EN ISO 13485:2012

Унитарное предприятие
«Хозрасчетное опытное производство
Института биоорганической химии
Национальной академии наук Беларуси»

# ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СВОБОДНОГО СПЕЦИФИЧЕСКОГО АНТИГЕНА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА МЕТОДОМ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

ИФА-ПСА-свободный
ТУ BY 100185093.058-2009, изм.№2

Утверждена Министерством здравоохранения Республики Беларусь
04.05.2017 г.

КОПИЯ ВЕРНА
НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ * УНИТАРНОЕ ПРЕДПРИЯТИЕ «ХОЗРАСЧЕТНОЕ ОПЫТНОЕ ПРОИЗВОДСТВО ИНСТИТУТА БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ» * РЕСПУБЛИКА БЕЛАРУСЬ г.МИНСК
УП ХОП ИБОХ НАНБ
Для документов

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

## 1 НАЗНАЧЕНИЕ НАБОРА

1.1 Набор предназначен для определения концентрации свободного специфического антигена предстательной железы (ПСА свободный) в сыворотке крови человека методом иммуноферментного анализа. Набор предназначен для применения только in vitro.

1.2 ПСА – одноцепочечный гликопротеин с молекулярной массой (33-34) кДа, вырабатываемый как нормальными, так и опухолевыми клетками выводных протоков желёз простаты. Специфический антиген предстательной железы является протеазой химотрипсинового типа. Эта ферментативная функция необходима для разжижения эякулята. В норме небольшое количество ПСА поступает в эякулят и секрет простаты, и очень незначительное количество попадает в кровь.

Ферментативно активная форма ПСА образует комплекс с сывороточным ингибитором протеаз $\alpha_1$-антихимотрипсином. В сыворотке крови ПСА находится в основном в связанной с $\alpha_1$-антихимотрипсином форме. ПСА образует комплексы и с другими сывороточными ингибиторами протеаз, например, с $\alpha_2$-макроглобулином, но в этом комплексе ПСА недоступен для антител и, вследствие этого, не определяется в иммунохимическом анализе. В сыворотке ПСА присутствует также в свободной, не связанной с ингибиторами форме. Эта форма ПСА не обладает ферментативной активностью и, поэтому, не взаимодействует с сывороточными ингибиторами протеаз. Таким образом, общий иммунологически активный ПСА в сыворотке включает свободный ПСА и ПСА в комплексе с $\alpha_1$-антихимотрипсином.

Уровень свободного ПСА меняется в зависимости как от индивидуальных особенностей организма, так и от формы патологии предстательной железы. При раке предстательной железы увеличивается количество связанного и снижается содержание свободной фракции ПСА при увеличении общей концентрации этого антигена. Показано, что содержание свободного ПСА в сыворотке крови при раке предстательной железы значительно ниже по сравнению с концентрацией свободного ПСА при доброкачественном процессе. Именно на этой особенности основан принцип дифференциальной диагностики рака и гиперплазии простаты. Поэтому для определения концентрации свободного ПСА рекомендуется выбирать те пробы, содержание общего ПСА в которых находится в диапазоне от 4 до 20 нг/мл.

Коэффициент ПСА – это отношение свободного и общего ПСА в крови. Высокий коэффициент говорит против рака простаты. В противоположность этому, высокий уровень ПСА с низким коэффициентом ПСА говорит за диагноз рака простаты.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

## 2 ХАРАКТЕРИСТИКА И ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

2.1 Состав набора:

- иммуносорбент, 1 планшет;
- конъюгат, жидкий препарат, 1 флакон, 22 мл;
- шесть калибровочных проб ($C_0$-$C_5$), в диапазоне концентраций свободного ПСА (0; 0,5-30) нг/мл (точные значения концентраций свободного ПСА указываются на этикетках), жидкие препараты, готовы к использованию, 6 микропробирок или флаконов по 1,0 мл. Калибровочные пробы откалиброваны относительно международных стандартов ПСА 96/670 и ПСА свободный 96/670 (NIBSC, Великобритания);
- контрольная сыворотка (КС) содержит известное количество свободного ПСА (диапазон концентраций свободного ПСА указан в паспорте набора), жидкий препарат, готов к использованию, 1 микропробирка или флакон, 1,0 мл;
- буферный раствор, жидкий препарат, готов к использованию, 1 флакон, 14 мл;
- концентрат промывочного раствора (КПР), жидкий препарат, 1 флакон, 20 мл;
- субстратный буферный раствор (СБР), жидкий препарат, 1 флакон, 20 мл;
- раствор ТМБ, жидкий препарат, 1 флакон, 1,2 мл;
- стоп-реагент, жидкий препарат, готов к использованию, 1 флакон, 13 мл.

Примечание – СБР и раствор ТМБ могут не входить в состав набора. В этом случае компонентом набора является ТМБ-субстрат, жидкий препарат, готов к использованию, 1 флакон, 22 мл.

2.2 Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 41 неизвестной пробы, 1 контрольной и 6 калибровочных проб, всего 96 определений.

2.3 Продолжительность анализа 3 ч.

2.4 Диапазон определяемых концентраций свободного ПСА в образцах сыворотки крови человека составляет (0,1-30) нг/мл.

2.5 Принцип работы набора основан на методе твердофазного неконкурентного иммуноферментного анализа (ИФА) типа «сэндвич». В наборе ИФА-ПСА-свободный используется два вида моноклональных антител к различным эпитопам молекулы ПСА. Для «захвата» используются МКАТ, специфичные для свободной формы ПСА. Для «проявления» свободного ПСА используется другой вид МКАТ, который равномерно (эквимолярно) распознает обе формы ПСА – свободную и связанную.

Иммуносорбент представляет собой полистирольный планшет, внутренняя поверхность лунок которого покрыта моноклональными антителами к свободному ПСА.

Конъюгат представляет собой моноклональные антитела к ПСА, меченные пероксидазой хрена.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Во время первой инкубации исследуемые образцы, контрольные и калибровочные пробы инкубируют в лунках планшета. Свободный ПСА, находящийся в образцах, связывается с моноклональными антителами, иммобилизованными на стенках лунок планшета. Образуется комплекс антитело···антиген. Удаление несвязанного или неспецифически связанного свободного ПСА осуществляется удалением реакционной смеси и промыванием лунок планшета.

Во время второй инкубации иммобилизованный на первой стадии свободный ПСА связывается с моноклональными антителами, меченными пероксидазой хрена (коньюгат).

После отмывания несвязанных компонентов в лунки планшета добавляют раствор проявителя. Пероксидазную реакцию останавливают стоп-реагентом и измеряют оптическую плотность смеси в лунках при длине волны 450 нм, которая пропорциональна концентрации свободного ПСА в исследуемых образцах.

## 3 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

3.1 Присутствие в наборе «ИФА-ПСА-свободный» химикатов, а также работа со всеми исследуемыми образцами сывороток, с отработанными растворами и жидкостями, различным оборудованием, которое может быть загрязнено в процессе анализа, требует определенных мер безопасности при использовании набора.

3.2 При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые перчатки, т.к. данный набор содержит производные крови, которые следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные сохранять и передавать гемоконтактные инфекции.

3.3 Работы проводить с соблюдением мер предосторожности в соответствии с требованиями [1], [2], [3], [4]. В случае пролива сыворотки крови на рабочие поверхности, необходимо проводить дезинфекцию в соответствии с требованиями [5].

3.4 При работе с набором рабочие места должны быть обеспечены приточно-вытяжной вентиляцией.

3.5 Соблюдать правила работы с химическими веществами. Стоп-реагент содержит серную кислоту. При попадании на кожу или в глаза смыть кислоту большим количеством воды.

3.6 Все отработанные растворы, подлежащие утилизации, необходимо обрабатывать 6% раствором перекиси водорода и выдерживать при комнатной температуре в течение 3 ч.

3.7 Все твердые отходы необходимо собирать в специальный контейнер и автоклавировать в течение 1 ч при температуре (126±2) °С и давлении (0,15±0,02) МПа.

3.8 Инструменты, оборудование, а также рабочие поверхности столов необходимо обрабатывать 70% этиловым спиртом либо дезинфицирующими средствами.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

## 4 ПРАВИЛА РАБОТЫ С НАБОРОМ

4.1 Для исключения ложных результатов исследуемые образцы необходимо готовить и хранить в условиях, предотвращающих бактериальный пророст. Необходимо осветлять образцы сывороток, содержащие агрегаты или осадок, при помощи центрифугирования. Собранные образцы сывороток хранят при температуре (2-8) °С в течение 72 ч. Допускается замораживание образцов (желательно до температуры ниже минус 20 °С) не более двух раз. Каждый образец сыворотки, а также реагенты набора необходимо отбирать чистым наконечником.

4.2 Необходимо помнить, что образцы с азидом натрия, гемолизом, гиперлипидемией, повышенным содержанием билирубина, бактериальным проростом, а также длительно хранившиеся без замораживания, не пригодны для анализа.

4.3 Надежность результатов зависит от выполнения следующих правил:

- температура в помещении, где проводится анализ, должна быть (18-25) °С;
- во время проведения анализа следует избегать попадания прямых солнечных лучей на рабочую поверхность;
- не допускается использование набора после окончания срока годности, а также смешивание компонентов наборов разных серий;
- не допускается использование реагентов с нарушением герметичности упаковки;
- для приготовления каждого реагента должна использоваться отдельная емкость;
- вся используемая для приготовления реагентов посуда должна быть тщательно вымыта и сполоснута дистиллированной водой;
- использовать только новые наконечники для внесения каждого образца и реагента;
- необходимо обратить внимание на тщательное перемешивание реагентов;
- не допускается подсыхание лунок на всех этапах постановки ИФА;
- не допускается проведение анализа в присутствии паров перекиси водорода, кислот, щелочей, альдегидов, хлорсодержащих соединений, а также пыли, которые могут снижать ферментативную активность конъюгата;
- ферментная реакция очень чувствительна к ионам металлов, поэтому не допускается контакт реагентов с металлами;
- хромоген-субстратный раствор перед использованием должен быть бесцветным, при его окрашивании необходимо заменить его новым;
- не используйте одну и ту же емкость для конъюгата и хромоген-субстратного раствора;
- необходимо постоянно проверять точность дозировки и следить за рабочим состоянием пипеток и другого оборудования.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

## 5 ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

5.1 Для проведения анализа необходимо использовать следующее оборудование:

- спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность раствора в лунках планшета при длине волны 450 нм;
- полу- или автоматическое устройство для промывания планшетов (вошер);
- пипетки одноканальные полуавтоматические со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 0,02 до 5,00 мл (от 20 до 5000 мкл);
- пипетки 8-ми канальные полуавтоматические со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 0,050 до 0,300 мл (от 50 до 300 мкл);
- вихревой смеситель;
- цилиндры мерные вместимостью 25; 500 мл;
- стакан стеклянный вместимостью 500 мл;
- ванночки для реагентов;
- пробирки одноразовые с пробками;
- флаконы пластмассовые;
- штатив для пробирок;
- клейкая пленка или крышка;
- бумага фильтровальная;
- перчатки резиновые хирургические;
- дезинфицирующие средства;
- перекись водорода 6 %;
- спирт этиловый 70 %;
- вода дистиллированная или деионизованная;
- контейнер для сбора твердых отходов;
- контейнер для слива жидких отходов.

## 6 ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

6.1 Образцы сывороток крови, в том числе полученных с помощью активатора свертывания крови (в комплексе с разделяющим гелем или без него), могут храниться до анализа не более трех суток при температуре (2-8) °С. Допускается хранение образцов в замороженном состоянии при температуре ниже минус 20 °С в течение трех месяцев, при температуре минус 70 °С в течение двух лет. Не использовать сыворотки, которые замораживались/размораживались более двух раз. Размороженные образцы сыворотки после оттаивания тщательно перемешать пипетированием в течение не менее 1 мин для достижения однородности.

Образцы, содержащие агрегаты и осадок, перед анализом осветляют центрифугированием в течение 10 мин при 1900 g (2500-3000 об/мин).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

## 7 ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

(из расчета на 1 планшет)

7.1 Расчет реагентов для необходимого количества стрипов приведен в таблице 1. Набор рассчитан на не более чем 3 постановки иммуноферментного анализа. Для каждой постановки необходимо построение нового калибровочного графика и рекомендуется определение концентрации свободного ПСА в КС.

7.2 Перед использованием выдержать компоненты набора и анализируемые образцы сыворотки крови при температуре (18-25) °С в течение 30 мин.

7.3 Приготовление промывочного раствора (разведение в 20 раз)

Если КПР содержит осадок в виде кристаллов, его необходимо перед использованием прогреть при температуре (35-37) °С до полного растворения кристаллов.

Содержимое флакона с КПР интенсивно встряхнуть в течение (20-30) с. Отобрать 20 мл раствора в стакан вместимостью 500 мл, добавить 380 мл дистиллированной воды и перемешать раствор.

Приготовленный промывочный раствор можно хранить в течение 1 мес. при температуре (2-8) °С или 36 ч при (18-25) °С в чистой, плотно закрытой емкости.

7.4 Приготовление хромоген-субстратного раствора

В чистый флакон вместимостью 20 мл отобрать 0,9 мл (900 мкл) раствора-ТМБ, добавить 18,0 мл СБР. Содержимое флакона тщательно перемешать пипетированием в течение не менее 1 мин, не допуская образования пены.

ВНИМАНИЕ! Хромоген-субстратный раствор готовят непосредственно перед использованием.

Примечание – Приготовление хромоген-субстратного раствора требуется только в том случае, если раствор ТМБ и СБР поставляются в виде отдельных компонентов.

Таблица 1 – Расход реагентов набора

| Количество стрипов | Промывочный раствор | | Буферный раствор | Коньюгат | Хромогеген-субстратный раствор | | Стоп-реагент, |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | КПР, мл | Дист. вода, мл | мл | мл | Раствор ТМБ, мкл | СБР, мл | мл |
| 1 | 2 | 18 | 1 | 1,6 | 75 | 1,5 | 1 |
| 2 | 4 | 76 | 2 | 3,2 | 150 | 3,0 | 2 |
| 3 | 5 | 95 | 3 | 4,8 | 225 | 4,5 | 3 |
| 4 | 7 | 133 | 4 | 6,4 | 300 | 6,0 | 4 |
| 5 | 9 | 171 | 5 | 8,0 | 375 | 7,5 | 5 |
| 6 | 10 | 190 | 6 | 9,6 | 450 | 9,0 | 6 |
| 7 | 12 | 228 | 7 | 11,2 | 525 | 10,5 | 7 |
| 8 | 14 | 266 | 8 | 12,8 | 600 | 12,0 | 8 |

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

| Коли-чество стри-пов | Промывочный раствор | | Буферный раствор | Коньюгат | Хромогеген-субстратный раствор | | Стоп-реагент, |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | КПР, мл | Дист. вода, мл | мл | мл | Раствор ТМБ, мкл | СБР, мл | мл |
| 9 | 15 | 285 | 9 | 14,4 | 675 | 13,5 | 9 |
| 10 | 17 | 323 | 10 | 16,0 | 750 | 15,0 | 10 |
| 11 | 19 | 361 | 11 | 17,6 | 825 | 17,5 | 11 |
| 12 | 20 | 380 | 12 | 19,2 | 900 | 18,0 | 12 |

7.5 Хранение реагентов после вскрытия упаковки

Флаконы с реагентами закрывать крышками сразу после использования, предупреждая их контаминацию.

В ходе анализа допускается хранение реагентов в течение 8 ч при температуре (18-25) °С в защищенном от света месте.

Все неиспользованные компоненты набора хранятся в плотно закрытой первичной упаковке при (2-8) °С в защищенном от света месте в течение 1 мес. с момента вскрытия.

7.6 Подготовка образцов сыворотки крови для анализа

Анализируемые образцы сыворотки крови маркировать $X_1$-$X_i$ .

Если образцы крови человека хранились замороженными, то перед анализом их следует разморозить при температуре (18-25) °С.

Размороженные образцы сыворотки крови человека могут храниться при температуре (2-8) °С в течение 3 суток.

## 8 ТРЕБОВАНИЯ К ПРОМЫВАНИЮ ПЛАНШЕТА

8.1 Для промывания планшета рекомендуется использовать автоматическое или полуавтоматическое устройство для промывания планшетов – вошер, в случае отсутствия вошера можно промывать лунки 8-ми канальной пипеткой;

- на всех этапах промывания необходимо контролировать заполнение всех лунок и полное удаление (аспирацию) жидкости из них, лунки должны заполняться промывочным раствором до краев ((0,300-0,350) мл в лунку), без переполнения и перетекания жидкости из соседних лунок;
- промывочный раствор должен находиться в лунках не менее 40 с;
- после последней аспирации в лунках не должно быть остатков жидкости. При необходимости удалить остатки влаги, постукивая планшетом в перевернутом положении по фильтровальной бумаге;

Некачественное промывание планшета приводит к получению некорректных результатов.

## 9 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

9.1 Перед началом работы иммуносорбент освободить от упаковочного пакета и подготовить необходимое количество стрипов. Составить протокол маркировки лунок, из расчета, что калибровочные пробы (маркировка лунок

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

$B_0$-$B_5$), контрольная сыворотка (маркировка лунок КС), все образцы исследуемых сывороток крови человека (маркировка лунок $X_1$-$X_i$), ставятся в дубликатах.

9.2 В лунки планшета внести по 0,1 мл (100 мкл):

- калибровочных проб $C_0$-$C_5$ – каждая калибровочная проба в отдельные, предназначенные для нее лунки;
- контрольной сыворотки (КС) – в предназначенные для нее лунки;
- образцов исследуемых сывороток крови человека, подготовленных по п.7.8. Каждый образец – в отдельные предназначенные для него лунки.

9.3 В каждую лунку планшета внести по 0,1 мл (100 мкл) буферного раствора. Перемешать содержимое лунок (5-6) круговыми движениями по поверхности стола.

9.4 Планшет заклеить пленкой или закрыть крышкой и инкубировать при температуре (18-25) °С в течение 1 ч без встряхивания.

9.5 Удалить содержимое из всех лунок с помощью вошера или 8-ми канальной пипетки, промыть все лунки планшета 5 раз по 0,35 (350 мкл) промывочным раствором, приготовленным по п.7.4, и после последней аспирации удалить остатки влаги, постукивая планшетом в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.

9.6 Во все лунки внести по 0,2 мл (200 мкл) конъюгата. Перемешать содержимое лунок (5-6) круговыми движениями по поверхности стола.

9.7 Планшет заклеить новой пленкой или закрыть крышкой и инкубировать при температуре (18-25) °С в течение 1 ч без встряхивания.

9.8 Удалить содержимое из всех лунок с помощью вошера или 8-ми канальной пипетки, промыть все лунки планшета 5 раз по 0,35 мл (350 мкл) промывочным раствором, приготовленным по п.7.4, и после последней аспирации удалить остатки влаги, постукивая планшетом в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.

9.9 Во все лунки внести по 0,15 мл (150 мкл) хромоген-субстратного раствора, приготовленного по п.7.5. Перемешать содержимое лунок (5-6) круговыми движениями по поверхности стола.

9.10 Планшет заклеить новой пленкой или закрыть крышкой и инкубировать при температуре (18-25) °С в темном месте в течение (15-25) мин (в зависимости от степени развития окраски) без встряхивания.

9.11 Остановить цветную реакцию путем внесения во все лунки по 0,1 мл (100 мкл) стоп-реагента (в той же последовательности, что и хромоген-субстратный раствор).

9.12 Не позже, чем через 15 мин после остановки цветной реакции, определить оптическую плотность (ОП) в лунках при длине волны 450 нм.

9.13 Последовательность операций анализа приведена в таблице 2.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Таблица 2

| Лунки (в дубликатах) | Последовательность операций | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Калибр. пробы; КС и исследуемые сыворотки крови человека, мкл | Буферный раствор мкл | Перемешать содержимое лунок (5-6) круговыми движениями по поверхности стола. | Планшет заклеить пленкой и инкубировать при (18-25) °С в течение 1 ч без встряхивания. |
| $B_0$-$B_5$ | 100 | 100 | | |
| КС | 100 | 100 | | |
| $X_1$-$X_i$ | 100 | 100 | | |

Продолжение таблицы 2

| Лунки (в дубликатах) | Последовательность операций | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | С помощью вошера или 8-ми канальной пипетки удалить содержимое | Промывочный раствор мкл | Удалить промывочный раствор. Повторить 4 раза стадию промывки. | Коньюгат, мкл | Перемешать содержимое лунок (5-6) круговыми движениями по поверхности стола. | Планшет заклеить новой пленкой и инкубировать при (18-25) °С в течение 1 ч без встряхивания. |
| $B_0$-$B_5$ | | 350 | | 200 | | |
| КС | | 350 | | 200 | | |
| $X_1$-$X_i$ | | 350 | | 200 | | |
| После последней аспирации промывочного раствора удалять остатки влаги, постукивая перевернутым планшетом по фильтровальной бумаге | | | | | | |

Продолжение таблицы 2

| Лунки (в дубликатах) | Последовательность операций | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | С помощью вошера или 8-ми канальной пипетки удалить содержимое | Промывочный раствор мкл | Удалить промывочный раствор. Повторить 4 раза стадию промывки. | Хромоген-субстратный раствор мкл | Перемешать содержимое лунок (5-6) круговыми движениями по поверхности стола. | Планшет заклеить новой пленкой и инкубировать при (18-25) °С в темном месте в течение (15-25) мин без встряхивания | Стоп-реагент, мкл |
| $B_0$-$B_5$ | | 350 | | 150 | | | 100 |
| КС | | 350 | | 150 | | | 100 |
| $X_1$-$X_i$ | | 350 | | 150 | | | 100 |
| Через 15 мин измерить ОП при длине волны 450 нм | | | | | | | |

## 10 УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

10.1 Рассчитать средние арифметические значения ОП, в ОЕ, для каждой пары лунок, содержащих калибровочные пробы ($B_0$-$B_5$), контрольную сыворотку ($B_{КС}$), исследуемые образцы сыворотки крови ($B_{Xi}$).

Значение $B_0$ не должно превышать 0,2 ОЕ.

Значение $B_5$ не должно превышать 3,2 ОЕ.

10.2 Построить калибровочный график в линейных или полулогарифмических координатах, откладывая на оси ординат значения ОП, в ОЕ, а по оси абсцисс (логарифмическая) – значения концентрации свободного ПСА, в нг/мл, в соответствующих калибровочных пробах.

10.3 Определить по калибровочному графику содержание свободного ПСА, в нг/мл, в КС. Содержание свободного ПСА в КС должно соответствовать указанному на этикетке.

10.4 По калибровочному графику определить содержание свободного ПСА, в нг/мл, в исследуемых образцах сыворотки крови человека.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

## 11 АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

### 11.1 Чувствительность

Минимальная концентрация ПСА, достоверно определяемая с помощью набора, составляет не более 0,1 нг/мл.

### 11.2 Специфичность

Использование высокоочищенных моноклональных антител к ПСА и свободному ПСА обеспечивает высокую специфичность анализа.

При выполнении анализа возможна интерференция гетерофильными антителами в пробе пациента. У пациентов, имеющих постоянный контакт с животными или проходивших иммунотерапию или диагностические процедуры с использованием иммуноглобулинов или их фрагментов, могут вырабатываться антитела (т.е.HAMA), которые влияют на результат иммунного анализа. Влияние этих антител может привести к получению ошибочных результатов. Тщательно проверяйте результаты анализов пациентов с подозрением на наличие этих антител.

### 11.3 Воспроизводимость результатов

Коэффициент вариации (К.В.) результатов определений (n=10) концентрации свободного ПСА в образцах сыворотки крови с низким, средним и высоким содержанием свободного ПСА с использованием набора не превышает 8 %.

### 11.4 Тест на «открытие»

Процент «открытия» свободного ПСА, добавленного в образцы сыворотки крови с известной концентрацией свободного ПСА, составляет (80-120) %.

### 11.5 Клиническая проверка набора

Для определения концентрации свободного ПСА в сыворотке крови с помощью набора ИФА-ПСА-свободный рекомендуется выбрать те пробы, в которых концентрация общего ПСА находится в диапазоне (4-20) нг/мл, с последующим расчетом процентного соотношения ПСА своб./ПСА общ. х 100 %. У пациентов с доброкачественной гиперплазией предстательной железы подобный коэффициент обычно составляет ≥20%, снижаясь при раке предстательной железы (<15%). Обнаружение пограничного (15-20) % значения указанного соотношения сопряжено с необходимостью повторить исследования через шесть месяцев. При концентрации общего ПСА в диапазоне (4-10) нг/мл и соотношения ПСА своб./ПСА общ. <15%, возникает основание предположить наличие рака предстательной железы. Для подтверждения диагноза необходимы дополнительные клинические исследования, например, биопсия.

Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные значения референтных величин для диагностической оценки полученных результатов. Различия референтных величин могут быть связаны с особенностями населения, выбором референтных групп и используемой лабораторной техникой.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Интерпретацию данных о концентрации свободного ПСА необходимо всегда проводить с учетом общей клинической картины пациента, данных других тестов и иных клинических данных, так как повышение уровня ПСА может быть связано с иными причинами (аденома простаты, простатит и любые механические воздействия на простату).

## 12 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

12.1 Набор должен храниться при температуре (2-8)° С в течение всего срока годности.

Замораживать компоненты набора запрещается.

12.2 Срок годности набора – 12 месяцев.

12.3 Для отбора и добавления компонентов рекомендуется использовать полуавтоматические пипетки со сменными наконечниками, аттестованные на точность по значению средней дозы и воспроизводимость результатов пипетирования.

12.4 Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора и квалифицированное проведение анализа.

## Библиография


[1] Сборник нормативных документов по проблеме ВИЧ/СПИД. Утвержден приказом Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 16.12.1998 г № 351

[2] СП 17-69 РБ-98
«Общие требования по профилактике инфекционных и паразитарных заболеваний», утвержденные постановлением Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь от 29.04.1998 г № 18

[3] СП 17-129 РБ 2000
«Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности и гельминтами», утвержденные постановлением Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь от 27.07.2000 г № 40

[4] Санитарные нормы и правила «Требования к организации и проведению санитарно-противоэпидемических мероприятий, направленных на предупреждение возникновения и распространения вирусных гепатитов», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 06.02.2013 г. № 11

[5] Приказ Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 25.11.2002 г № 165 «О проведении дезинфекции и стерилизации в учреждениях здравоохранения»



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

**Пояснения к символам**

| Графический символ | Его значение и объяснение<br>СТБ ЕН 980-2006 |
|---|---|
| SN | **Серийный номер**<br>Настоящий символ сопровождается указанием серийного номера изготовителя |
|  | **Использовать до**<br>Настоящий символ сопровождается датой, указывающей, что изделие рекомендуется использовать до истечения установленного срока; дата состоит из четырех цифр, указывающих год, двух цифр, указывающих месяц, и двух цифр, указывающих день |
| IVD | **Изделие для диагностики in vitro** |
|  | **Содержимого достаточно для проведения n-тестирований**<br>Настоящий символ сопровождается указанием количества определений |
|  | **Ограничение температуры**<br>Рядом с верхней и нижней горизонтальными линиями указывается верхняя и нижняя границы температурного диапазона |
|  | **Обратитесь к руководству по эксплуатации**<br>Настоящий символ отсылает к руководству по эксплуатации для получения информации, необходимой для надлежащего применения изделия |
|  | **Изготовитель**<br>Настоящий символ сопровождается информацией о наименовании и адресе изготовителя |

 УП «ХОП ИБОХ НАН Беларуси»
ул. Академика В.Ф.Купревича, д.5, корп.3,
220141, г. Минск, Республика Беларусь
Тел./факс +375-17-369-82-57
E-mail: hopmang.bel@gmail.com http://www.hopiboh.org

По вопросам, касающимся качества набора, обращаться в БТК,
тел. +375-17-268-87-38

Инструкция проверена к.б.н. А.И.Щербань

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru