отличным от инфекции, и требует консультации специалиста [1-3] среди них:

- новорожденные до 48 часов жизни (физиологическое повышение);
- первые дни после тяжелой травмы, серьезного хирургического вмешательства, тяжелых ожогов, лечения с применением антител к ОКТЗ и других препаратов, стимулирующих продукцию провоспалительных цитокинов;
- пациенты с острыми приступами молниеносной трехдневной плазмодийной малярии;
- пациенты с длительным или тяжелым кардиогенным шоком, длительными тяжелыми аномалиями кровотока в органах;
- пациенты с медуллярным С-клеточным раком щитовидной железы.

Таблица 1 - Ошибки при проведении анализа и способы их исключения

Описание ошибки	Причина	Методы устранения
Нет ни одной полосы	1. Недостаточное внесение материала 2. Внесение большого избытка материала 3. Неправильное хранение теста; нарушения условий хранения, долгое хранение во вскрытом состоянии	1. Взять следующую пробу не менее 0,15 мл (100-150 мкл) и внести в новый тест. 2. Взять следующую пробу не более 0,15 мл (100- 150 мкл) и внести в новый тест. 3. Взять новый тест

9 Условия хранения и применения Набора

Набор должен храниться в течение всего срока годности в упаковке производителя, в закрытых помещениях в сухом прохладном месте при температуре от плюс 4°C до плюс 25°C и влажности не более 60 %. Не допускаются резкие колебания относительной влажности воздуха и температуры в помещении.

Изделия, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат.

Складирование Набора допускается в транспортной упаковке и производится в штабелях на поддонах или на стеллажах. Допускается складирование в 3-4 яруса.

Транспортировать изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, в упаковке производителя при температуре от плюс 4°C до плюс 25°C, влажности не более 60 %, без замораживания. Изделия, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

Срок годности Набора: 12 месяцев.

Один Набор предназначен для проведения десяти определений ПКТ.

Все реагенты, входящие в состав Набора готовы к использованию и не требуют специальной предварительной подготовки.

Все компоненты одноразовые, не подлежат повторному применению. Рекомендуется использовать одноразовые индивидуальные наконечники для дозаторов.

После вскрытия упаковки Набор должен быть использован в течение 15 мин и в это время храниться в сухом месте при комнатной температуре (от плюс 20°C до плюс 25°C). В случае порчи индивидуальной упаковки не используйте Набор, так как повреждение упаковки может оказать влияние на рабочие характеристики продукта.

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

Условия отпуска

Для учреждений здравоохранения.

Гарантии производителя

Набор реагентов «ПрокальцитонинТест» соответствует Национальным стандартам РФ и нормативным документам в части требований безопасности и эффективности (см. Сведения о нормативной документации).

По вопросам, касающимся качества Набора «ПрокальцитонинТест» следует обращаться в Общество с ограниченной ответственностью Научно-производственное объединение «БиоТест» (ООО НПО «БиоТест») по адресу: 630090, г. Новосибирск, ул. Кутателадзе, 4а оф 101, тел./факс +7 (383) 363-36-18, info@biotst.ru

Литература

1. Dubos F., Korczowski B., Aygun D, Martinot A, Prat C, Galetto-Lacour A, Casado-Flores, Leclerc F, Rodrigo C, Gervais A, Breart G, Gendrel D, Chalumeau M. Serum procalcitonin and other biologic markers to distinguish between bacterial and aseptic meningitis in children: a European multicenter case cohort study. Arch Pediatr Adolesc Med. 2008; 162:1157-63.
2. Brunkhorst FM et al., Procalcitonin for early diagnosis and differentiation of SIRS, sepsis, severe sepsis, and septic shock, Intensive Care Med 2000, 26(Suppl 2): S148-152
3. Born W., Berlinger C., Fisher J.A. Diagnostic relevance of the amino-terminal cleavage peptide of procalcitonin (PAS-57), calcitonin and calcitonin gene-related peptide in medullary thyroid carcinoma patients. // Regul. Pept. 32: 311-319.

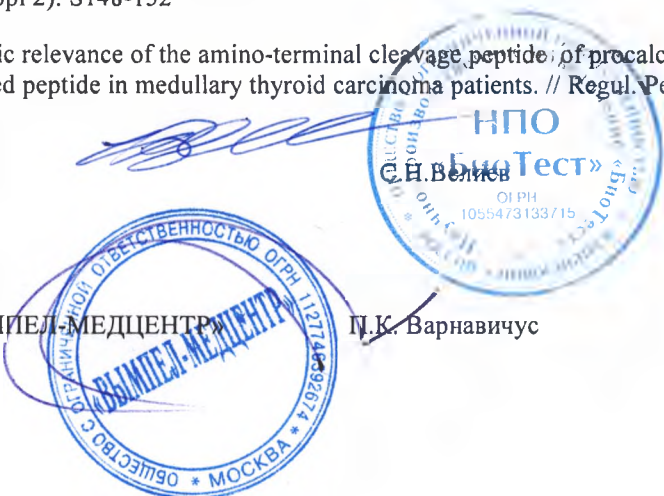
Директор ООО НПО «БиоТест»

СОГЛАСОВАННО

Генеральный директор ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

«__» _____ 2017 г.

П.К. Варнавичус



Символы маркировки на потребительской упаковке

Символы						
Описание	Дата изготовления	Годен до	Беречь от влаги	Обратиться к инструкции	Не использовать при повреждении упаковки	Не использовать повторно
Символы						
Описание	Только для ин витро диагностики	Количество тестов в Наборе	Хранить при влажности не более 60%	Температурный интервал хранения		

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 7 ЛИСТОВ

« _____ 201_ год

Ген. Директор
ООО «ВАИМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичус П.К.

