

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»

М.Д. Хусаинов

2021 г.



ИНСТРУКЦИЯ

**по применению набора реагентов для иммуноферментного определения концентрации
общего простат-специфического антигена в сыворотке крови
(ПСА общий-ИФА-БЕСТ)
(вариант 1)**

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов ПСАобщий-ИФА-БЕСТ (вариант 1) предназначен для определения концентрации общего (как связанного, так и не связанного с белками) простат-специфического антигена (ПСА_{общ}) в сыворотке крови человека методом твердофазного иммуноферментного 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 дубликатах 41 неизвестного образца, 6 калибровочных образцов и 1 контрольного образца, всего 96 определений при использовании всех стрипов планшета.

Инструкция составлена сотрудниками АО «Вектор-Бест»: директором НИИ СД М.Ю.

Владимирова, заместителем директора лаборатории НИИ СД Н.Н. Сорокиной.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Метод определения основан на одностадийном твердофазном иммуноферментном анализе с применением двух типов 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. После удаления избытка несвязавшегося конъюгата, во время инкубации с раствором тетраметилбензидина происходит окрашивание раствора в лунках. Степень окраски прямо пропорциональна концентрации ПСА_{общ} в анализируемых образцах. После измерения величины оптической плотности раствора 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 на основе сыворотки крови человека, аттестованные по I Международному стандарту ПСА человека 1st IS 96/670, содержащие известные количества ПСА_{общ} – 0; 1,5; 5; 10; 20; 40 нг/мл; 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 сыворотки крови человека с известным содержанием ПСА_{общ}, готовый для использования – 1 флакон (0,5 мл);
- конъюгат моноклональных антител к ПСА_{общ} с пероксидазой хрена, готовый для использования – 1 флакон (23 мл);
- раствор для разведения сывороток – 1 флакон (12 мл);
- 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином – 1 флакон (28 мл);
- раствор тетраметилбензидина плюс (раствор ТМБ плюс), готовый для использования – 1 флакон (13 мл);
- стоп-регент, готовый для использования – 1 флакон (12 мл).

Набор дополнительно комплектуется:

- плёнкой для заклеивания планшета – 1 шт.;

- трафаретом для построения калибровочного графика – 1 шт.;
- ванночкой для реагента – 2 шт.;
- наконечниками для пипетки на 4 – 200 мкл – 16 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Используемые в наборе моноклональные антитела эквимоллярно 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 ПСА 2 500 нг/мл.

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

3.4.* Воспроизводимость. Коэффициент вариации результатов определения концентрации ПСА_{общ} в лунках, содержащих контрольный образец не превышает 8%.

3.5.* Линейность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «линейность» - отклонение от расчётной величины концентрации ПСА_{общ} при разведении калибровочных образцов, содержащих 40; 20; 10 нг/мл ПСА_{общ}, в 2 раза, и калибровочного образца 5,0 нг/мл ПСА_{общ} в 3,3 раза. Процент «линейности» составляет 90-110%.

3.6.* Точность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации ПСА_{общ} предписанной в пробе, полученной путём смешивания равных объёмов контрольного образца и калибровочного образца 5,0 нг/мл. Процент «открытия» составляет 90-110%.

3.7.* Чувствительность. Минимально определяемая концентрация ПСА_{общ}, рассчитанная на основании среднего арифметического значения оптической плотности B_0 калибровочного образца 0 нг/мл, плюс 2σ (σ - среднее квадратичное отклонение от среднего арифметического значения B_0), не превышает 0,1 нг/мл.

3.8. Клиническая проверка. Концентрация ПСА_{общ}, измеренная в сыворотке крови, взятой с 9 до 11 ч, у 107 здоровых мужчин юго-восточного региона Западной Сибири в возрасте 20-50 лет, не превышала 4,0 нг/мл.

3.9. Рекомендуется в каждой лаборатории при использовании набора уточнить значения концентрации ПСА_{общ}, соответствующие нормальным, у обследуемого контингента людей.

* по ГОСТ Р 51352-99.

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. Стоп-реагент обладает

раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента на кожу и слизистые необходимо пораженный участок промыть большим количеством проточной воды.

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 клиничко-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 стерилизации изделий медицинского назначения».

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 ИФА, 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.

4.8. Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

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

- Спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках стрипов при длине волны 450 нм и/или в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620 нм - 650 нм;
- шейкер термостатируемый орбитального типа, позволяющий производить встряхивание при температуре 37 ± 1 °С и 400-800 об/мин;
- промывочное устройство для планшетов;
- холодильник бытовой;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объёмом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 5 до 5000 мкл;
- пипетка полуавтоматическая многоканальная со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объёмы жидкости от 5 до 350 мкл;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- колба вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые;
- бумага фильтровальная;
- дезинфицирующий раствор.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

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

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

Допускается однократное замораживание-размораживание образцов сыворотки крови.

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

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Перед проведением анализа компоненты набора и исследуемые образцы сыворотки крови следует выдержать при комнатной температуре 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 и хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора.

7.3. Приготовление промывочного раствора.

Внести в мерный цилиндр необходимое количество ФСБ-Т×25 и добавить соответствующее количество дистиллированной воды.

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

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

Приготовленный промывочный раствор можно хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 5 сут.

7.4. Приготовление калибровочных и контрольного образцов.

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

После первого вскрытия калибровочные и контрольный образцы можно хранить 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 ванночку для реагента.

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

Конъюгат после первого вскрытия флаконов хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности.

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

7.6. Подготовка раствора тетраметилбензидина плюс.

Раствор ТМБ плюс готов к использованию.

Необходимое количество раствора ТМБ плюс отобрать в ванночку для реагента.

Оставшийся после проведения ИФА раствор ТМБ плюс утилизировать (не сливать во флакон с исходным раствором ТМБ плюс).

Необходимо исключить воздействие света на раствор ТМБ плюс.

Раствор ТМБ плюс после первого вскрытия флаконов можно хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности.

В таблице приведен расход реагента в зависимости от количества используемых

стрипов.

7.7. Стоп-реагент готов к использованию. После первого вскрытия стоп-реагент можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора.

7.8. Внести в соответствующие лунки в дубликатах по 25 мкл каждой калибровочного образца и по 25 мкл контрольного образца. В остальные лунки внести в дубликатах по 25 мкл анализируемых образцов сыворотки крови.

Внесение образцов необходимо производить быстро, в течение времени не более 10 мин.

7.9. 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

7.10. Планшет заклеить пленкой и инкубировать в течение 60 мин при встряхивании на шейкере при температуре 37 ± 1 °С и 650 об/мин.

Таблица

Количество используемых стрипов	Промывочный раствор		Конъюгат, мл	Раствор ТМБ плюс, мл
	ФСБ-Т×25, концентрат, мл	Дистиллированная вода, мл		
2	4,0	до 100	3,6	2,0
3	6,0	до 150	5,5	3,0
4	8,0	до 200	7,0	4,0
5	10,0	до 350	9,0	5,0
6	12,0	до 300	11,0	6,0
7	14,0	до 350	12,0	7,0
8	16,0	до 400	14,0	8,0
9	18,0	до 450	16,0	9,0
10	20,0	до 500	18,0	10,0
11	22,0	до 550	20,0	11,0
12	24,0	до 600	22,0	12,0

7.11. По окончании инкубации снять липкую пленку и удалить в сосуд с дезинфицирующим раствором. Содержимое лунок удалить отсасыванием в сосуд с дезинфицирующим раствором и промыть, добавляя во все лунки по 350 мкл промывочного раствора (см п. 7.3). Процесс промывки повторить еще 4 раза. Общее количество отмывок

равно 5. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. Необходимо следить за полным опорожнением лунок после каждого цикла отмывки. Затем удалить остатки жидкости из лунок, постукивая планшетом в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.

7.12. Внести во все лунки по 100 мкл раствора тетраметилбензидина плюс (см п. 7.6) и инкубировать в защищенном от света месте в течение 15 мин при встряхивании на шейкере при температуре 37 ± 1 °C и 650 об/мин.

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

7.13. Внести во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор тетраметилбензидина плюс, по 100 мкл стоп-реагента. Встряхнуть планшет на шейкере в течение 10-15 сек, при этом содержимое лунок окрашивается в жёлтый цвет.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Измерить величину оптической плотности растворов в лунках стрипов на спектрофотометре вертикального сканирования в двухволновом режиме: при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620 нм - 650 нм; или при длине волны 450 нм (выведение спектрофотометра на нулевой уровень («бланк»)) осуществлять по воздуху).

Измерение проводить через 2-3 мин после остановки реакции.

Время между остановкой реакции и измерением оптической плотности не должно превышать 10 мин.

9. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ

9.1. Построить в линейных координатах калибровочный график зависимости оптической плотности (ед. опт. плотн.) от концентрации ПСА_{общ} в калибровочных образцах (нг/мл).

9.2. Определить содержание ПСА_{общ} в контрольном образце и анализируемых пробах по калибровочному графику. В случае предварительного разведения анализируемых образцов необходимо полученную концентрацию ПСА_{общ} умножить на фактор разведения.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Набор реагентов ПСАобщий-ИФА-БЕСТ (вариант 1) должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8 °C в течение всего срока годности (18 мес). Допускается хранение набора при температуре до 25 °C не более 10 сут.

Замораживание компонентов набора не допускается.

6.1. 10.2. 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 после вскрытия флаконов хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности;
- 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином, раствор для разведения сывороток, раствор ТМБ плюс и стоп-реагент после вскрытия флаконов 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;
- построение калибровочного графика необходимо проводить для каждого независимого эксперимента, а также рекомендуется определение концентрации ПСА_{общ} в контрольном образце.

10.3. Если концентрация ПСА_{общ} в анализируемых образцах сыворотки крови превышает 40 нг/мл, образец следует развести раствором для разведения сывороток в 20 раз (20 мкл исследуемого образца + 380 мкл раствора для разведения сывороток), повторить анализ и полученный результат умножить на 20.

10.5. При значениях концентрации ПСА_{общ} в диапазоне 4,0 – 30 нг/мл для уточнения диагноза рекомендуется определять величину доли свободной фракции ПСА (значение отношения концентрации свободной фракции ПСА к концентрации ПСА_{общ} в процентах).

10.6. При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (ФСБ-Т×25, стоп-реагент), 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-ИФА-БЕСТ (вариант 1),
следует обращаться в АО «Вектор-Бест» по адресу:
630559, Новосибирская область, Новосибирский район, п. Кольцово, а/я 121, АО «Вектор-
Бест», тел. тел. (383) 363-20-60, тел./факс (383) 363-35-55.

Нач. лаборатории НИИ СД
АО «Вектор-Бест»

Н.Н. Сорокина

Директор НИИ СД
АО «Вектор-Бест»

М.Ю. Рукавишников

Всего прошито, пронумеровано и
скреплено печатью 10 листов.
Директор по технологии и качеству
АО "Вектор-Бест"



М.И.А. Масяго А.В.

20 21 г.

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»

М.Д. Хусаинов

2021 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для иммуноферментного определения концентрации
общего простат-специфического антигена в сыворотке крови

(ПСА общий-ИФА-БЕСТ)

(вариант 2)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов ПСА общий-ИФА-БЕСТ (вариант 2) предназначен для определения концентрации общего (как связанного, так и не связанного с белками) простат-специфического антигена (ПСА_{общ}) в сыворотке крови человека методом твердофазного иммуноферментного 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 дубликатах 41 неизвестного образца, 6 калибровочных образцов и 1 контрольного образца, всего 96 определений при использовании всех стрипов планшета.

Инструкция составлена сотрудниками АО «Вектор-Бест»: директором НИИ СД М.Ю.

Владелец набора реагентов НИИ СД Н.Н. Сорокиной

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Метод определения основан на одностадийном твердофазном иммуноферментном анализе с применением двух типов 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. После удаления избытка несвязавшегося конъюгата, во время инкубации с раствором тетраметилбензидина происходит окрашивание раствора в лунках. Степень окраски прямо пропорциональна концентрации ПСА_{общ} в анализируемых образцах. После измерения величины оптической плотности раствора 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 на основе сыворотки крови человека, аттестованные по I Международному стандарту ПСА человека 1st IS 96/670, содержащие известные количества ПСА_{общ} – 0; 0,15; 0,5; 1; 2,5; 5 нг/мл; концентрации ПСА_{общ} в калибровочных образцах могут несколько отличаться от указанных величин, точные величины указаны на этикетках флаконов, готовые для использования – 6 флаконов (по 0,7 мл);
- контрольный образец на основе сыворотки крови человека с известным содержанием ПСА_{общ}, готовый для использования – 1 флакон (0,7 мл);
- конъюгат моноклональных антител к ПСА_{общ} с пероксидазой хрена, готовый для использования – 1 флакон (13 мл);
- 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином – 1 флакон (28 мл);
- раствор тетраметилбензидина плюс (раствор ТМБ плюс), готовый для использования – 1 флакон (13 мл);
- стоп-реагент, готовый для использования – 1 флакон (12 мл).

Набор дополнительно комплектуется:

- плёнкой для заклеивания планшета – 1 шт.;
- трафаретом для построения калибровочного графика – 1 шт.;

- ванночкой для реагента – 2 шт.;
- наконечниками для пипетки на 4 – 200 мкл – 16 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

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

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

3.3.* Воспроизводимость. Коэффициент вариации результатов определения концентрации ПСА_{общ} в лунках, содержащих контрольный образец не превышает 8%.

3.4.* Линейность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «линейность» - отклонение от расчётной величины концентрации ПСА_{общ} при разведении калибровочных образцов, содержащих 5; 2,5; 1 нг/мл ПСА_{общ} в 2 раза, и калибровочного образца 0,5 нг/мл ПСА_{общ} в 3,3 раза. Процент «линейности» составляет 90-110%.

3.5.* Точность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации ПСА_{общ} предписанной в пробе, полученной путём смешивания равных объёмов контрольного образца и калибровочного образца 0,5 нг/мл. Процент «открытия» составляет 90-110%.

3.6.* Чувствительность. Минимально определяемая концентрация ПСА_{общ}, рассчитанная на основании среднего арифметического значения оптической плотности B_0 калибровочного образца 0 нг/мл, плюс 2σ (σ - среднее квадратичное отклонение от среднего арифметического значения B_0), не превышает 0,01 нг/мл.

3.7. Клиническая проверка. Концентрация ПСА_{общ}, измеренная в сыворотке крови, взятой с 9 до 11 ч у 107 здоровых мужчин юго-восточного региона Западной Сибири в возрасте 20-50 лет, не превышала 4,0 нг/мл.

3.8. Рекомендуется в каждой лаборатории при использовании набора уточнить значения концентрации ПСА_{общ}, соответствующие нормальным, у обследуемого контингента людей.

* ГОСТ Р 51352-99.

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. Стоп-реагент обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента на кожу и слизистые необходимо пораженный участок промыть большим количеством проточной воды.

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 стерилизации изделий медицинского назначения».

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 ИФА, 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.

4.8. Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

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

– Спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках стрипов при длине волны 450 нм и/или в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620 нм - 650 нм;

- шейкер термостатируемый орбитального типа, позволяющий производить встряхивание при температуре 37 ± 1 °С и 400-800 об/мин;
- промывочное устройство для планшетов;
- холодильник бытовой;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объёмом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 5 до 5000 мкл;
- пипетка полуавтоматическая многоканальная со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объёмы жидкости от 5 до 350 мкл;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- колба вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые;
- бумага фильтровальная;
- дезинфицирующий раствор.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

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

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

Допускается однократное замораживание-размораживание образцов сыворотки крови.

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

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Перед проведением анализа компоненты набора и исследуемые образцы сыворотки крови следует выдержать при комнатной температуре 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 и хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора.

7.3. Приготовление промывочного раствора.

Внести в мерный цилиндр необходимое количество ФСБ-Т×25 и добавить соответствующее количество дистиллированной воды.

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

При выпадении осадка солей в концентрате необходимо прогреть его при температуре от 10 до 40 °С до полного растворения осадка.

Приготовленный промывочный раствор можно хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 5 сут.

7.4. Приготовление калибровочных и контрольного образцов.

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

После первого вскрытия калибровочные и контрольный образцы можно хранить 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 ванночку для реагента.

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

Конъюгат после первого вскрытия флаконов хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности.

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

7.6. Подготовка раствора тетраметилбензидина плюс.

Раствор ТМБ плюс готов к использованию.

Необходимое количество раствора ТМБ плюс отобрать в ванночку для реагента.

Оставшийся после проведения ИФА раствор ТМБ плюс утилизировать (не сливать во флакон с исходным раствором ТМБ плюс).

Необходимо исключить воздействие света на раствор ТМБ плюс.

Раствор ТМБ плюс после первого вскрытия флаконов можно хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности.

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

Таблица

Количество используемых стрипов	Промывочный раствор		Конъюгат, мл	Раствор ТМБ плюс, мл
	ФСБ-Т×25, концентрат, мл	Дистиллированная вода, мл		
2	4,0	до 100	2,0	2,0
3	6,0	до 150	3,0	3,0
4	8,0	до 200	4,0	4,0

5	10,0	до 350	5,0	5,0
6	12,0	до 300	6,0	6,0
7	14,0	до 350	7,0	7,0
8	16,0	до 400	8,0	8,0
9	18,0	до 450	9,0	9,0
10	20,0	до 500	10,0	10,0
11	22,0	до 550	11,0	11,0
12	24,0	до 600	12,0	12,0

7.7. Стоп-реагент готов к использованию. После первого вскрытия стоп-реагент можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора.

7.8. Внести в соответствующие лунки в дубликатах по 50 мкл каждой калибровочного образца и по 50 мкл контрольного образца. В остальные лунки внести в дубликатах по 50 мкл анализируемых образцов сыворотки крови.

Внесение образцов необходимо производить быстро, в течение времени не более 10 мин.

7.9. Внести во все лунки по 100 мкл конъюгата (см п. 7.5).

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

7.10. Планшет заклеить пленкой и инкубировать в течение 60 мин при встряхивании на шейкере при температуре 37 ± 1 °С и 650 об/мин.

7.11. По окончании инкубации снять липкую пленку и удалить в сосуд с дезинфицирующим раствором. Содержимое лунок удалить отсасыванием в сосуд с дезинфицирующим раствором и промыть, добавляя во все лунки по 350 мкл промывочного раствора (см п. 7.3). Процесс промывки повторить еще 4 раза. Общее количество отмывок равно 5. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. Необходимо следить за полным опорожнением лунок после каждого цикла отмывки. Затем удалить остатки жидкости из лунок, постукивая планшетом в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.

7.12. Внести во все лунки по 100 мкл раствора тетраметилбензидина (см п. 7.6) и инкубировать в защищенном от света месте в течение 15 мин при встряхивании на шейкере при температуре 37 ± 1 °С и 650 об/мин.

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

7.13. Внести во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор тетраметилбензидина плюс, по 100 мкл стоп-реагента. Встряхнуть планшет на шейкере в течение 10-15 сек, при этом содержимое лунок окрашивается в жёлтый цвет.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Измерить величину оптической плотности растворов в лунках стрипов на спектрофотометре вертикального сканирования в двухволновом режиме: при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620 нм - 650 нм; или при длине волны 450 нм (выведение спектрофотометра на нулевой уровень («бланк»)) осуществлять по воздуху).

Измерение проводить через 2-3 мин после остановки реакции.

Время между остановкой реакции и измерением оптической плотности не должно превышать 10 мин.

9. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ

9.1. Построить в линейных координатах калибровочный график зависимости оптической плотности (ед. опт. плотн.) от концентрации ПСА_{общ} в калибровочных образцах (нг/мл).

9.2. Определить содержание ПСА_{общ} в контрольном образце и анализируемых пробах по калибровочному графику.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Набор реагентов ПСА общий-ИФА-БЕСТ (вариант 2) должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности (18 мес). Допускается хранение набора при температуре до 25 °С не более 10 сут.

Замораживание компонентов набора не допускается.

10.2. 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 после вскрытия флаконов хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности;

- 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином, раствор для разведения сывороток, раствор ТМБ плюс и стоп-реагент после вскрытия флаконов 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;

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

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

10.4. 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-ИФА-БЕСТ (вариант 2), следует обращаться в АО «Вектор-Бест» по адресу:

630559, Новосибирская область, Новосибирский район, п. Кольцово, а/я 121, АО «Вектор-Бест», тел. тел. (383) 363-20-60, тел./факс (383) 363-35-55.

Нач. лаборатории НИИ СД

АО «Вектор-Бест»



Н.Н. Сорокина

Директор НИИ СД

АО «Вектор-Бест»



М.Ю. Рукавишников

Всего прошито, пронумеровано и
скреплено печатью 9 листов.

Директор по технологии и качеству
АО "Вектор-Бест"



Масленко А.В.

20 27 г.