

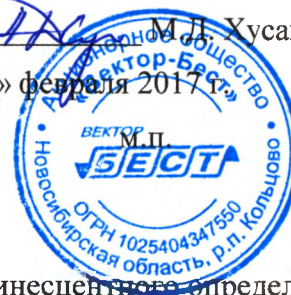
«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»

 М.Д. Хусайнов

«01» февраля 2017 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для иммунохемилюминесцентного определения концентрации общего простат-специфического антигена в сыворотке крови
(ПСА общий-ЛЮМО-БЕСТ)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для иммунохемилюминесцентного определения концентрации общего простат-специфического антигена в сыворотке крови «ПСА общий-ЛЮМО-БЕСТ» (далее по тексту – набор) предназначен для определения концентрации общего (как связанного, так и не связанного с белками) простат-специфического антигена (ПСА_{общ}) в сыворотке крови человека методом твердофазного иммунохемилюминесцентного анализа.

1.2. ПСА представляет собой гликопротеин с молекулярной массой около 32 000 Да, обладающий энзиматической активностью. Продукция ПСА и его секреция в семенную жидкость осуществляется предстательной железой. ПСА существует в виде свободной фракции, а также образует стабильные комплексы с различными ингибиторами протеаз; при этом основная часть ПСА в сыворотке крови представлена в виде комплекса с α_1 -антихимотрипсином.

1.3. Количественное определение содержания ПСА_{общ} в сыворотке крови может быть использовано для диагностики заболеваний простаты, для мониторинга терапии и прогноза развития опухоли простаты.

1.4. Набор рассчитан на проведение анализа в дублях 41 неизвестного образца, 6 калибровочных образцов и 1 контрольного образца, всего 96 определений при использовании всех стрипов планшета.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Метод определения основан на одностадийном «сэндвич»-варианте твердофазного иммунохемилюминесцентного анализа (ИХЛА) с использованием моноклональных антител к антигену ПСА_{общ}.

В лунках планшета, при добавлении исследуемого образца и конъюгата, во время инкубации происходит связывание сывороточного антигена ПСА_{общ} с моноклональными антителами к антигену ПСА_{общ}, иммобилизованными на внутренней поверхности лунок и моноклональными антителами к ПСА_{общ}, конъюгированными с пероксидазой.

Во время инкубации с раствором люминола происходит эмиссия фотонов в лунках. Интенсивность люминесценции пропорциональна концентрации ПСА_{общ} в анализируемых образцах. После измерения интенсивности люминесценции в лунках на основании калибровочного графика рассчитывается концентрация ПСА_{общ} в анализируемых образцах.

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

- планшет разборный (12 восьмилуночных стрипов) с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок моноклональными антителами к ПСА_{общ}, готовый для использования – 1 шт.;
- калибровочные образцы, содержащие известные количества ПСА_{общ} – 0; 0,1; 1,0; 5,0; 40; 120 нг/мл, аттестованные относительно WHO International Standard Prostate Specific Antigen NIBSC: 96/670; концентрации ПСА_{общ} в калибровочных образцах могут несколько отличаться от указанных величин, точные величины указаны на этикетках флаконов; готовые для использования – 6 флаконов (по 0,5 мл);
- контрольный образец на основе инактивированной сыворотки крови человека с известным содержанием ПСА_{общ}, аттестованный относительно WHO International Standard Prostate Specific Antigen NIBSC: 96/670; готовый для использования – 1 флакон (0,5 мл);
- конъюгат моноклональных антител к ПСА_{общ} с пероксидазой хрена, готовый для использования – 1 флакон (23 мл);
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 1 флакон (28 мл);
- хемилюминесцентный субстрат ЛЮМ-А – 1 флакон (7,0 мл);
- хемилюминесцентный субстрат ЛЮМ-Б – 1 флакон (0,7 мл).

Принадлежности:

- плёнка для заклеивания планшета – 1 шт.;
- ванночка для реагента – 2 шт.;
- наконечники для дозатора на 2-200 мкл – 16 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Используемые в наборе моноклональные антитела эквимольно взаимодействуют с ПСА в составе стабильных комплексов и свободной фракции ПСА.

3.2. Хук-эффект высоких концентраций при исследовании сывороток крови не был обнаружен вплоть до концентрации $\text{ПСА}_{\text{общ}}$ 2200 нг/мл.

3.3. Использование в наборе реагентов специфических блокирующих агентов исключает возможность получения ложноположительных результатов в сыворотках крови, содержащих гетерофильные, в том числе антимышинные (НАМА), антитела.

3.4.* Воспроизводимость. Коэффициент вариации результатов определения концентрации $\text{ПСА}_{\text{общ}}$ в лунках, содержащих контрольный образец, не превышает 8%.

3.5.* Линейность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «линейность» – отклонение от расчётной величины концентрации $\text{ПСА}_{\text{общ}}$ при разведении калибровочных образцов, содержащих 120; 40; 5,0 нг/мл $\text{ПСА}_{\text{общ}}$, в 2 раза и калибровочного образца, содержащего 1,0 нг/мл $\text{ПСА}_{\text{общ}}$, в 10 раз. Процент «линейности» составляет 90-110%.

3.6.* Точность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации $\text{ПСА}_{\text{общ}}$ предписанной в пробе, полученной путём смешивания равных объёмов контрольного образца и калибровочного образца 1,0 нг/мл. Процент «открытия» составляет 90-110%.

3.7.* Чувствительность. Минимально определяемая концентрация $\text{ПСА}_{\text{общ}}$, рассчитанная на основании среднего арифметического значения интенсивности люминесценции калибровочного образца I_0 , плюс 2σ (σ - среднее квадратичное отклонение от среднего арифметического значения I_0), не превышает 0,05 нг/мл.

3.8. Клиническая проверка. Концентрация $\text{ПСА}_{\text{общ}}$, измеренная в сыворотке крови, взятой с 9 до 11 ч, у 107 здоровых мужчин в возрасте 20-50 лет, не превышала 4,0 нг/мл.

3.9. Рекомендуются в каждой лаборатории при использовании набора уточнить значения концентрации $\text{ПСА}_{\text{общ}}$, соответствующие нормальным, у обследуемого контингента людей.

* по ГОСТ Р 51352-2013.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2Б (приказ МЗ РФ от 06.06.12 № 4н).

4.2. Все компоненты набора являются нетоксичными.

4.3. При работе с исследуемыми образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом. Основные правила работы изложены в «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР 17 января 1991 г. и в методических указаниях МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерили-

зации изделий медицинского назначения», утв. департаментом госсанэпиднадзора Минздрава РФ от 30.12.1998.

4.4. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы сыворотки крови человека следует рассматривать как потенциально инфекционные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатита или возбудителей других инфекций.

4.5. Химическая посуда и оборудование, которые используются в работе с набором, должны быть соответствующим образом промаркированы и храниться отдельно.

4.6. Запрещается приём пищи, использование косметических средств и курение в помещениях, предназначенных для работы с наборами.

4.7. Для дезинфекции посуды и материалов, контактировавших с исследуемыми и контрольными образцами, рекомендуем использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество иммунохемилюминесцентного анализа (ИХЛА), не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС, спиртов, третичных аминов. Использование дезинфицирующих средств, содержащих активный кислород и хлор (H_2O_2 , деохлор, хлорамин), приводит к серьезному искажению результатов ИХЛА.

4.8. При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- Люминометр микропланшетный, позволяющий проводить измерения интенсивности люминесценции растворов в лунках планшета в диапазоне длин волн 390-460 нм;
- шейкер термостатируемый орбитального типа, позволяющий производить встряхивание при температуре 37 ± 1 °C и 400-800 об/мин;
- таймер;
- промывочное устройство для планшетов;
- холодильник бытовой;
- дозаторы полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объёмом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 5 до 5000 мкл;
- дозатор полуавтоматический многоканальный со сменными наконечниками, позволяющий отбирать объёмы жидкости от 5 до 350 мкл;

- флаконы стеклянные вместимостью 15 мл;
- цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые;
- бумага фильтровальная;
- дезинфицирующий раствор.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Для проведения анализа использовать сыворотку крови.

6.2. Для проведения анализа не следует использовать гемолизированную, мутную сыворотку крови, а также сыворотку крови, содержащую азид натрия.

6.3. Образцы сыворотки крови можно хранить при температуре от 2 до 8 °C не более 5 суток или при температуре минус 20 °C (и ниже) не более 3 месяцев.

Допускается однократное замораживание-размораживание образцов сыворотки крови.

После размораживания образцы следует тщательно перемешать.

6.4. Образцы сывороток крови, содержащие осадок, необходимо очистить центрифугированием при 1500 об/мин в течение 10 мин при температуре от 18 до 25 °C.

7. ПОДГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

7.1. Перед проведением анализа компоненты набора и исследуемые образцы сыворотки крови следует выдержать при температуре от 18 до 25 °C в течение времени не менее 30 мин.

7.2. Подготовка планшета.

Вскрыть пакет выше замка и установить на рамку необходимое для проведения анализа количество стрипов. Оставшиеся неиспользованными стрипы немедленно поместить вновь в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух, плотно закрыть замок.

Хранение: при температуре от 2 до 8 °C в течение всего срока годности набора.

7.3. Приготовление промывочного раствора.

Внести в мерный цилиндр необходимое количество концентрата фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) и добавить соответствующее количество дистиллированной воды.

При выпадении осадка солей в концентрате необходимо прогреть его при температуре от 30 до 40 °C до полного растворения осадка.

В таблице приведен расход реагента в зависимости от количества используемых стрипов.

Хранение: при температуре от 2 до 8 °C не более 5 суток.

7.4. Приготовление калибровочных и контрольного образцов.

Калибровочные и контрольный образцы готовы к использованию и не требуют дополнительных разведений. Перед использованием встряхнуть.

Хранение: после первого вскрытия в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора.

7.5. Подготовка конъюгата.

Конъюгат готов к использованию.

Необходимое количество конъюгата отобрать в чистый флакон или ванночку для реагента.

Оставшийся после проведения анализа конъюгат утилизировать (не сливать во флакон с исходным конъюгатом).

Хранение: после первого вскрытия в плотно закрытом флаконе при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора.

В таблице приведен расход реагента в зависимости от количества используемых стрипов.

Таблица

Количество используемых стрипов	Промывочный раствор		Конъюгат, мл	Рабочий раствор хемилюминесцентного субстрата	
	ФСБ-Т×25, концентрат, мл	Дистиллированная вода, мл		ЛЮМ-А, мл	ЛЮМ-Б, мл
2	4,0	до 100	3,6	1,0	0,10
3	6,0	до 150	5,5	1,5	0,15
4	8,0	до 200	7,0	2,0	0,20
5	10,0	до 350	9,0	2,5	0,25
6	12,0	до 300	11,0	3,0	0,30
7	14,0	до 350	12,0	3,5	0,35
8	16,0	до 400	14,0	4,0	0,40
9	18,0	до 450	16,0	4,5	0,45
10	20,0	до 500	18,0	5,0	0,50
11	22,0	до 550	20,0	5,5	0,55
12	24,0	до 600	22,0	6,0	0,60

7.6. Приготовление рабочего раствора хемилюминесцентного субстрата.

Смешивание компонентов происходит в чистом флаконе или в ванночке для реагента.

В соответствии с числом используемых стрипов отобрать в чистый флакон или в ванночку для реагента необходимое количество хемилюминесцентного субстрата ЛЮМ-А и добавить соответствующее количество хемилюминесцентного субстрата ЛЮМ-Б. Тщательно перемешать.

Хранение: в защищенном от света месте при температуре от 18 до 25 °С не более 6 часов.

В таблице приведен расход компонентов в зависимости от количества используемых стрипов.

8. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

8.1. Внести в дублях, начиная с верхних лунок первых двух стрипов, по 25 мкл каждого калибровочного образца и по 25 мкл контрольного образца. В остальные лунки внести в дублях по 25 мкл анализируемых образцов сыворотки крови.

Внесение образцов необходимо производить быстро, в течение времени не более 10 мин при использовании всех лунок планшета.

8.2. Внести во все лунки по 200 мкл конъюгата (см п. 7.5).

Для внесения конъюгата использовать ванночку для реагента и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

8.3. Планшет заклеить пленкой и инкубировать в течение 30 мин при встряхивании на шейкере при температуре 37 ± 1 °С и 650 об/мин.

8.4. По окончании инкубации снять пленку и удалить в сосуд с дезинфицирующим раствором. С помощью промывочного устройства промыть лунки планшета 5 раз промывочным раствором (см п. 7.3), чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок каждого стрипа. В каждую лунку вносить 350 мкл промывочного раствора в процессе промывки каждого стрипа. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого их заполнения. По окончании промывки удалить остатки жидкости из лунок, постукивая планшетом в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.

8.5. Внести во все лунки по 50 мкл приготовленного рабочего раствора хемилюминесцентного субстрата (см п. 7.6).

Для внесения раствора использовать ванночку для реагента и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

8.6. Встряхнуть планшет на шейкере в течение 10-20 сек, затем поместить планшет в люминометр и инкубировать в течение 5 мин.

8.7. Измерить интенсивность люминесценции растворов в лунках стрипов с помощью люминометра в диапазоне длин волн 390-460 нм. Измерение проводить не позднее чем через 6 мин после внесения рабочего раствора хемилюминесцентного субстрата.

9. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ

9.1. Вычислить средние арифметические значения интенсивности люминесценции для каждой пары лунок, содержащих калибровочные, контрольный и анализируемые образцы.

9.2. Построить в линейных координатах калибровочный график зависимости среднего арифметического значения интенсивности люминесценции от концентрации $PSA_{общ}$ в калибровочных образцах (нг/мл).

9.3. Определить концентрацию $PSA_{общ}$ в контрольном образце и анализируемых образцах по калибровочному графику.

9.4. Результаты анализа исследуемых образцов учитывать, если вычисленное по калибровочному графику значение концентрации $PSA_{общ}$ в контрольном образце соответствует указанному диапазону концентраций на этикетке флакона.

При динамическом наблюдении пациента для получения результатов, адекватно отражающих изменение концентрации $PSA_{общ}$ в сыворотке крови, необходимо использовать наборы реагентов одного наименования (одного предприятия-изготовителя).

10. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

10.1. Транспортировать изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, при температуре от 2 до 8 °С. Допускается транспортирование при температуре до 25 °С не более 10 суток.

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно осуществляться при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

10.3. Срок годности набора – 18 месяцев со дня выпуска. Не допускается применение наборов по истечении срока их годности.

10.4. Дробное использование набора может быть реализовано в течение всего срока годности. В случае дробного использования набора:

- неиспользованные стрипы хранить в плотно закрытом пакете при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности;

- калибровочные образцы, контрольный образец, конъюгат, хемилюминесцентный субстрат ЛЮМ-А и хемилюминесцентный субстрат ЛЮМ-Б, концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином после вскрытия хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности;

- промывочный раствор хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 5 суток;

- рабочий раствор хемилюминесцентного субстрата хранить в защищенном от света месте при температуре от 18 до 25 °С не более 6 часов.

10.5. Построение калибровочного графика необходимо проводить для каждого независимого эксперимента, а также рекомендуется определение концентрации ПСА_{общ} в контрольном образце.

10.6. При постановке ИХЛА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (ФСБ-Т×25), которые взаимозаменяемы во всех наборах АО «Вектор-Бест».

10.7. Для получения надёжных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

11. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

11.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

11.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

11.3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

По вопросам, касающимся качества набора «ПСА общий-ЛЮМО-БЕСТ», следует обращаться в АО «Вектор-Бест» по адресу:

630559, Новосибирская область, р.п. Кольцово, а/я 121,
тел. (383) 363-20-60, 227-75-43, тел./факс (383) 363-35-55.

E-mail: vbobtk@vector-best.ru

С. н. с. лаборатории НИИ СД
АО «Вектор-Бест»

Зав. лаборатории НИИ СД
АО «Вектор-Бест»

Директор НИИ СД
АО «Вектор-Бест»

«СОГЛАСОВАНО»

Ректор ФГБОУ ВО БГМУ
Минздрава России,
член-корреспондент РАН, профессор



М.П.

 А.С. Сальников

 Н.Н. Сорокина

 М.Ю. Рукавишников

 В.Н. Павлов

«01» февраля 2017 г.

Ректор ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России
член-корреспондент РАН, профессор

2017 1

