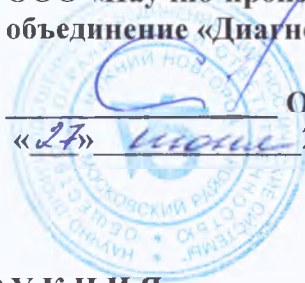


68
УТВЕРЖДАЮ

Заместитель генерального директора
ООО «Научно-производственное
объединение «Диагностические системы»

О.Н. Шлюндин

«27» июня 2013 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов

«ДС – ИФА – ПСАсвободный»

Тест-система иммуноферментная для количественного определения
свободного простата-специфического антигена

1. Назначение

1.1. Набор реагентов «ДС – ИФА – ПСАсвободный» предназначен для количественного определения свободного простата-специфического антигена (ПСА) в сыворотке крови человека методом твёрдофазного иммуноферментного анализа (ИФА).

1.2. ПСА - гликопротеин с молекулярной массой 33 кДА, относящийся к калликреиновому семейству сериновых протеаз. ПСА продуцируется эпителиальными клетками простаты, присутствует в семенной жидкости и в более низких концентрациях в сыворотке крови и моче. ПСА отвечает за разжижение семенной жидкости после эякуляции. Основная форма содержания ПСА в сыворотке крови – комплексы с ингибиторами протеаз, доля свободного ПСА невелика.

Под общим ПСА, определяемым иммунологическими методами, подразумевается суммарное количество ПСА, связанного с альфа-1-антихимотрипсином, и свободной фракции ПСА. Повышение уровня общего ПСА выше 4 нг/мл свидетельствует о патологиях предстательной железы: доброкачественной гиперплазии и аденокарциноме простаты. Определение соотношения ПСА свободного к ПСА общему служит для разграничения злокачественных и доброкачественных новообразований простаты. Уровень ПСА свободного существенно выше при гиперплазии предстательной железы, чем при раке простаты. Значение соотношения ПСА свободного к ПСА общему $< 10\%$ с высокой долей вероятности свидетельствует о злокачественной опухоли, при значении $> 25\%$ рак простаты маловероятен. Определение уровня ПСА является важнейшим средством для контроля эффективности проведенной терапии.

1.3. Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 39-40 неизвестных проб, одной-двух проб контрольных сывороток, шести стандартных калибровочных проб и одной пробы для определения оптической плотности ТМБ-Субстратного раствора при одновременном использовании всех стрипов планшета (всего 96 определений).

В случае дробного применения набора: необходимо обязательное использование всех стандартных калибровочных проб при каждой постановке.

2. Характеристика набора

2.1. Принцип действия.

В наборе «ДС-ИФА-ПСАсвободный» применен «сэндвич»-вариант твердофазного ИФА. Для реализации его использованы два моноклональных антитела с разной специфичностью к двум доменам молекулы ПСА: первые антитела иммобилизованы на твердой фазе, вторые (меченные пероксидазой хрена) входят в состав конъюгата. В лунках планшета во время первой инкубации происходит связывание содержащегося в исследуемом образце свободного ПСА с антителами, иммобилизованными на твердой фазе. Во время второй инкубации антитела, конъюгированные с пероксидазой хрена, связываются со свободным ПСА, иммобилизованным

ходе первой инкубации. Количество связавшегося конъюгата прямо пропорционально количеству свободного ПСА в образце сыворотки крови.

Во время инкубации с ТМБ-Субстратным раствором происходит окрашивание раствора в лунках. Степень окраски прямо пропорциональна количеству свободного ПСА в образце сыворотки крови. После измерения оптической плотности раствора в лунках на основании калибровочного графика рассчитывается концентрация свободного ПСА в исследуемых образцах.

2.2. Состав набора реагентов «ДС-ИФА-ПСАсвободный»

Таблица 1

Характеристики реагентов	Форма выпуска
Иммуносорбент - планшет полистироловый разборный (12 стрипов по 6 лунок каждый, разборность до 1 лунки) с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок моноклональными антителами к свободному ПСА.	1 шт.
Конъюгат - моноклональные антитела к свободному ПСА, конъюгированные с пероксидазой хрена. Прозрачная или опалесцирующая розового цвета жидкость. В качестве консервантов содержит: 0,1% проклин 300, 0,008% гентамицина сульфат, 0,01% фенол.	1 флакон 12,0 мл
Калибратор 0, Калибратор 1, Калибратор 2, Калибратор 3, Калибратор 4, Калибратор 5 – стандартные калибровочные пробы, содержащие известные концентрации свободного ПСА, аттестованные в соответствии с Первым международным стандартом 96/668. Прозрачные или опалесцирующие желтого цвета жидкости. Значения концентраций свободного ПСА указаны на этикетках флаконов и в аналитическом паспорте качества. В качестве консервантов содержат: 0,1% проклин 300, 0,008% гентамицина сульфат.	6 флаконов по 0,5 мл (Калибратор 0 – 2,0 мл)
Контрольная сыворотка КС1, Контрольная сыворотка КС2 – образцы с известным содержанием свободного ПСА. Прозрачные или опалесцирующие желтого цвета жидкости. Значение концентрации свободного ПСА в сыворотках указано на этикетках флаконов и в аналитическом паспорте качества. В качестве консервантов содержат: 0,1% проклин 300, 0,008% гентамицина сульфат.	2 флакона по 0,5 мл
Р - блок-раствор для рабочего разведения сывороток и калибровочных проб. Прозрачная или опалесцирующая синего цвета жидкость. В качестве консервантов содержит: 0,1% проклин 300, 0,008% гентамицина сульфат.	1 флакон 6,0 мл
ТР (концентрат х 25) – промывочный раствор, концентрат. Прозрачная или слегка опалесцирующая, бесцветная или светло-жёлтого цвета жидкость.	1 флакон 50,0 мл
ТМБ-Субстратный раствор - прозрачная бесцветная жидкость.	1 флакон 14,0 мл
Стоп-реагент/0,2М - серная кислота в концентрации 0,2 моль/л. Прозрачная бесцветная жидкость.	1 флакон 25,0 мл
Бланк для построения калибровочной кривой	1 шт.
Инструкция по применению	1 шт.

Дополнительно в комплект поставки могут быть включены:

- крышка к полистироловым 96-луночным планшетами или защитная пленка для ИФА планшетов;
- одноразовые наконечники;

- пластиковые ванночки для жидких реагентов;
- пластиковая скрепка для закрывания пакета с иммуносорбентом или полиэтиленовый пакет с замком.

Набор комплектуется готовыми реагентами или концентрированными растворами. Имеется цветовая кодировка реагентов, а также маркировка посредством штрих-кодов. Набор упакован в коробку картонную, куда вкладывается инструкция по применению.

3. Аналитические и диагностические характеристики набора

3.1. Чувствительность. Минимальная достоверно определяемая концентрация свободного ПСА в сыворотке крови человека составляет 0,05 нг/мл.

3.2. Специфичность. Используемые в наборе моноклональные антитела взаимодействуют со свободной фракцией ПСА и не взаимодействуют с ПСА-АХТ комплексом. Не обнаружено перекрестной реакции моноклональных антител к калликреину 2 человека.

3.3. Коэффициент вариации результатов определения свободного ПСА в одном и том же образце с использованием набора не превышает 8%.

3.4. Линейность. Зависимость концентрации свободного ПСА имеет линейный характер в диапазоне концентраций калибровочных проб №1–№5. Значение «линейности» должно находиться в пределах от 90 до 110%.

3.5. Точность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» свободного ПСА – соответствие измеренной концентрации свободного ПСА предписанной в пробе, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки 1 и калибровочной пробы №1. Процент открытия составляет от 90 до 110%.

3.6. Клиническая проверка. Концентрацию свободного ПСА измеряли в образцах сыворотки крови, взятой с 9 до 11 ч у 168 мужчин в возрасте от 21 до 64 лет. Средняя концентрация свободного ПСА составила $0,075 \pm 0,063$ нг/мл.

3.7. Рекомендуются в каждой лаборатории при использовании набора уточнить значения концентраций свободного ПСА, соответствующие нормальным значениям для конкретной территории.

4. Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2б (Приказ Министерства здравоохранения РФ № 4Н от 06 июня 2012 г.).

Достоверность результатов зависит от правильного выполнения следующих правил лабораторной практики:

4.1. Постановку ИФА следует проводить в помещении с комнатной температурой от 18 до 24 °С.

4.2. Нельзя использовать реагенты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме:

- неспецифических компонентов (ПР (концентрат х 25), ТМБ-Субстратный раствор, Стоп-реагент), которые взаимозаменяемы во всех наборах для исследования гормонов и онкомаркеров, производства ООО «НПО «Диагностические системы».

- за более детальной информацией относительно других реагентов обратитесь в нашу службу поддержки пользователей по телефону бесплатной линии 8-800-555-0300 (доб.7655,7647) или по E-mail: info@npods.nnov.ru

4.3. Нельзя использовать реагенты после истечения срока годности, указанного на упаковке.

4.4. Растворы готовить осторожно, исключая какое-либо загрязнение.

4.5. Нельзя проводить ферментную реакцию в присутствии реактивных паров (кислота, щелочь, альдегиды) или пыли, которые могут повлиять на активность конъюгата.

4.6. Лабораторная посуда должна быть тщательно промыта; предпочтительно применение материалов одноразового использования.

4.7. Ферментная реакция особо чувствительна к ионам металлов. Нельзя допускать контакта металлических предметов с растворами конъюгата или субстрата.

4.8. Необходимо использовать чистый наконечник для каждого образца или реагента.

4.9. Перед использованием пластиковые ванночки для жидких реагентов ополоснуть водой дистиллированной. Многоцветные ванночки для автоматических анализаторов необходимо сразу после работы ополоснуть водой дистиллированной. Затем промыть 70% раствором этилового спирта и снова ополоснуть водой дистиллированной.

4.10. Промывка лунок - важный этап проведения анализа: необходимо соблюдать рекомендованное количество циклов промывки и убедиться, что лунки полностью заполняются раствором. Не следует допускать остатка жидкости в лунках после промывки. Неправильно проведенный этап промывки может привести к неточным результатам.

4.11. Нельзя использовать одну и ту же ванночку для внесения конъюгата и ТМБ-субстратного раствора.

4.12. Необходимо использовать только валидированные дозаторы и оборудование.

4.13. Нельзя изменять процедуру проведения анализа.

4.14. Нельзя подвергать реагенты воздействию высокой температуры или прямого солнечного света.

5. Инструкция по безопасности

5.1. Все реагенты набора предназначены для лабораторной диагностики.

5.2. В помещении с иммунодиагностическими материалами нельзя употреблять пищу, пить, курить, применять косметику.

5.3. Нельзя пипетировать ртом.

5.4. При работе с исследуемыми образцами необходимо обращаться как с потенциально опасными материалами, т.к. ни один известный метод тестирования не может гарантировать отсутствие инфекционных агентов.

5.5. При работе с любым оборудованием, которое контактирует с исследуемыми образцами и реагентами, необходимо обращаться как с инфекционными материалами.

5.6. При работе с набором реагентов и исследуемыми образцами необходимо использовать спецодежду и одноразовые перчатки, тщательно промывать руки после работы с ними.

5.7. Необходимо избегать распыливания образцов или растворов, содержащих образцы. При распыливании немедленно дезинфицировать поверхность 3% раствором хлорамина Б.

5.8. Необходимо избегать контакта ТМБ-Субстратного раствора, стоп-реагента с кожей и слизистыми.

5.9. После проведения ферментной реакции необходимо нейтрализовать и/или автоклавировать растворы, отходы или любые жидкости, содержащие биологические образцы до сброса в канализацию. Твердые отходы (использованные планшеты, наконечники к дозаторам, флаконы, лабораторная посуда, одноразовые перчатки и т.д.) должны быть обеззаражены автоклавированием в течение часа при температуре от 124 до 128 °C под давлением 1,5 кг/см² (0,15 МПа). Допустимо обеззараживание твердых отходов способом погружения в 3% раствор хлорамина Б (длительность дезинфекции не менее 1 часа) или другого разрешенного к промышленному выпуску и применению в РФ дезинфицирующего средства. Жидкие отходы (промывочные воды) следует обеззараживать добавлением сухого хлорамина Б из расчета 30 г/л (длительность дезинфекции – не менее 2 ч) или кипячением в течение 30 мин, или автоклавированием в течение 1 ч под давлением 1,5 кг/см² (0,15 МПа) при температуре от 124 до 128 °C. Инструменты и оборудование до и после работы необходимо протирать 2 раза 70% этиловым спиртом.



5.10.  xi Некоторые реагенты содержат 0,1% проклин 300. Проклин 300 0,1% - раздражающее вещество. Может вызвать сенсibilизацию при контакте с кожей. При контакте с кожей промыть область контакта большим количеством мыла и воды.

5.11. При утилизации и уничтожении все реагенты и материалы, являющиеся отходами, должны быть обработаны в соответствии с действующими нормативами (СанПиН 2.1.7.2790-10, СП 1.3.2322-08).

6. Оборудование и материалы, необходимые при работе с набором:

- спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность раствора в лунках планшета при длине волны 450 нм;
- термостат для инкубации при температуре (37,0 ± 1,0) °C;

- шейкер, позволяющий производить встряхивание со скоростью от 500 до 800 об/мин при температуре $(37,0 \pm 1,0) ^\circ\text{C}$;
- устройство для промывания планшетов (вошер);
- дозаторы пипеточные полуавтоматические одноканальные с изменяемым объемом отбора жидкостей: на 5–50 мкл; на 40–200 мкл; на 200–1000 мкл; на 1000–5000 мкл с одноразовыми наконечниками;
- дозатор пипеточный полуавтоматический восьмиканальный, позволяющий отбирать объемы жидкости до 300 мкл, с одноразовыми наконечниками;
- для постановки ИФА в автоматическом режиме-любая модель ИФА-анализаторов открытого типа;
- цилиндр мерный (200 мл, 500 мл);
- стакан стеклянный (500 мл);
- вода дистиллированная;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- перчатки резиновые или пластиковые.

7. Подготовка исследуемых образцов сывороток крови человека.

Сбор образцов крови должен проводиться в соответствии с надлежащей практикой методом венопункции. В качестве исследуемых образцов может быть использована сыворотка крови человека. Для исключения ложных результатов нельзя подвергать исследуемые образцы термоинактивированию, необходимо отбирать и хранить их в условиях, предотвращающих бактериальный рост. Недопустимо использование образцов с добавлением азида натрия в качестве консерванта! Каждый образец исследуемой сыворотки следует отбирать новым наконечником! Образцы можно хранить в соответствии требованиям существующих нормативных документов. Отобранные образцы хранить при температуре от 2 до 8 °C не более 5 суток. Более длительное хранение допустимо при температуре не выше минус 20 °C (образцы могут подвергаться замораживанию и оттаиванию не более 1 раза). Нельзя использовать образцы с бактериальным ростом, выраженным гемолизом и гиперлипидемией. Образцы сыворотки крови, содержащие агрегаты или осадок, необходимо осветлять центрифугированием.

8. Подготовка реагентов для анализа

8.1. Иммуносорбент. **Внимание: во избежание конденсации влаги внутри лунок необходимо выдерживать иммуносорбент при комнатной температуре в закрытом пакете не менее 30 минут.**

Вскрыть фольгированный пакет, отступив 1,0 см от края пакета. Вынуть из пакета рамку и необходимое количество стрипов, вставить стрипы в рамку.

Пакет с неиспользованными стрипами тщательно герметизировать с помощью скрепки для фольгированного пакета (не удаляя осушитель!). Для этого край пакета следует свернуть 2-3 раза и закрепить, надев сверху скрепку для фольгированного пакета. Или поместить вскрытый фольгированный пакет с иммуносорбентом в полиэтиленовый пакет с замком Zip-Lock.

8.2. ПР - рабочий промывочный раствор. Содержимое флакона с концентратом промывочного раствора тщательно перемешать. Для приготовления рабочего ПР необходимое количество концентрата промывочного раствора развести в 25 раз водой дистиллированной (например, к 10 мл концентрата ПР добавить 240 мл воды). Полученный раствор тщательно перемешать.

8.3. Конъюгат - готов к применению. Перед использованием отобрать необходимое количество в чистую ёмкость.

8.4. Стандартные калибровочные пробы - готовы к применению.

8.5. Контрольные сыворотки - готовы к применению.

8.6. БР (блок-раствор) - готов к применению.

8.7. ТМБ-Субстратный раствор - готов к применению. Перед использованием отобрать необходимое количество в чистую ёмкость.

8.8. Стоп-реагент - готов к применению.

9. Проведение анализа

Перед использованием все реагенты набора выдержать 30 мин при комнатной температуре.

9.1. Стандартные калибровочные пробы и контрольные сыворотки вносить по 50 мкл в 8 лунках. Рекомендуется оставить 2 лунки для измерения ОП ТМБ-Субстратного раствора.

В остальные лунки внести по 50 мкл исследуемых образцов сывороток крови в лунках. **Внимание! Время внесения образцов не должно превышать 10 минут!**

9.2. Во все лунки, кроме лунок с контролем ТМБ-Субстратного раствора, внести точным дозатором по 50 мкл БР. Перемешать содержимое лунок осторожным постукиванием по краю планшета в течение 30 сек. Стрипы планшета закрыть крышкой или защитной пленкой.

9.3. Возможны три процедуры инкубации планшета:

Процедура 1 (термостатируемый шейкер, $(37,0 \pm 1,0) ^\circ\text{C}$):

Планшет инкубировать в течение 30 минут на термостатируемом шейкере при перемешивании со скоростью от 500 до 800 об/мин и температуре $(37,0 \pm 1,0) ^\circ\text{C}$.

Процедура 2 (термостат, $(37,0 \pm 1,0) ^\circ\text{C}$):

Планшет инкубировать в течение 40 минут в термостате при температуре $(37,0 \pm 1,0) ^\circ\text{C}$ (при использовании крышки - во влажной камере).

Для создания влажной камеры планшет закрыть крышкой, на которую положить увлажненную водой фильтровальную бумагу, планшет поместить в полиэтиленовый пакет, после чего края пакета завернуть вниз.

Процедура 3 (комнатная температура):

Планшет инкубировать в течение 60 минут при комнатной температуре (здесь $20-25 ^\circ\text{C}$) в темноте.

9.4. По истечении указанного времени содержимое лунок удалить с помощью вошера (или многоканальной пипетки) в ёмкость для сбора инфицированного материала, муносорбент промыть 5 раз рабочим ПР, заливая его до краев лунок (не менее 300 мкл в лунку) и удаляя промывочный раствор с помощью вошера (или многоканальной пипетки) в ёмкость для сбора инфицированного материала. По окончании промывки тщательно удалить остатки жидкости из лунок постукиванием рамки со стрипами в перевернутом положении по фильтровальной бумаге. Не допускать остатка жидкости в лунках планшета.

9.5. Во все лунки отмытого планшета, кроме лунок с контролем ТМБ-Субстратного раствора, внести по 100 мкл конъюгата, стрипы планшета закрыть крышкой или защитной пленкой.

9.6. Возможны три процедуры инкубации планшета:

Процедура 1 (термостатируемый шейкер, $(37,0 \pm 1,0) ^\circ\text{C}$):

Планшет инкубировать в течение 30 минут на термостатируемом шейкере при перемешивании со скоростью от 500 до 800 об/мин и температуре $(37,0 \pm 1,0) ^\circ\text{C}$.

Процедура 2 (термостат, $(37,0 \pm 1,0) ^\circ\text{C}$):

Планшет инкубировать в течение 40 минут в термостате при температуре $(37,0 \pm 1,0) ^\circ\text{C}$ (при использовании крышки - во влажной камере).

Процедура 3 (комнатная температура):

Планшет инкубировать в течение 60 минут при комнатной температуре (здесь $20-25 ^\circ\text{C}$) в темноте.

9.7. По истечении указанного времени содержимое лунок удалить в ёмкость для сбора инфицированного материала. Стрипы планшета промыть 5 раз рабочим ПР, как в п.9.4.

9.8. Во все лунки отмытого планшета внести по 100 мкл ТМБ-Субстратного раствора и выдержать при комнатной температуре в темноте:

Процедура 1: 20 мин.

Процедура 2: 20 мин.

Процедура 3: 30 мин.

9.9. Реакцию остановить добавлением во все лунки стрипов по 150 мкл стоп-реактанта,яхнуть стрипы на шейкере в течение 5-10 секунд и провести учет результатов. Время между новкой реакции и измерением ОП не должно превышать 20 мин.
Схема проведения ИФА приведена в Приложении 2.

9.10. **Спектрофотометрический контроль внесения сывороток и реагентов при гановке тест-системы «ДС-ИФА-ПСАсвободный» на автоматических ИФА-лизаторах.** Контроль внесения конъюгата рекомендуется проводить при длинах волн 540)) нм, критерий: ОП > 0,500.

10. Регистрация результатов

Регистрацию результатов проводить спектрофотометрически при длине волны 450 нм.

11. Учет результатов

Реакцию следует учитывать, если среднее значение оптической плотности (ОП) в лунках нтролем ТМБ-Субстратного раствора - не более 0,1.

На бланке для построения калибровочной кривой в линейных координатах по оси цисс Х откладывают соответствующие значения концентрации свободного ПСА, аженной в нг/мл, по оси ординат Y откладывают средние значения ОП стандартных ибровочных проб. По полученным точкам строят калибровочную кривую.

Для исследуемых образцов определяют концентрацию свободного ПСА по ибровочному графику. Для этого на оси ординат Y отмечают значение ОП исследуемого альца, проводят прямую до пересечения с калибровочной кривой, от полученной точки оводят перпендикуляр до оси абсцисс Х. Точка пересечения покажет значение концентрации ободного ПСА в исследуемом образце, выраженную в нг/мл.

Контрольные сыворотки служат для проверки точности и достоверности результатов. лученные величины концентраций свободного ПСА в образцах считать достоверными, если численные по калибровочному графику значения концентрации свободного ПСА в нтрольных образцах попадают в пределы, указанные на этикетках флаконов.

Для образца с ОП выше, чем в калибровочной пробе №5, выдается результат: больше минации «Калибратора 5» или этот образец следует развести калибровочной пробой №0, ализ повторить. В случае разведения образца необходимо измеренную концентрацию ободного ПСА умножить на фактор разведения.

Расчет отношения концентрации свободного ПСА к концентрации общего ПСА оизводится по следующей формуле:

$$\frac{\text{Концентрация свободного ПСА} * 100\%}{\text{Концентрация общего ПСА}}$$

Применять только при значениях общего ПСА более 4 нг/мл!

Концентрация общего ПСА должна быть определена с использованием набора «ДС–ФА–ПСАобщий», производства ООО «Научно-производственное объединение Диагностические системы».

12. Ограничения теста

12.1. Все реагенты набора предназначены для определения свободного простата-ицифического антигена (ПСА) в сыворотке крови человека. Набор не предназначен для пределения ПСА в слюне, плазме и других образцах человеческого или животного происхождения.

12.2. Неправильное обращение с образцами и изменение процедуры теста могут повлиять на результаты.

12.3. Для разведения образцов сывороток с высоким содержанием ПСА свободного следует использовать «Калибратор 0». Применение других реагентов может привести к ложным результатам.

12.4. Наличие гетерофильных антител у пациентов, имеющих дело с животными или получавших моноклональные антитела в качестве лечения, может оказывать влияние на результаты иммунологических тестов.

12.5. Набор не предназначен для тестирования образцов сывороток крови новорожденных

12.6. Только одно пониженное значение отношения концентрации свободного ПСА к концентрации общего ПСА не имеет диагностического значения как специфический тест для определения злокачественных новообразований простаты. Отношение концентраций свободного ПСА и общего ПСА должно использоваться только в сочетании с клиническими симптомами и результатами исследований другими тестами (биопсия простаты).

13. Условия хранения и эксплуатации набора

13.1. Набор реагентов должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8 °C в защищённом от света месте в течение всего срока годности. Срок годности указан на упаковке набора. Набор с истекшим сроком годности использованию не подлежит.

13.2. Транспортирование набора реагентов проводить при температуре от 2 до 8 °C. Допустимо транспортирование и хранение при температуре от 9 до 25 °C 10 суток и до 30° C суток. Замораживание не допускается.

13.3. В случае дробного использования компоненты набора необходимо хранить следующим образом:

- Иммуносорбент - пакет с неиспользованными стрипами и силикагелем тщательно герметизировать. После первого вскрытия пакета иммуносорбент стабилен на протяжении срока годности набора при температуре от 2 до 8 °C.

- ПР (концентрат x 25) - после вскрытия флакона оставшийся неиспользованным ПР (концентрат x 25) хранить во флаконе, плотно закрытом винтовой крышкой, на протяжении срока годности набора при температуре от 2 до 8 °C;

- Рабочий промывочный раствор, подготовленный к использованию, хранить в чистой плотно закрытой емкости в течение 14 сут при комнатной температуре или 28 сут при температуре от 2 до 8 °C.

- Конъюгат - после вскрытия флакона оставшийся неиспользованным конъюгат хранить во флаконе, плотно закрытом винтовой крышкой, на протяжении двух месяцев при температуре от 2 до 8 °C.

- Стандартные калибровочные пробы - после вскрытия флакона оставшиеся неиспользованными калибровочные пробы хранить во флаконах, плотно закрытых винтовыми крышками, на протяжении двух месяцев при температуре от 2 до 8 °C.

- Контрольные сыворотки - после вскрытия флакона оставшиеся неиспользованными контрольные сыворотки хранить во флаконах, плотно закрытых винтовыми крышками, на протяжении двух месяцев при температуре от 2 до 8 °C.

- БР (блок-раствор) - после вскрытия флакона оставшийся неиспользованным БР хранить во флаконе, плотно закрытом винтовой крышкой, на протяжении срока годности набора при температуре от 2 до 8 °C.

- ТМБ-Субстратный раствор - после вскрытия флакона оставшийся неиспользованным ТМБ-Субстратный раствор хранить во флаконе, плотно закрытом винтовой крышкой, на протяжении двух месяцев при температуре от 2 до 8 °C.

- Стоп-реагент - после вскрытия флакона оставшийся неиспользованным Стоп-реагент хранить во флаконе, плотно закрытом винтовой крышкой, на протяжении срока годности набора при температуре от 2 до 8 °С.

13.4. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции.

Рекламации на специфические и физические свойства набора «ДС – ИФА – ПСасвободный» направлять в адрес предприятия-изготовителя – ООО «Научно-производственное объединение «Диагностические системы» Россия, 603093, г. Нижний Новгород, ул. Яблоневая, д. 22, тел./факс: (831) 434-86-83 или тел.: (831) 434-97-12. E-mail: nfo@npods.nnov.ru, www.npods.ru.

14. Объяснение символов

	ЕС Маркировка (Европейская директива 98/79/CE по in vitro диагностическим МУ)
	Только для лабораторного использования (in vitro diagnostic)
	Производитель
	Каталожный номер
	Количество определений
	Номер партии (серии)
	Температурные пределы хранения
	Срок годности число/месяц/год
	Использовать инструкцию по применению
	Содержит раздражающее вещество

Директор по производству
ООО «Научно-производственное объединение
«Диагностические системы»

 В.К.Пименов

СОГЛАСОВАНО
Зав.кафедрой клинической лабораторной диагностики
ГБОУ ДПО РМАПО Минздрава России
д.м.н., профессор

 В.В. Долгов
23 СЕН 2013

15. Список литературы

- Schmid H.P., Prikler L., Sturgeon C.M., Semjonow A. Diagnosis of Prostate Cancer – The Clinical Use of Prostate Specific Antigen. EAU Update Series 1: 3-8, 2003.
- Onur R., Ilhan N., Orhan I. Increased discrimination between benign prostatic hyperplasia and prostate cancer with equimolar total prostate specific antigen measurement. World J Urol. 21: 43-47, 2003.
- Jung K., Brux B., Lein M. et al. Molecular forms of prostate-specific antigen in malignant and benign prostatic tissue: biochemical and diagnostic implications. Clin Chem. 46: 47-54, 2000.
- Djavan B., Remzi M., Zlotta A.R. et al. Complexed prostate-specific antigen, complexed prostate-specific antigen density of total and transition zone, complexed/total prostate-specific antigen ratio, free-to-total prostate-specific antigen ratio, density of total and transition zone prostate-specific antigen: results of the prospective multicenter European trial. Urology 60: 4-9, 2002.
- Prister C., Basuyau J-P. Current usefulness of free/total PSA ratio in the diagnosis of prostate cancer at an early stage. World J Urol. 23: 236-242, 2005.
- Price C., Allard J., Davies G. et al. Pre-and-post-analytical factors that may influence use of serum prostate specific antigen and isoforms in a screening programme for prostate cancer. Ann Clin Biochem. 38: 188-216, 2001.
- Rafi T., Sattar A., Asif N. et al. The Comparison of percent free PSA with total PSA in the diagnosis of prostate cancer. JPMA Vol. 53, no. 6, 2003.
- Fang J., Metter E.J., Landis P., Carter H.B. PSA velocity for assessing prostate cancer risk in men with PSA levels between 2.0 and 4.0 ng/ml. Urology 59: 889-894, 2002.
- Uzzo R.G., Pinover W.H., Horwitz E.M. et al. Free prostate-specific antigen improves prostate cancer detection in high-risk population of men with a normal total PSA and digitalrectal examination. Urology 61(4): 754-759, 2003.

Методы математической обработки результатов

При учете результатов с помощью встроенного или внешнего программного обеспечения спектрофотометра рекомендуется использовать следующие методы математической обработки результатов:

Марка спектрофотометра	Рекомендуемые методы математической обработки
Statfax 2100, 3200	Point-to-point
Tecan Sunrise	4 parameters
Bio-Rad 680	4 PL-Cook-Wilkenson
Multiscan EX	Point-to-point

СХЕМА АНАЛИЗА

1	Внести	По 50 мкл калибраторов и контрольных сывороток в двух повторях; По 50 мкл исследуемых сывороток в двух повторях		
2	Внести	По 50 мкл БР во все лунки, кроме лунок с контролем ТМБ-Субстратного раствора		
3	Встряхнуть	в течение 30 секунд		
4	Инкубировать	Процедура 1 30 мин, шейкер, 37 °С	Процедура 2 40 мин, термостат, 37 °С	Процедура 3 60 мин, комнатная температура в темноте
5	Промыть планшет	5 раз, не менее 300 мкл рабочего промывочного раствора		
6	Внести	По 100 мкл конъюгата во все лунки, кроме лунок с контролем ТМБ-Субстратного раствора		
7	Инкубировать	Процедура 1 30 мин, шейкер, 37 °С	Процедура 2 40 мин, термостат, 37 °С	Процедура 3 60 мин, комнатная температура в темноте
8	Промыть планшет	5 раз, не менее 300 мкл рабочего промывочного раствора		
9	Внести	По 100 мкл ТМБ-Субстратного раствора во все лунки		
10	Инкубировать	Процедура 1 20 мин, в темноте	Процедура 2 20 мин, в темноте	Процедура 3 30 мин, в темноте
11	Внести	По 150 мкл стоп-реагента		
12	Встряхнуть	в течение 5-10 секунд		
13	Учет результатов	450 нм		

15