УТВЕРЖДАЮ
Директор
УП «ХОП ИБОХ НАН Беларуси»
_____ В.В.Симирский
«16» 12 2022 г.

# ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

# НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СПЕЦИФИЧЕСКОГО АНТИГЕНА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА МЕТОДОМ ИММУНОРАДИОМЕТРИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ИРМА-ПСА-СТ

ТУ РБ 100185129.051-2004, изм. 5

РАЗРАБОТАНО
Ведущий инженер-технолог
УП «ХОП ИБОХ НАН Беларуси»
_____ И.Н. Гук
«27» 12 2022 г.

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

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

## ИРМА-ПСА-СТ

## 1 НАЗНАЧЕНИЕ НАБОРА

1.1 Набор ИРМА-ПСА-СТ предназначен для определения концентрации специфического антигена предстательной железы (ПСА) в сыворотке крови человека методом иммунорадиометрического анализа. Набор предназначен для применения только «in vitro».

1.2 ПСА – гликопротеин с молекулярной массой 33-34 кДа, обладающий протеазной активностью. 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.

Иммунохимический анализ свободного и связанного с $\alpha_1$-антихимотрипсином ПСА должен быть эквимолярным - то есть, определение общего ПСА в сыворотке не должно зависеть от относительной концентрации свободного и связанного с $\alpha_1$-антихимотрипсином ПСА.

Высокая концентрация ПСА (более10 нг/мл) характерна для малигнизированных простатических тканей. Концентрация ПСА значительно повышается у пациентов с метастазами в кости. Определение уровня ПСА необходимо при наблюдении за пациентами во время лечения и ремиссии. По изменению концентрации ПСА можно определять чувствительность пораженной простатической ткани к лучевой терапии, химиотерапии и гормональному лечению. Однако интерпретацию данных о концентрации ПСА необходимо всегда проводить с учетом других клинических данных.

## 2 ХАРАКТЕРИСТИКА И ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

2.1 Состав набора:

- [$^{125}$I]-моноклональные антитела к ПСА, жидкий препарат, готов к использованию, 1 флакон, 17 мл;

- пробирки полистирольные с иммобилизованными моноклональными антителами к ПСА, готовы к использованию, 100 шт.;

-шесть калибровочных проб ПСА на основе буферной системы, в диапазоне (0; 1,0-100) нг/мл (точные значения концентраций ПСА указываются на этикетках флаконов), жидкие препараты, готовы к использованию, калибровочная проба $C_0$ – 2,0 мл, 1 флакон, калибровочные пробы ($C_1$-$C_5$) – 5 флаконов по 0,5 мл; калибровочные пробы ПСА откалиброваны относительно европейского стандарта общего ПСА.

- концентрат промывочного раствора, 1 флакон, 21 мл;

- контрольная сыворотка (КС) - жидкий препарат, содержащий известное количество ПСА, 1 флакон, 1 мл.



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

2.2 Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 43 неизвестных проб, 6 калибровочных проб и 1 пробы контрольной сыворотки, всего 100 определений.

2.3 Продолжительность анализа 2,5 ч. Диапазон определяемых концентраций ПСА – (0,2-100) нг/мл.

2.4 Набор ИРМА-ПСА-СТ обеспечивает эквимолярное определение свободной и связанной форм ПСА.

2.5 В основе определения ПСА лежит иммунорадиометрический метод в котором используются 2 моноклональных антитела к ПСА. В пробирках, покрытых моноклональными антителами инкубируют образцы и калибровочные пробы совместно с меченными [$^{125}$I]-моноклональными антителами. После инкубации жидкое содержимое пробирок удаляют и промывают пробирки для устранения несвязанных меченых антител. Связанную радиоактивность измеряют гамма-счетчиком. Строят калибровочную кривую зависимости связанной радиоактивности от концентрации ПСА в калибровочных пробах, и с ее помощью определяют концентрацию ПСА в исследуемых образцах.

## 3 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

3.1 [$^{125}$I]-моноклональные антитела к ПСА являются источником мягкого гамма-излучения. Период полураспада изотопа [$^{125}$I] – 60,1 суток.

3.2 При работе с набором следует соблюдать правила работы с радиоактивными веществами (далее - РВ) согласно требованиям Санитарных норм и правил «Требования к обеспечению радиационной безопасности персонала и населения при осуществлении деятельности по использованию атомной энергии и источников ионизирующего излучения», утверждённых Постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 137 от 31.12.2013 г.

ВНИМАНИЕ! Химическая посуда и оборудование, которые используются при работе с РВ, должны быть соответствующим образом маркированы и храниться отдельно.

Запрещается при работе с РВ иметь на рабочем месте постороннее оборудование и личные вещи.

Категорически запрещается прием пищи, использование косметических принадлежностей и курение в помещениях, предназначенных для работы с РВ.

3.3 При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые перчатки, т.к. образцы человеческой крови следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

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

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

## 4 ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

4.1 Гамма-счетчик колодезного типа;

- прибор для встряхивания пробирок вибрационного типа;
- водоструйный насос типа КМ-1230;
- магнитная мешалка;
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкостей 0,05, 0,15 и 2,0 мл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (погрешность не более 3%);
- пробирки пластмассовые вместимостью 3-5 мл с пробками – 2 шт;
- штатив для пробирок;
- стакан химический мерный вместимостью 1000 мл или



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

- колба плоскодонная вместимостью 500 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые хирургические.

## 5 ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

5.1 Компоненты набора перед использованием необходимо выдержать при температуре (18-25) °С в течение 30 мин.

5.2 Внести в колбу плоскодонную вместимостью 500 мл с помощью стакана химического мерного 400 мл дистиллированной воды, добавить содержимое флакона с концентратом промывочного раствора и тщательно перемешать на магнитной мешалке.

Подготовленный промывочный раствор может храниться при (2-8) °С в течение всего срока годности набора.

## 6 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

6.1 Пробирки с иммобилизованными моноклональными антителами к ПСА маркировать следующим образом (в дубликатах): $B_0$-$B_5$ – калибровочные пробы ПСА; $B_{КС}$- – контрольная сыворотка; Вх – исследуемые пробы сыворотки или плазмы крови;

6.2 В пробирки $B_0$-$B_5$ внести по 0,05 мл (50 мкл) соответствующих калибровочных проб. В пробирки $B_{КС}$ внести по 0,05 мл (50 мкл) контрольной сыворотоки. В пробирки Вх внести по 0,05 мл (50 мкл) исследуемых сывороток крови.

6.3 Во все пробирки внести по 0,15 мл (150 мкл) [$^{125}$I]-моноклональных антител к ПСА.

6.4 Инкубировать все пробирки в течение 2 ч при комнатной температуре (18-25)°С и постоянном встряхивании на приборе для встряхивания пробирок (не менее 350 встряхиваний в минуту).

6.5 После окончания инкубации аккуратно удалить из всех пробирок жидкость с помощью водоструйного насоса. Во все пробирки внести по 2,0 мл промывочного раствора, приготовленного по п.5.2. Сразу после внесения удалить промывочный раствор из всех пробирок с помощью водоструйного насоса. Повторить стадию промывки.

После промывки в пробирках не должно оставаться следов окрашенной жидкости.

6.6 Все пробирки поместить в гамма-счетчик и измерить скорость счета [$^{125}$I] в каждой пробирке в течение 1 мин.

6.7 Последовательность внесения реагентов в пробирки и проведение других операций анализа приведены в таблице 1. Данную последовательность не нарушать!

Таблица 1

| Пробирки (в дубликатах) | Последовательность операций | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Калибровочные пробы, контрольные и исследуемые сыворотки, мл | [$^{125}$I]-моноклональные антитела к ПСА, мл | Инкубировать в течение 2 ч при температуре (18-25) °С и постоянном встряхивании | После инкубации аккуратно удалить из всех пробирок жидкость с помощью водоструйного насоса |
| $B_0$-$B_5$ | 0,05 | 0,15 | | |
| $B_K$ | 0,05 | 0,15 | | |
| $B_X$ | 0,05 | 0,15 | | |



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

Продолжение таблицы 1

| Пробирки (в дубликатах) | Последовательность операций | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Промывочный раствор, мл | Сразу удалить раствор с помощью водоструйного насоса | Промывочный раствор, мл | Сразу удалить раствор с помощью водоструйного насоса | Измерить скорость счета [$^{125}$I] в каждой пробирке в течение 1 мин |
| $B_0$-$B_5$ | 2,0 | | 2,0 | | |
| $B_{KC}$ | 2,0 | | 2,0 | | |
| $B_X$ | 2,0 | | 2,0 | | |

## 7 РАСЧЕТЫ И ГРАФИЧЕСКИЕ ПОСТРОЕНИЯ

7.1 Найти средние арифметические значения скоростей счета [$^{125}$I] для каждой пары пробирок и рассчитать величину отношения $B_i/B_5$ для каждой калибровочной пробы, контрольной или исследуемой сыворотки,

где Bi – среднее арифметическое значение скорости счета [$^{125}$I] в пробирках $B_1$-$B_5$, $B_{KC}$ или $B_X$.

7.2 Построить калибровочную кривую в полулогарифмических координатах, откладывая на оси ординат (линейная) отношение $Bi/B_5$ , в %,, а по оси абсцисс (логарифмическая) – значения концентраций ПСА в нг/мл в соответствующих калибровочных пробах.

7.3 Определить по калибровочной кривой концентрацию ПСА, в нг/мл, в контрольных и исследуемых сыворотках крови.

## 8 АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

8.1 Специфичность

В наборе ИРМА-ПСА-СТ используются высокоспецифичные моноклональные антитела к ПСА для иммобилизации на твердофазном носителе и для мечения йодом-125.

8.2 Чувствительность анализа

Минимальная концентрация ПСА, определяемая с помощью набора, составляет 0,2 нг/мл.

8.3 Воспроизводимость результатов

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

8.4 Тест на «открытие»

Процент «открытия» ПСА, добавленного в образцы сыворотки крови с известной концентрацией ПСА, составляет 85-115 %.

8.5 Тест на параллелизм

Кривая, отражающая разведение контрольной сыворотки с высоким содержанием ПСА, параллельна стандартной калибровочной кривой.

8.6 Клиническая проверка набора

При использовании набора ИРМА-ПСА-СТ концентрация ПСА в сыворотке крови здоровых лиц находится в диапазоне (0 – 4) нг/мл. Концентрации ПСА от 4 до 10 нг/мл характерны для больных с доброкачественной гиперплазией и доброкачественной опухолью простаты, концентрации ПСА выше 10 нг/мл – для больных с вероятностью злокачественных опухолей простаты.

## 9 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

9.1 Компоненты набора должны храниться в чистом, сухом помещении при температуре (2 – 8) $^{o}$C в течение всего срока годности набора.

9.2 Срок годности набора – 60 суток.



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

9.3 Определение концентрации ПСА с помощью набора ИРМА-ПСА-СТ проводят в сыворотке крови человека.

Образцы сыворотки крови хранят при температуре (2-8) °С, если анализ проводят в течение 24 ч после взятия крови. Образцы сыворотки крови можно хранить при температуре минус 20 °С в течение более длительного времени (допускается только однократное замораживание и размораживание образцов). Размораживание образцов проводят при комнатной температуре.

Образцы сыворотки крови с предполагаемым высоким уровнем ПСА рекомендуется разводить «нулевой» калибровочной пробой ($C_0$), входящей в состав набора.

4 Исследуемые образцы сыворотки крови следует проверять на остаточную активность радионуклидов, если обследуемому лицу до отбора крови вводили радиоактивные препараты.

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

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



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

**Пояснения к символам**

| Графический символ | Его значение и объяснение |
|---|---|
| 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** |
|  | **Ограничение температуры**<br>Рядом с верхней и нижней горизонтальными линиями указывается верхняя и нижняя границы температурного диапазона |
|  | **Изготовитель**<br>Настоящий символ сопровождается информацией о наименовании и адресе изготовителя |
|  | **Обратитесь к руководству по эксплуатации**<br>Настоящий символ отсылает к руководству по эксплуатации для получения информации, необходимой для надлежащего применения изделия |
|  | **Содержимого достаточно для проведения n-тестирований**<br>Настоящий символ сопровождается указанием количества определений |
|  | **Знак радиационной опасности**<br>Настоящий символ сопровождается указанием общей активности изотопа [$^{125}$I] в наборе, кБк |

 УП «ХОП ИБОХ НАН Беларуси» ул. Академика В.Ф.Купревича, д.5, корп.3, 220141, г. Минск, Республика Беларусь
Тел./факс +375-17-272-52-57
E-mail: hopmang.bel@gmail.com, http://www.hopiboh.org
По вопросам, касающимся качества набора, обращаться в ОТК, тел. +375-17- 396-87-38



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

Приложение А
(Справочное)
Библиография

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

[2] Санитарные нормы и правила «Требования безопасности при осуществлении работ с условно патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортировки», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 06.01.2017 г. №2

[3] Приказ Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 165 от 25.11.2022 г.
«О проведение дезинфекции и стерилизации в учреждениях здравоохранения»



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