**«УТВЕРЖДАЮ»**

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»

_____ М.Д. Хусаинов

«__» _____ 2022 г.

м.п.

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 $\alpha_1$-антихимотрипсином.

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

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

## 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 пробы 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 пробах 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);

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

– конъюгат моноклональных антител к $ПСА_{общ.}$ с пероксидазой хрена, готовый для использования – 1 флакон (23 мл);
– раствор для разведения сывороток (РРС) – 1 флакон (12 мл);
– 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 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:
– пленкой для заклеивания планшета – 1 шт.;
– трафаретом для построения калибровочного графика – 1 шт.;
– ванночкой для реагента – 2 шт.;
– наконечниками для пипетки на 5 – 200 мкл – 16 шт.

## 3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

**3.1.** Специфичность. Используемые в наборе моноклональные антитела эквимолярно 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 антимышиные (HAMA), 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 расчетной величины концентрации $ПСА_{общ.}$ при разведении калибровочных проб, содержащих 40; 20; 10 нг/мл $ПСА_{общ.}$, в 2 раза, и калибровочной пробы 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 путем смешивания равных объемов контрольного образца и калибровочной пробы 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 $B_0$ калибровочной пробы 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 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.

## 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,

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

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 прием 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 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

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

- 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 620–650 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 объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 5 до 5000 мкл;
- пипетка полуавтоматическая многоканальная со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объемы 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 гемолизованную, 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. После размораживания образцы следует тщательно перемешать.

**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

### ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

**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 количе-

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

ство стрипов. Оставшиеся неиспользованными стрипы немедленно поместить вновь в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух, плотно закрыть замок.

*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 проб и контрольного образца

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

*После первого вскрытия калибровочные пробы и контрольный образец 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 чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента.

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

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

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 чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента.

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

Необходимо исключить воздействие прямого 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 набора.*

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

**Внимание!** *Для работы с раствором ТМБ необходимо использовать только одноразовые наконечники. Посуду, предназначенную для раствора ТМБ, нельзя отмывать с применением синтетических моющих средств, поскольку даже их следы ведут к неконтролируемому окислению ТМБ в ходе реакции. После работы посуду ополоснуть водой, промыть 70% этиловым спиртом и тщательно отмыть дистиллированной водой.*

**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.*

## ПРОВЕДЕНИЕ ИФА

**7.8.** Внести в соответствующие лунки в дуб-лях по 25 мкл каждой калибровочной пробы и по 25 мкл контрольного образца. В остальные лунки внести в дублях по 25 мкл анализируемых образцов сыворотки крови.

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

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

**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.

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

**7.12.** Внести во все лунки по 100 мкл раст-вора 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°С 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 желтый 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 620–650 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. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

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

**9.2.** Определить содержание $ПСА_{общ.}$ в конт-рольном образце и анализируемых пробах по калибровочному графику. В случае предварительного разведения анализируемых образцов (см. п. 10.3) 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°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.

Транспортирование наборов должно производиться всеми видами крытого транспорта с соблюдением условий и требований, установленных на данном виде транспорта, при температуре от 2 до 8°С. Допускается транспортирование набора при температуре до 25°С не более 10 сут.

**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 набора;
- калибровочные пробы, контрольный образец, конъю-гат после вскрытия флаконов хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности набора;
- 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 набора;
- промывочный раствор хранить при температуре от 2 до 8°С не более 5 суток;

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

– 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 30 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.

**10.4.** 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).

Концентрации $ПСА_{св.}$ должна быть измерена в той же анализируемой пробе сыворотки крови с применением исключительно «Набора реагентов для иммуноферментного определения концентрации свободной фракции простат-специфического антигена в сыворотке крови» («ПСА свободный – ИФА – БЕСТ», кат. № 8460) производства АО «Вектор-Бест».

**10.5.** 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».

*Нельзя использовать реагенты из наборов других фирм-производителей.*

**10.6.** Для получения надежных 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,
тел. (383) 363-20-60,
тел./факс (383) 363-35-55.
E-mail: vbobtk@vector-best.ru

## ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ

Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом.

Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

Все реагенты наборов, содержащие в своем составе материалы человеческого происхождения, инактивированы.

Антитела к ВИЧ-1,2 и вирусу гепатита С и HBsAg отсутствуют.

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

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

## 1. Обеспечение получения правильных результатов анализа

**Достоверность и воспроизводимость результатов анализа зависят от выполнения следующих основных правил:**

– не проводите ИФА в присутствии паров кислот, щелочей, альдегидов или пыли, которые могут менять ферментативную активность конъюгатов;

– ферментативная реакция чувствительна к присутствию ионов металлов, поэтому не допускайте контактов каких-либо металлических предметов с конъюгатом и раствором ТМБ;

– избегайте загрязнения компонентов набора микроорганизмами и химическими примесями, для этого используйте в работе чистую посуду и чистые одноразовые наконечники для каждого реагента, контроля, образца;

– рабочие поверхности столов, оборудования следует обрабатывать 70% этиловым спиртом (не допускается использование перекиси водорода, хлорсодержащих растворов);

– никогда не используйте одну и ту же емкость для конъюгата и раствора ТМБ;

– перед отбором раствора ТМБ из флакона необходимо протереть конус пипетки (внутреннюю и внешнюю поверхности) сначала дистиллированной водой, а затем 70% этиловым спиртом, так как малейшее загрязнение пипеток конъюгатом может привести к контаминации всего содержимого флакона;

– если допущена ошибка при внесении анализируемых образцов, нельзя, опорожнив эту лунку, вносить в нее новый образец; такая лунка бракуется.

**Качество промывки лунок планшета играет важную роль для получения правильных результатов анализа:**

– Для аспирации анализируемых образцов и последующей промывки рекомендуется использовать автоматическое или ручное промывочное устройство.

– Не допускайте высыхания лунок планшета в перерыве между завершением промывки и внесением реагентов.

– Добивайтесь полного заполнения и опорожнения всех лунок планшета в процессе промывки. Недостаточная аспирация жидкости в процессе промывки может привести к понижению чувствительности и специфичности анализа.

– Следите за состоянием промывочного устройства – регулярно (1 раз в неделю) обрабатывайте шланги и емкости 70% этиловым спиртом.

– Для предотвращения засорения игл промывочного устройства в конце рабочего дня обязательно выполните процедуру ополаскивания системы подачи жидкости дистиллированной водой.

## 2. Условия правильности работы набора

Результаты анализа исследуемых образцов учитывать, если будут выполнены следующие условия:

– соотношение оптических плотностей калибровочных проб:

– $ОП_0 < ОП_{1,5} < ОП_5 < ОП_{10} < ОП_{20} < ОП_{40}$;

– $ОП_{40} \geq 1{,}0$ ед. опт. плотн. (о.е.);

– вычисленное по калибровочному графику значение концентрации $ПСА_{общ.}$ в контрольном образце попадает в пределы, указанные на этикетке флакона.

$ОП_0$, $ОП_{1,5}$, $ОП_5$, $ОП_{10}$, $ОП_{20}$ и $ОП_{40}$ – среднее значение оптической плотности калибровочных проб 0, 1,5, 5, 10, 20 и 40 нг/мл соответственно.

## 3. Расчет результатов анализа

Построить калибровочный график зависимости оптической плотности (ось ординат) от концентрации $ПСА_{общ.}$ (ось абсцисс) в калибровочных пробах. Для этого на прилагаемом трафарете для построения графика против концентрации каждой калибровочной пробы отложить соответствующее ей среднее значение оптической плотности. Последовательно соединить полученные точки отрезками прямых линий.

Пример калибровочного графика представлен на рисунке.

Определить концентрацию $ПСА_{общ.}$ в конт-рольном образце и анализируемых образцах по калибровочному графику. Для этого на оси ординат отметить среднее значение ОП анализируемого образца. Провести прямую линию, параллельно оси абсцисс, до пересечения с калибровочным графиком. От точки пересечения опустить перпендикуляр на ось абсцисс. По полученной точке пересе-

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

чения определить значение концентрации $ПСА_{общ.}$ в образце.

При использовании для расчетов концентраций компьютерного или встроенного в спектрофотометр программного обеспечения в настройках выбрать метод, соответствующий кусочно-линейной аппроксимации.

## 4. Краткая схема проведения ИФА для набора реагентов «ПСА общий – ИФА – БЕСТ» (вариант 1)

*Использовать только после внимательного ознакомления с инструкцией!*

**Внести:** по 25 мкл калибровочных проб и контрольного образца в дуб-лях;
по 25 мкл анализируемых образцов в дублях.

**Внести:** по 200 мкл конъюгата.

**Инкубировать:** 60 мин, 37°С, 650 об/мин.

**Промыть:** промывочным раствором,
350 мкл, 5 раз.

**Внести:** по 100 мкл раствора тетраметилбензидина.

**Инкубировать:** 15 мин, 37°С, 650 об/мин,
в темноте.

**Внести:** по 100 мкл стоп-реагента.

**Измерить:** ОП при 450 нм / референсная длина волны 620–650 нм.

## 5. Графические символы

| | | | |
|---|---|---|---|
| REF | Номер по каталогу | IVD | Медицинское изделие для диагностики *in vitro* |
| Σ n | Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов | NON STERILE | Не стерильно |
| LOT | Код партии | | Температурный диапазон |
| | Изготовитель | | Дата изготовления |
| | Использовать до … | | Обратитесь к инструкции по применению |
| | Осторожно! Обратитесь к Инструкции по применению | YYYY-MM-DD YYYY-MM | Дата в формате Год-Месяц-День Год-Месяц |

**Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.:** (383) 363-23-77.

**Таблица расхода компонентов набора реагентов**

| Кол-во используемых стрипов | Конъюгат, мл | Раствор ТМБ, мл | Промывочный раствор | |
|---|---|---|---|---|
| | | | ФСБ-Т, концентрат, мл | Дистил. вода, мл |
| 2 | 3,6 | 2,0 | 4,0 | до 100 |
| 3 | 5,5 | 3,0 | 6,0 | до 150 |
| 4 | 7,0 | 4,0 | 8,0 | до 200 |

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

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 5 | 9,0 | 5,0 | 10,0 | до 250 |
| 6 | 11,0 | 6,0 | 12,0 | до 300 |
| 7 | 12,0 | 7,0 | 14,0 | до 350 |
| 8 | 14,0 | 8,0 | 16,0 | до 400 |
| 9 | 16,0 | 9,0 | 18,0 | до 450 |
| 10 | 18,0 | 10,0 | 20,0 | до 500 |
| 11 | 20,0 | 11,0 | 22,0 | до 550 |
| 12 | 22,0 | 12,0 | 24,0 | до 600 |

* ГОСТ Р 51352-99.

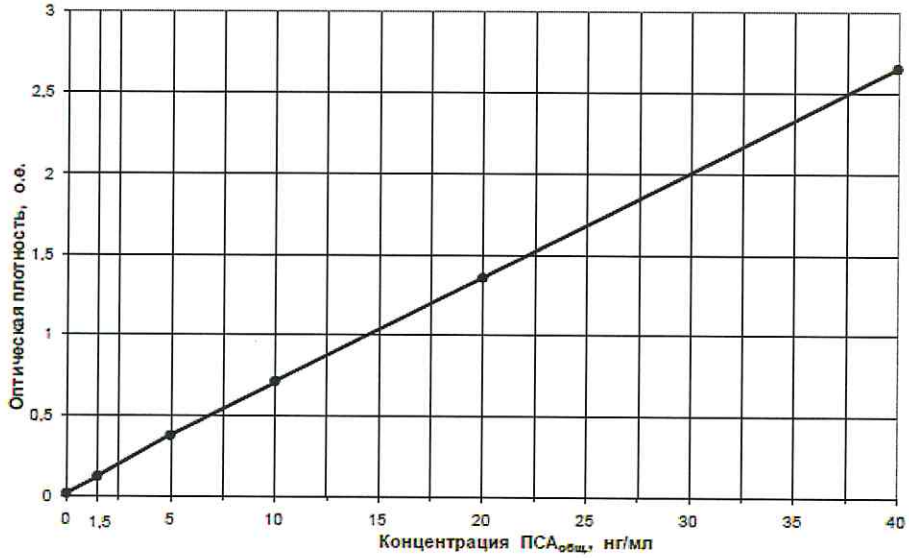



*Рис.* Пример зависимости оптической плотности от концентрации ПСА$_{общ}$ в калибровочных пробах.

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

**«УТВЕРЖДАЮ»**
Генеральный директор
АО «Вектор-Бест»
_____ М.Л. Хусаинов
«05» _____ 2022 г.
М.П.

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 $\alpha_1$-антихимотрипсином.

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

**1.4.** Набор рассчитан на проведение анализа в дублях 41 неизвестного образца, 6 калиб-ровочных проб и 1 контрольного образца, всего 96 определений при использовании всех стрипов планшета.

## 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 пробы 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 пробах могут несколько отличаться от ука-

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

занных 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 (ФСБ-Т×25) – 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:
- пленкой 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 эквимолярно 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 антимышиные (HAMA), 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 расчетной величины концентрации ПСАобщ. при разведении калибровочных проб, содержащих 5; 2,5; 1 нг/мл $ПСА_{общ.}$ в 2 раза, и калибровочной пробы 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 путем смешивания равных объемов контрольного образца и калибровочной пробы 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 $B_0$ калибровочной пробы 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 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.

## 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».

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

**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 прием 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 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

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

- 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 620–655 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 объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 5 до 5000 мкл;
- пипетка полуавтоматическая многоканальная со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объемы 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 гемолизованную, 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. После размораживания образцы следует тщательно перемешать.

**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

### ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

**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 количе-

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

ство стрипов. Оставшиеся неиспользованными стрипы немедленно поместить вновь в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух, плотно закрыть замок.

*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 проб и контрольного образца

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

*После первого вскрытия калибровочные пробы и контрольный образец 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 чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента.

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

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

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 чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента.

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

Необходимо исключить воздействие прямого 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 набора.*

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

**Внимание!** *Для работы с раствором ТМБ необходимо использовать только одноразовые наконечники. Посуду, предназначенную для раствора ТМБ, нельзя отмывать с применением синтетических моющих средств, поскольку даже их следы ведут к неконтролируемому окислению ТМБ в ходе реакции. После работы посуду ополоснуть водой, промыть 70% этиловым спиртом и тщательно отмыть дистиллированной водой.*

**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.*

## ПРОВЕДЕНИЕ ИФА

**7.8.** Внести в соответствующие лунки в дуб-лях по 50 мкл каждой калибровочной пробы и по 50 мкл контрольного образца. В остальные лунки внести в дублях по 50 мкл анализируемых образцов сыворотки крови.

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

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

**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 поместить ее в сосуд с дезинфицирующим раствором. С помощью промывочного устройства промыть лунки планшета 5 раз промывочным раствором (п. 7.3), чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок каждого стрипа. В каждую лунку вносить не менее 350 мкл жидкости в процессе каждого цикла промывки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. *Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого цикла промывки.* По окончании промывки остатки влаги из лунок тщательно удалить, постукивая перевернутым планшетом по фильтровальной бумаге.

**7.12.** Внести во все лунки по 100 мкл раст-вора 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 желтый 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 620–655 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. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

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

**9.2.** Определить содержание $ПСА_{общ.}$ в конт-рольном 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.

Транспортирование наборов должно производиться всеми видами крытого транспорта с соблюдением условий и требований, установленных на данном виде транспорта, при температуре от 2 до 8°С. Допускается транспортирование набора при температуре до 25°С не более 10 сут.

**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 набора;
- калибровочные пробы, контрольный образец, конъюгат после вскрытия флаконов хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности набора;
- 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином, 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 набора;
- 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.

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

**10.3.** 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».

*Нельзя использовать реагенты из наборов других фирм-производителей.*

**10.4.** Для получения надежных 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,
тел. (383) 363-20-60,
тел./факс (383) 363-35-55.
E-mail: vbobtk@vector-best.ru

## ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ

Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом.

Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

Все реагенты наборов, содержащие в своем составе материалы человеческого происхождения, инактивированы.

Антитела к ВИЧ-1,2 и вирусу гепатита С и HBsAg отсутствуют.

Высокая аналитическая чувствительность набора реагентов «ПСА общий – ИФА – БЕСТ» (вариант 2) позволяет использовать его в мониторинге уровня ПСА у пациентов после проведенной радикальной простатэктомии для ранней диагностики рецидива и метастазирования. Кроме того, набор реагентов «ПСА общий – ИФА – БЕСТ» (вариант 2) может применяться для проведения скрининговых исследований.

Если концентрация $ПСА_{общ.}$ в анализируемых образцах сыворотки крови превышает 5 нг/мл, для определения концентрации общего простат-специфического антигена необходимо использовать набор реагентов «ПСА общий – ИФА – БЕСТ» (вариант 1), номер Т-8458 по каталогу АО «Вектор-Бест».

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

### 1. Обеспечение получения правильных результатов анализа

**Достоверность и воспроизводимость результатов анализа зависят от выполнения следующих основных правил:**

– не проводите ИФА в присутствии паров кислот, щелочей, альдегидов или пыли, которые могут менять ферментативную активность конъюгатов;

– ферментативная реакция чувствительна к присутствию ионов металлов, поэтому не допус-

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

кайте контактов каких-либо металлических предметов с конъюгатом и раствором ТМБ;

– избегайте загрязнения компонентов набора микроорганизмами и химическими примесями, для этого используйте в работе чистую посуду и чистые одноразовые наконечники для каждого реагента, контроля, образца;

– рабочие поверхности столов, оборудования следует обрабатывать 70% этиловым спиртом (не допускается использование перекиси водорода, хлорсодержащих растворов);

– никогда не используйте одну и ту же емкость для конъюгата и раствора ТМБ;

– перед отбором раствора ТМБ из флакона необходимо протереть конус пипетки (внутреннюю и внешнюю поверхности) сначала дистиллированной водой, а затем 70% этиловым спиртом, так как малейшее загрязнение пипеток конъюгатом может привести к контаминации всего содержимого флакона;

– если допущена ошибка при внесении анализируемых образцов, нельзя, опорожнив эту лунку, вносить в нее новый образец; такая лунка бракуется.

**Качество промывки лунок планшета играет важную роль для получения правильных результатов анализа:**

– Для аспирации анализируемых образцов и последующей промывки рекомендуется использовать автоматическое или ручное промывочное устройство.

– Не допускайте высыхания лунок планшета в перерыве между завершением промывки и внесением реагентов.

– Добивайтесь полного заполнения и опорожнения всех лунок планшета в процессе промывки. Недостаточная аспирация жидкости в процессе промывки может привести к понижению чувствительности и специфичности анализа.

– Следите за состоянием промывочного устройства – регулярно (1 раз в неделю) обрабатывайте шланги и емкости 70% этиловым спиртом.

– Для предотвращения засорения игл промывочного устройства в конце рабочего дня обязательно выполните процедуру ополаскивания системы подачи жидкости дистиллированной водой.

## 2. Условия правильности работы набора

Результаты анализа исследуемых образцов учитывать, если будут выполнены следующие условия:

– соотношение оптических плотностей калибровочных проб: $ОП_0 < ОП_{0,15} < ОП_{0,5} < ОП_1 < ОП_{2,5} < ОП_5$;

– оптическая плотность калибровочной пробы 5 нг/мл не менее 1,0 ед. опт. плотн. (о.е.);

– вычисленное по калибровочному графику значение концентрации $ПСА_{общ.}$ в контрольном образце попадает в пределы, указанные на этикетке флакона.

$ОП_0$, $ОП_{0,15}$, $ОП_{0,5}$, $ОП_1$, $ОП_{2,5}$ и $ОП_5$ – среднее значение оптической плотности калибровочных проб 0; 0,15; 0,5; 1; 2,5 и 5 нг/мл соответственно.

## 3. Расчет результатов анализа

Построить калибровочный график зависимости оптической плотности (ось ординат) от концентрации $ПСА_{общ.}$ (ось абсцисс) в калибровочных пробах. Для этого на прилагаемом трафарете для построения графика против концентрации каждой калибровочной пробы отложить соответствующее ей среднее значение оптической плотности. Последовательно соединить полученные точки отрезками прямых линий.

Пример калибровочного графика представлен на рисунке.

Определить концентрацию $ПСА_{общ.}$ в конт-рольном образце и анализируемых образцах по калибровочному графику. Для этого на оси ординат отметить среднее значение ОП анализируемого образца. Провести прямую линию, параллельно оси абсцисс, до пересечения с калибровочным графиком. От точки пересечения опустить перпендикуляр на ось абсцисс. По полученной точке пересечения определить значение концентрации $ПСА_{общ.}$ в образце.

При использовании для расчетов концентраций компьютерного или встроенного в спектрофотометр программного обеспечения в настройках выбрать метод, соответствующий кусочно-линейной аппроксимации.

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

## 4. Краткая схема проведения ИФА для набора реагентов «ПСА общий – ИФА – БЕСТ» (вариант 2)

*Использовать только после внимательного ознакомления с инструкцией!*

**Внести:** по 50 мкл калибровочных проб и контрольного образца в дуб-лях;
по 50 мкл анализируемых образцов в дублях.

**Внести:** по 100 мкл конъюгата.

**Инкубировать:** 60 мин, 37°С, 650 об/мин.

**Промыть:** промывочным раствором,
350 мкл, 5 раз.

**Внести:** по 100 мкл раствора тетраметилбензидина.

**Инкубировать:** 15 мин, 37°С, 650 об/мин,
в темноте.

**Внести:** по 100 мкл стоп-реагента.

**Измерить:** ОП при 450 нм / референсная длина волны 620–655 нм.

## 5. Графические символы

| | | | |
|---|---|---|---|
| REF | Номер по каталогу | IVD | Медицинское изделие для диагностики *in vitro* |
| Σ n | Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов | | Не стерильно |
| LOT | Код партии | | Температурный диапазон |
| | Изготовитель | | Дата изготовления |
| | Использовать до ... | | Обратитесь к инструкции по применению |
| | Осторожно! Обратитесь к Инструкции по применению | YYYY-MM-DD YYYY-MM | Дата в формате Год-Месяц-День Год-Месяц |

**Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.:** (383) 363-23-77.

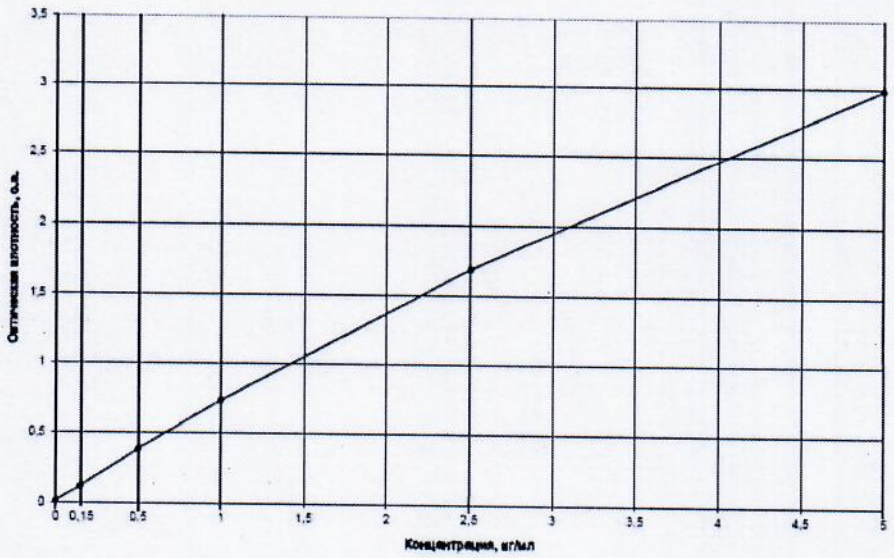



*Рис.* Пример зависимости оптической плотности от концентрации $ПСА_{общ}$ в калибровочных пробах.–

* ГОСТ Р 51352-99.

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

**Таблица расхода компонентов набора реагентов**

| Кол-во используемых стрипов | Конъюгат, мл | Раствор ТМБ плюс, мл | Промывочный раствор | |
|---|---|---|---|---|
| | | | ФСБ-Т, концентрат, мл | Дистил. вода, мл |
| 2 | 2,0 | 2,0 | 4,0 | до 100 |
| 3 | 3,0 | 3,0 | 6,0 | до 150 |
| 4 | 4,0 | 4,0 | 8,0 | до 200 |
| 5 | 5,0 | 5,0 | 10,0 | до 250 |
| 6 | 6,0 | 6,0 | 12,0 | до 300 |
| 7 | 7,0 | 7,0 | 14,0 | до 350 |
| 8 | 8,0 | 8,0 | 16,0 | до 400 |
| 9 | 9,0 | 9,0 | 18,0 | до 450 |
| 10 | 10,0 | 10,0 | 20,0 | до 500 |
| 11 | 11,0 | 11,0 | 22,0 | до 550 |
| 12 | 12,0 | 12,0 | 24,0 | до 600 |

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