



## ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНИЮ НАБОРОВ АНАЛИЗА АКТИВНОСТИ ЭНДОТОКИНА (ААЭ)

Для выполнения ААЭ требуется следующее лабораторное оборудование:

Хемилюминометр, такой как Berthold Smartline TL

Инкубационная камера на мешалке

Комбинированная пипетка с возможностью отбора объема 40 и 1000 микролитров.

Пипетка с возможностью отбора объема 500 микролитров

Таймер

Вихревая мешалка

Система ААЭ поставляется в виде набора. В каждом наборе для анализа активности эндотоксина содержится 20 ААЭ тестов, упакованных в 4 лотка, вложенных в пакет из фольги, два флакона с реагентами для анализа активности эндотоксина. В каждом наборе ААЭ содержится индивидуально упакованный тест контроля качества.

Весь набор ААЭ следует хранить при температуре 2-8 градусов Цельсия. В качестве альтернативы, если место для хранения в холодильнике вашего учреждения ограничено, можно хранить в нем только два флакона с реагентами ААЭ, поскольку невскрытые пакеты из фольги можно хранить при комнатной температуре.

Весь набор ААЭ следует хранить при температуре 2-8 градусов Цельсия. В качестве альтернативы, если место для хранения в холодильнике вашего учреждения ограничено, можно хранить в нем только два флакона с реагентами ААЭ, поскольку невскрытые пакеты из фольги можно хранить при комнатной температуре.

### Порядок выполнения анализа

Анализ активности эндотоксина выполняется с дублированием – в каждом лотке ААЭ содержится 5 пар тестов. Каждый ААЭ тест состоит из пробирки 1 (контроль), пробирки 2 (образец) и пробирки 3 (максимум) – по два экземпляра каждой пробирки, плюс одна аликвотная пробирка для хранения крови и 1 пробирка LPS Max, содержащая экзогенный эндотоксин.

Образцы крови пациентов должны собираться в стерильные пробирки для сбора крови, содержащие антикоагулянт ЭДТА, и перед использованием должны храниться при комнатной температуре.

Перед началом анализа активности эндотоксина проверьте срок годности продукта и убедитесь, что хемолюминометр Berthold SmartLine включен, а инкубатор с мешалкой прогрет до 37°C.

1. Установите пробирки ААЭ для каждого образца пациента в штатив для пробирок и снимите крышки.
2. При помощи комбинированной пипетки внесите 1 миллилитр реагента ААЭ в пробирки 1, 2 и 3, и в их дубликаты.
3. Осторожно перемешайте образец крови пациента, плавно покачивая пробирку, внесите 0,5- миллилитровые аликвоты непосредственно в аликвотную пробирку и в пробирку LPS MAX. Перемешайте содержимое пробирки LPS MAX на вихревой мешалке.

4. Поместите штатив в инкубационную камеру с мешалкой, закройте крышку и инкубируйте в течение 10 минут.
5. После 10-минутной инкубации извлеките штатив, перемешайте содержимое аликвотной пробирки на вихревой мешалке и, используя стерильный наконечник комбинированной пипетки, внесите 40 микролитров крови в пробирки 1 и 2, и в их дубликаты.
6. Перемешайте содержимое пробирки LPS MAX на вихревой мешалке, затем, используя тот же наконечник комбинированной пипетки, внесите 40 микролитров крови в пробирку 3 и в ее дубликат.
7. Перемешайте на вихревой мешалке пробирки 1, 2 и 3, и поместите их обратно в штатив, затем поставьте штатив в инкубационную камеру с мешалкой, закройте крышку, запустите мешалку (100 об/мин) и таймер (14 минут).
8. Вставьте маркированную чип-карту ААЭ в хемолюминометр и нажмите Пуск.
9. После 14-минутной инкубации выполните инструкции, отображаемые на экране хемолюминометра для того, чтобы получить данные для пробирок ААЭ в надлежащем порядке.
10. Осторожно перемешайте на вихревой мешалке каждую пробирку, откройте отсек для образца и поместите пробирку 1 в держатель для образца, закройте отсек для образца, подождите до считывания показаний в единицах RLU. Повторите действия для пробирки 2, затем для пробирки 3.
11. Повторите этот процесс для дублирующего анализа.
12. После считывания показаний со всех пробирок результаты ААЭ рассчитываются и распечатываются автоматически.

Для выполнения оставшихся анализов поместите лоток обратно в пакет из фольги, закройте его и храните при температуре 2-8 градусов Цельсия до 30 суток.

### **Интерпретация результатов**

Анализ активности эндотоксина позволяет измерять эндотоксин в крови пациента. Анализ утвержден FDA США и контролирующими органами ЕС для оценки риска возникновения тяжелого сепсиса, и утвержден ЕС для исключения грам-отрицательных инфекций.

Результаты анализа ААЭ отображаются в единицах ААЭ.

Менее 0,40 единиц ААЭ – низкий уровень активности эндотоксина представляет низкий риск развития тяжелого сепсиса и исключает возникновение грам-отрицательных инфекций.

0,40 – 0,59 единиц ААЭ – средний уровень активности эндотоксина представляет повышенный риск развития тяжелого сепсиса.

Значение, большее или равное 0,60 единиц ААЭ – высокий уровень активности эндотоксина представляет высокий риск развития тяжелого сепсиса.

Анализ активности эндотоксина предназначен для помощи в оценке риска развития тяжелого сепсиса у пациента в первые, критически важные часы, с последующей передачей пациента в отделение интенсивной терапии. Результаты анализа наиболее полезны, когда рассматриваются в контексте общего клинического состояния пациента.

У пациентов с высоким уровнем активности эндотоксина в первый день поступления в отделение интенсивной терапии, риск развития тяжелого сепсиса в последующие 24 часа в три раза выше, чем у пациентов с низкими значениями результатов анализа ААЭ.

### **Выводы**

Анализ активности эндотоксинов не предназначен для дифференциальной диагностики текущего состояния сепсиса. Для определения точного первичного диагноза и вторичных причин эндотоксикоза требуются дополнительные клинические и диагностические меры, и соответствующая терапия.

Использование хемолюминисцентного анализа цельной крови, в котором образцы крови каждого пациента используются в качестве контрольного образца для этого же пациента, является простым, чувствительным и более точным методом отображения истинного уровня эндотоксина в крови.

Предоставляя надежную, критичную во времени информацию, ААЭ позволяет врачам быстро определить уровень эндотоксикоза и помогает выявить пациентов с высоким риском развития тяжелого сепсиса. Поздние последствия сепсиса, в том числе функциональная недостаточность многих органов и смерть, могут быть предотвращены благодаря раннему вмешательству.

ААЭ является единственным количественным анализом, утвержденным FDA для измерения эндотоксина в кровотоке и является важным шагом вперед в измерении такого сложного анализируемого образца.