

ОКП 93 9817

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

ЗАО «ДИАКОН»



А. А. Шарышев А. А. Шарышев

2009 2009 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

**«Тест-системы для клинической лабораторной диагностики
злокачественных заболеваний in vitro»**

СОГЛАСОВАНО

Зав. клинико-диагностической
лабораторией ГКБ № 59



Л. Г. Сорокина Л. Г. Сорокина

2009 2009 г.

2009

СОДЕРЖАНИЕ

1. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ	3
2. ПСА тест (PSA Test (PSA-Check-1)).....	5
3. ПСА отрицательный контроль (PSA Negative Control).....	11
4. ПСА положительный контроль высокого уровня (PSA Strong Positive Control).....	13
5. ПСА положительный контроль среднего уровня (PSA Medium Positive Control).....	15

1. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ

НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-системы для клинической лабораторной диагностики злокачественных заболеваний *in vitro* предназначены для качественного определения антигенов в сыворотке, плазме или цельной крови человека, а также для контроля качества тестирования на специфические белки. Тест-системы предназначены только для профессионального использования в клинко-диагностической практике медицинских и научных учреждений. Компоненты тест-систем используются как одноразовые изделия.

ХАРАКТЕРИСТИКА

Иммунохроматографические тест-системы представляют собой наборы, содержащие тестовые кассеты и одноразовые пластмассовые пипетки и разбавитель во флаконе-капельнице. Компоненты этих тест-систем укомплектованы в количествах, необходимых для проведения 20 определений. Иммунохроматографические тест-системы являются высокоспецифичными качественными и полуколичественными тестами с принципом действия «сэндвич»-метод. Иммунохроматографическая кассета представляет собой пластмассовый корпус с нитроцеллюлозной мембраной и стартовой зоной (окном для нанесения образца). При внесении пробы в стартовую зону, находящиеся там специфические меченные коллоидным золотом антитела связываются с антигенами пробы, образуя окрашенный иммунный комплекс, связываемый в свою очередь со специфическими антителами в тестовой зоне мембраны и образующий окрашенную полосу розового цвета. Иммунохроматографическая мембрана кассеты содержит также контрольную зону (встроенный контроль качества), в которой происходит другая реакция «антиген-антитело». Появление контрольной полосы указывает на качество теста и должно происходить независимо от наличия в пробе искомого анализата. Результат теста считывается визуально или с помощью иммунохроматографического экспресс-анализатора.

Контрольные материалы для специфических белков в стеклянных флаконах представляют собой лиофилизированные человеческие сыворотки с известной концентрацией анализата.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ (см. для каждого теста).

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Тесты предназначены только для диагностики *in vitro* и профессионального применения.

При работе с пробами пользоваться защитной одеждой и одноразовыми перчатками.

Не принимать пищу, не пить и не курить в помещении, где выполняется работа с пробами.

При взятии и тестировании проб не прикасаться руками к слизистой оболочке глаз и носа.

При работе с реагентами, содержащими компоненты человеческой крови, следует рассматривать их как потенциально инфекционный материал и принимать соответствующие меры предосторожности.

Внимательно прочитать инструкцию перед проведением тестирования.

Не использовать тестовые кассеты и реагенты, если защитная упаковка повреждена.

Не использовать тестовые наборы с истекшим сроком хранения.

Соблюдать температуру хранения.

Соблюдать инструкцию по применению.

Не использовать повторно.

ОБЕЗВРЕЖИВАНИЕ ОТХОДОВ

Все пробы следует считать потенциально инфекционными. После завершения процедуры тестирования утилизировать пробы следует с осторожностью и только после стерилизации в автоклаве или обработки 0,5–1% раствором гипохлорита натрия не менее 1 часа.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Соответственно для каждого теста.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Соответственно инструкции для каждого теста.

РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Соответственно инструкции для каждого теста.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ РЕАГЕНТОВ

1. Хранить при указанной на упаковке температуре в герметичной фабричной упаковке.

2. Не замораживать!

3. Наборы стабильны до истечения срока хранения, указанного на этикетке.

Стабильность не менее 1 года от даты производства при соблюдении условий хранения.

ИЗГОТОВИТЕЛЬ

ВЕДАЛАБ (VEDALAB), Франция

2. ПСА тест (PSA Test (PSA-Check-1)).

Введение

Специфический антиген простаты (ПСА) представляет собой внутриклеточный гликопротеин с молекулярным весом около 34 кДа, который синтезируется только предстательной железой и выделяется в семенную жидкость. ПСА присутствует в ткани простаты как в норме, так и при доброкачественной гиперплазии и злокачественных опухолях, он также находится в секрете простаты и семенной жидкости. При раке простаты уровень ПСА в сыворотке повышается ввиду повышенной секреции этого антигена и его повышенного выброса в кровяное русло.

Предназначение и принцип метода

Качественный иммунохроматографический экспресс-тест для определения человеческого ПСА (в свободной или связанной с α -1-антихимотрипсином форме) в сыворотке, плазме или цельной крови. Метод определения основан на использовании специфического комплекса конъюгированных с красителем мышиных моноклональных антител к ПСА и иммобилизованных в тестовой зоне кассеты других мышиных моноклональных антител к ПСА для его избирательного определения в тестируемых пробах с высокой степенью чувствительности. При прохождении пробы через слой адсорбента конъюгат антител с красителем связывается с присутствующим в пробе ПСА, образуя комплекс антиген-антитело. Этот комплекс связывается с иммобилизованными в реакционной зоне тестовой кассеты моноклональными антителами, образуя пурпурно-розовую полосу, если концентрация ПСА в пробе выше 4 нг/мл. Если же концентрация ПСА не достигает этого уровня, полосы в тестовой зоне не образуется. Несвязанный материал, продолжая продвигаться по слою адсорбента, достигает контрольной зоны (С), где осаждается с образованием контрольной полосы, свидетельствующей о реакционной способности всех компонентов теста. Результаты теста считываются визуально.

Состав

Тестовые кассеты	20
Одноразовые пластмассовые пипетки	20
Разбавитель во флаконе-капельнице, 5 мл	1
<i>содержит солевой буфер с детергентом и азидом натрия ($\text{NaN}_3 < 0,1\%$)</i>	
Инструкция	1

Стабильность и хранение

1. Хранить при температуре от 4 до 30°C в герметично закупоренной фабричной упаковке.
2. Не замораживать!

3. Тест стабилен до истечения срока хранения, указанного на этикетке.

Меры предосторожности

Данный тест предназначен только для диагностики *in vitro* и профессионального применения.

При работе с пробами пользоваться защитной одеждой и одноразовыми перчатками.

Не принимать пищу, не пить и не курить в помещении, где выполняется работа с пробами.

При взятии и тестировании проб не прикасаться руками к слизистой оболочке глаз и носа.

Внимательно прочитать инструкцию перед проведением теста.

Не использовать тестовую кассету, если её защитная упаковка повреждена.

Не использовать тестовую кассету с истекшим сроком хранения.

Образцы цельной крови должны тестироваться немедленно после взятия.

Обезвреживание отходов

Все пробы следует считать потенциально инфекционными. После завершения процедуры тестирования утилизировать пробы следует с осторожностью и только после стерилизации в автоклаве или обработки 0,5 – 1% раствором гипохлорита натрия не менее 1 часа.

Подготовка реагента

Все реагенты готовы к использованию.

Исследуемые образцы

Сыворотка, плазма (гепаринат лития или аммония, ЭДТА) или цельная кровь.

Взятие и подготовка проб

1. Взятие крови осуществляется с помощью стандартной лабораторной процедуры (асептическим способом, исключая гемолиз). Все пробы следует считать потенциально инфекционными.

2. Образцы цельной крови должны тестироваться в течение 4 часов после взятия.

3. Если тестирование образцов сыворотки предполагается провести в течение 48 часов после взятия крови, образец следует хранить в холодильнике при 2–8°C. Если же тест будет выполняться позже, пробу сыворотки или плазмы необходимо заморозить. Замороженные пробы перед тестированием следует оттаять, тщательно перемешать и довести до комнатной температуры. Повторное замораживание проб не допускается.

В случае мутности, высокой вязкости или наличия в пробе сыворотки нерастворимых частиц необходимо перед тестированием развести пробу равным объёмом буфера для разведения (не входит в комплект набора, но может поставляться по заказу).

Процедура тестирования

1. Довести все пробы, тестовые кассеты и разбавитель до комнатной температуры.
2. Извлечь тестовую кассету из защитной упаковки, оторвав край упаковки по надрезу.
3. Пометить тестовую кассету фамилией или кодовым номером пациента.
4. Набрать пробу (сыворотки или плазмы) в пипетку-капельницу и, держа её вертикально, внести 1 полную каплю сыворотки (25 мкл без воздушных пузырьков) в лунку для проб тестовой кассеты. В случае тестирования цельной крови внести в лунку для проб 2 капли (50 мкл) крови.
5. Внести в лунку для проб 5-6 полных капель разбавителя (200 мкл).
6. Считать качественный результат теста визуально через 10 минут после внесения пробы.

НЕ ИНТЕРПРЕТИРОВАТЬ РЕЗУЛЬТАТ ТЕСТА ПОСЛЕ 15 МИНУТ ВЫДЕРЖКИ.

Интерпретация результатов

Отрицательный: Появляется только одна цветная полоса в контрольной зоне (C).

Положительный: Кроме цветной полосы в контрольной зоне, появляется также вторая чётко различимая полоса в тестовой зоне.

Неопределённый: Если в контрольной зоне не появилось чёткой цветной полосы, тест считается не прошедшим контроль качества. В этом случае рекомендуется повторить его, взяв новую тестовую кассету.

Характеристики теста

а) Точность:

Исследование проводилось на 190 образцах (цельной крови – табл. 1 и сыворотки – табл. 2), предварительно протестированных при помощи ИФА-метода.

ИФА		Экспресс-тест (% совпадения)	
		Время определения	
нг/мл	Число проб	5 мин	10 мин
0 – < 2	24	100	100
2 – < 3	29	96,6	82,8
3 – < 4	21	95,2	66,7
4 – < 5	24	41,7	70,8
5 – < 6	21	38,1	88,7
6 – < 8	27	61,5	96,3
8 – < 10	19	73,7	100

> 10	25	92,0	100
------	----	------	-----

Таблица 1. Сравнение результатов тестов VEDALAB и ИФА при тестировании цельной крови.

ИФА		Экспресс-тест (% совпадения)	
		Время определения	
нг/мл	Число проб	5 мин	10 мин
0 – < 2	24	100	100
2 – < 3	29	100	82,8
3 – < 4	21	95,2	57,1
4 – < 5	24	4,2	79,2
5 – < 6	21	4,8	90,5
6 – < 8	27	33,3	88,9
8 – < 10	19	57,9	94,7
> 10	25	76,0	100

Таблица 1. Сравнение результатов тестов VEDALAB и ИФА при тестировании сыворотки.

б) Влияния:

К отрицательным пробам человеческой сыворотки добавлялись потенциально влияющие на результат вещества. При тестировании всех проб, содержащих эти вещества в приведённых ниже концентрациях, ложных положительных реакций не наблюдалось:

Калликреин 1 мкг/мл

Кислая фосфатаза простаты 1 Ед/л

Ревматоидный фактор 36 Ед/мл

в) Воспроизводимость:

Внутрисерийная

Внутрисерийная воспроизводимость определялась для 3 проб (0, 5 и 10 нг/мл ПСА), разделённых на 10 дублей каждая. Отрицательные и положительные результаты тестов совпадали в 100% случаев.

Межсерийная

Межсерийная воспроизводимость определялась для тех же 3 проб (0, 5 и 10 нг/мл ПСА), разделённых на 10 независимых дублей каждая, для тестирования использовались 3 разных партии тестов на протяжении 6 месяцев. Отрицательные и положительные результаты тестов также совпадали в 100% случаев.

г) Чувствительность:

Тест способен обнаружить ПСА при его концентрации в пробе выше 4 нг/мл (по

сертифицированному эталонному препарату INTERNATIONAL PSA, CRM 613 № 1004, Community Bureau of Reference – Belgium 1998). Тем не менее, в некоторых случаях, особенно при концентрациях, близких к пороговой (4,0 нг/мл), возможны ложные положительные и отрицательные результаты (см. Таблицу 1). В сыворотке здоровых мужчин специфический антиген простаты данным тестом, как правило, не определяется.

д) Эффект прозоны:

При тестировании проб с крайне высокими уровнями ПСА (до 10 мкг/мл) были получены устойчивые положительные результаты (эффекта прозоны не наблюдалось).

Ограничения метода

1. Как и для всех диагностических процедур, врачу следует принимать во внимание результат теста только в свете всей прочей диагностической информации.
2. Некоторые пробы сыворотки с высокими концентрациями ревматоидного фактора могут дать неспецифический ложный положительный результат. При тестировании следует учесть возможность подобной реакции заранее.
3. При разработке теста преследовалась цель исключения возможного влияния человеческих антител к мышиным IgG (НАМА). Тем не менее, при высоких уровнях НАМА возможны ложные положительные результаты.
4. При обследовании 130 пациентов в возрасте от 53 до 95 лет (3) диагноз рака простаты был подтвержден для 56 пациентов с уровнем ПСА в сыворотке от 1,5 до 1515 нг/мл. Доброкачественная гиперплазия простаты была диагностирована у 74 пациентов с уровнем ПСА от 0,1 до 34 нг/мл. В свете этих результатов, каждой лаборатории рекомендуется установить пределы клинической нормы для обследуемых пациентов на основании собственного опыта.

Литература

1. Bagshawe, K.D. 1993. Tumor markers. Br J. Cancer 48 : 167-175.
2. Berg, W., Linder, Ch., Eschholz, G., Link, St. , Schubert, J. 1999. Possibility of Improving the Acceptance Rate of Early Detection Testing for Prostate Cancer with a One-Step Test for Prostate-Specific Antigen in Whole Blood. Urol. Int. 63 : 102– 106.
3. Irani, J. Millet, C., Levillain, P., Doré, B., Begon, F., Aubert, J. 1997. Serum-to-urinary prostate specific antigen ratio : its impact in distinguishing prostate cancer when serum prostate specific antigen level is 4 to 10 ng/ml. J. of Urology. 157 : 185-188.
4. Kuriyama, M, MC Wang, CL Lee, LD Papsidero, C.S. Killian, H. Inaji, N.H. Slack, T. Nishiura, GP. Murphy and T.M. Chu. 1981. Use of human prostate specific antigen in monitoring cancer. Cancer res. 41: 3874-3876.
5. Liedtke R.L. and JD Batjer. 1984. Measurement of prostate specific antigen by

radioimmunoassay. Clin. Chem. 30 : 649-652.

6. Papsidero, LD, G.A. Crighan, M.C. Wang, M. Kuriyama, E.A. Johnson, L.A. Valenzuela and T.M. Chu. 1983. Monoclonal antibody to human prostate antigen. Hybridoma 2 : 139-147.

7 Wang, M.C., M. Kuriyama, L.D. Papsidero, R.M. Loo, L.A. Valenzuela, G.P. Murphy and T.M. Chu. 1982. Prostate antigen of human cancer patients, P. 179-197. In H. Busch and L.C. Yeoman (ed). Methods in cancer research. Academic Press Inc, New York.

8. Piironen T., Pettersson K., Suonpää M., Stenman U.-H., Oesterling J. E., Lövgren T. and Lilja H. 1996. In vitro stability of free Prostate-Specific Antigen (PSA) and Prostate-Specific Antigen (PSA) complexed to $\alpha 1$ -antichymotrypsin in blood samples. Urology 48 (6A) : 81-87.

3. ПСА отрицательный контроль (PSA Negative Control).

Описание и предназначение

Лиофилизированная контрольная сыворотка в стеклянных флаконах. Содержит разбавленные человеческие сыворотки, которые были проверены и показали отрицательный результат на антитела к ВИЧ, к вирусу гепатита С и на антиген HBs. (Содержат 0,05% азида натрия). Контроли предназначены для использования с количественным тестом на ПСА для иммунохроматографического экспресс-анализатора «Easy Reader» (VEDALAB).

Реагент предназначен для диагностических исследований *in vitro* и только для профессионального использования.

Состав

Отрицательный контроль на ПСА 1 флакон
Инструкция по применению 1 штука

Стабильность и хранение

1. Хранить **невскрытые** флаконы при температуре от +4°C до +30°C.
2. Не использовать после окончания срока хранения, указанного на этикетке.

Процедура тестирования

1. Растворить содержимое каждого флакона в 0,25 мл дистиллированной или деминерализованной воды.
2. Выдержать в течение 15 минут.
3. Добавить требуемый объем (25 мкл) в лунку для образца на тестовой кассете и продолжить работу как с образцом пациента, как описано в инструкции для количественного экспресс-теста на ПСА (VEDALAB).
4. Флакон с растворенным контролем следует хранить при температуре +2-8°C. Контроль следует использовать в течение 7 дней после разведения.

Интерпретация результатов

Результаты теста следует считывать с помощью экспресс-анализатора «Easy Reader» (VEDALAB) согласно инструкции к прибору.

Диапазоны концентраций указаны ниже:

- | | |
|--|--------------|
| - отрицательный контроль | <1 нг/мл |
| - положительный контроль среднего уровня | 9,5-16 нг/мл |
| - положительный контроль высокого уровня | 29-49 нг/мл |

Ограничения метода

Положительный и отрицательный контроли предназначены для дополнительных лабораторных методик контроля качества и не предназначены для выполнения

4. ПСА положительный контроль высокого уровня (PSA Strong Positive Control).

Описание и предназначение

Лиофилизированная контрольная сыворотка в стеклянных флаконах. Содержит разбавленные человеческие сыворотки, которые были проверены и показали отрицательный результат на антитела к ВИЧ, к вирусу гепатита С и на антиген HBs. (Содержат 0,05% азида натрия). Контроли предназначены для использования с количественным тестом на ПСА для иммунохроматографического экспресс-анализатора «Easy Reader» (VEDALAB).

Реагент предназначен для диагностических исследований *in vitro* и только для профессионального использования.

Состав

Положительный контроль высокого уровня на ПСА 1 флакон

Инструкция по применению 1 штука

Стабильность и хранение

1. Хранить **невскрытые** флаконы при температуре от +4°C до +30°C.
2. Не использовать после окончания срока хранения, указанного на этикетке.

Процедура тестирования

1. Растворить содержимое каждого флакона в 0,25 мл дистиллированной или деминерализованной воды.
2. Выдержать в течение 15 минут.
3. Добавить требуемый объем (25 мкл) в лунку для образца на тестовой кассете и продолжить работу как с образцом пациента, как описано в инструкции для количественного экспресс-теста на ПСА (VEDALAB).
4. Флакон с растворенным контролем следует хранить при температуре +2-8°C. Контроль следует использовать в течение 7 дней после разведения.

Интерпретация результатов

Результаты теста следует считывать с помощью экспресс-анализатора «Easy Reader» (VEDALAB) согласно инструкции к прибору.

Диапазоны концентраций указаны ниже:

- | | |
|--|--------------|
| - отрицательный контроль | <1 нг/мл |
| - положительный контроль среднего уровня | 9,5-16 нг/мл |
| - положительный контроль высокого уровня | 29-49 нг/мл |

Ограничения метода

Положительный и отрицательный контроли предназначены для дополнительных лабораторных методик контроля качества и не предназначены для выполнения

5. ПСА положительный контроль среднего уровня (PSA Medium Positive Control).

Описание и предназначение

Лиюфилизированная контрольная сыворотка в стеклянных флаконах. Содержит разбавленные человеческие сыворотки, которые были проверены и показали отрицательный результат на антитела к ВИЧ, к вирусу гепатита С и на антиген HBs. (Содержат 0,05% азида натрия). Контроли предназначены для использования с количественным тестом на ПСА для иммунохроматографического экспресс-анализатора «Easy Reader» (VEDALAB).

Реагент предназначен для диагностических исследований *in vitro* и только для профессионального использования.

Состав

Положительный контроль среднего уровня на ПСА 1 флакон

Инструкция по применению 1 штука

Стабильность и хранение

1. Хранить невскрытые флаконы при температуре от +4°C до +30°C.
2. Не использовать после окончания срока хранения, указанного на этикетке.

Процедура тестирования

1. Растворить содержимое каждого флакона в 0,25 мл дистиллированной или деминерализованной воды.
2. Выдержать в течение 15 минут.
3. Добавить требуемый объем (25 мкл) в лунку для образца на тестовой кассете и продолжить работу как с образцом пациента, как описано в инструкции для количественного экспресс-теста на ПСА (VEDALAB).
4. Флакон с растворенным контролем следует хранить при температуре +2-8°C. Контроль следует использовать в течение 7 дней после разведения.

Интерпретация результатов

Результаты теста следует считывать с помощью экспресс-анализатора «Easy Reader» (VEDALAB) согласно инструкции к прибору.

Диапазоны концентраций указаны ниже:

- | | |
|--|--------------|
| - отрицательный контроль | <1 нг/мл |
| - положительный контроль среднего уровня | 9,5-16 нг/мл |
| - положительный контроль высокого уровня | 29-49 нг/мл |

Ограничения метода

Положительный и отрицательный контроли предназначены для дополнительных