«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»

_____ М.Д. Хусаинов

«07» октября 2022 г.

м.п.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов

для иммуноферментного определения концентрации свободной фракции

простат-специфического антигена в сыворотке крови

(ПСА СВОБОДНЫЙ – ИФА – БЕСТ)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для иммуноферментного определения концентрации свободной фракции простат-специ-фического антигена в сыворотке крови «ПСА свободный – ИФА – БЕСТ» предназначен для определения концентрации свободной фракции простат-специфического антигена ($ПСА_{св.}$) 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 a_1–антихимотрипсином.

Диагностически значимым является определение соотношения концентрации свободной фракции ПСА и концентрации общего ПСА, которое может использоваться для дифференциальной диагностики рака простаты и доброкачественной гиперплазии предстательной железы у пациентов с повышенным содержанием общего ПСА (от 4 до 10 нг/мл – согласно изданию «Онкоурология: национальное руководство» (под ред. акад. РАМН В.И. Чисова, проф. Б.Я. Алексеева, проф. И.Г. Русакова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012) и рекомендациям европейской ассоциации урологов по раку предстательной железы, ISBN 978-90-79754-65-6). Доля свободной фракции ПСА выше в случае доброкачественной гиперплазии в сравнении с долей свободной фракции ПСА при раке предстательной железы.

1.3. В комплексе с другими диагностическими методами количественное определение содержания $ПСА_{св.}$ в сыворотке крови может быть использовано для диагностики заболеваний простаты, мониторинга терапии и прогноза развития опухоли простаты.

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

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Метод определения основан на двухстадийном «сэндвич»-варианте твердофазного им-муноферментного анализа с использованием моноклональных антител к $ПСА_{св.}$. В лунках планшета при добавлении исследуемого образца во время первой инкубации происходит связывание молекулы $ПСА_{св.}$ с моноклональными антителами, иммобилизованными на внутренней поверхности лунок. Во время второй инкубации конъюгат моноклональных антител к $ПСА_{св.}$ с пероксидазой связывается с $ПСА_{св.}$, иммобилизованным в ходе первой инкубации. Количество связавшегося конъюгата определяют цветной реакцией с использованием субстрата пероксидазы – перекиси водорода и хромогена – тетраметилбензидина. Интенсивность окрашивания прямо пропорциональна концентрации $ПСА_{св.}$ в анализируемом образце. После измерения величины оптической плотности раствора в лунках на основании калибровочного графика рассчитывается концентрация $ПСА_{св.}$ в анализируемых образцах.

2.2. Состав набора

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

В состав набора входят:

- планшет разборный (12 восьмилуночных стрипов) с иммобилизованными на внутренней поверхности моноклональными антителами к $ПСА_{св.}$, готовый для использования – 1 шт.;
- калибровочные образцы, содержащие известные количества $ПСА_{св.}$ – 0; 0,25; 0,50; 1,0; 2,50; 5,0 нг/мл; аттестованные по WHO International Standard Prostate-Specific Antigen Free NIBSC 96/668; концентрации $ПСА_{св.}$ в калибровочных образцах могут несколько отличаться от указанных величин, точные величины указаны на этикетках флаконов, готовые для использования – 6 флаконов (по 0,7 мл);
- контрольный образец на основе сыворотки крови человека с известным содержанием $ПСА_{св.}$, аттестованный по WHO International Standard Prostate-Specific Antigen Free NIBSC 96/668, готовый для использования – 1 флакон (0,7 мл);
- конъюгат моноклональных антител к $ПСА_{св.}$ с пероксидазой хрена, готовый для использования – 1 флакон (13,0 мл);
- раствор для разведения сывороток (РРС) – 1 флакон (12,0 мл);
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 1 флакон (28,0 мл);
- раствор тетраметилбензидина плюс (раствор ТМБ плюс), готовый для использования – 1 флакон (13,0 мл);
- стоп-реагент, готовый для использования – 1 флакон (12,0 мл);

Принадлежности:

- пленка для заклеивания планшета – 2 шт.;
- трафарет для построения калибровочного графика – 1 шт.;
- ванночка для реагента – 2 шт.;
- наконечники для пипетки на 5–200 мкл – 16 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Используемые в наборе моноклональные антитела обеспечивают специфическое взаимодействие с ПСА свободным. Не обнаружено перекрестной реакции моноклональных антител с другими онкомаркерами: АФП, СА 125, СА 15-3, СА 19-9.

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 содержания $ПСА_{св.}$ в контрольном образце не превышает 8%.

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

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

3.6.* Чувствительность. Минимально определяемая концентрация $ПСА_{св.}$, рассчитанная на основании среднего арифметического значения оптической плотности калибровочного образца B_0 плюс 2s (s – среднее квадратичное отклонение от среднего арифметического значения B_0) не превышает 0,05 нг/мл.

3.7. Клиническая проверка. Концентрации $ПСА_{общ.}$ и $ПСА_{св.}$ и их соотношение измеряли у 56 пациентов с диагностированной доброкачественной гиперплазией предстательной железы (ДГПЖ) и у 48 пациентов с диагностированным раком предстательной железы (РПЖ). Концентрация $ПСА_{общ.}$ у всех пациентов превышала 4 нг/мл.

Диагноз	Количество па-	Доля $ПСА_{св.}$,
ДГПЖ	56	> 15
РПЖ	48	< 10

3.8. Рекомендуется в каждой лаборатории при использовании набора уточнить пороговые значения соотношений концентраций $ПСА_{св.}$ и $ПСА_{общ.}$ у обследуемого контингента людей.

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

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2б (Приказ МЗ РФ от 06.06.12 № 4н).

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

4.3. При работе с исследуемыми образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом. Основные правила работы изложены в «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР 17 января 1991 г. и в методических указаниях МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

4.4. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы сыворотки крови человека следует рассматривать как потенциально инфекционные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатита или возбудителей других инфекций.

4.5. Химическая посуда и оборудование, которые используются в работе с набором, должны быть соответствующим образом промаркированы и храниться отдельно.

4.6. Запрещается 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. При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами». Дезинфекцию наборов реагентов следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ:

- 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.

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

6.2. Образцы сыворотки крови можно хранить при температуре от 2 до 8°С не более 24 часов 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 (18–25°С) в течение времени не менее 30 мин.

7.2. Подготовка планшета

Вскрыть пакет выше замка и установить на рамку необходимое для проведения анализа количество стрипов. Оставшиеся неиспользованными стрипы немедленно поместить вновь в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух, плотно закрыть замок.

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 концентрата фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) и добавить соответствующее количество дистиллированной воды.

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

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

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

7.4. Приготовление калибровочных и контрольного образцов

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

После первого вскрытия калибровочные и контрольный образцы можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности набора.

7.5. Подготовка конъюгата

Конъюгат готов к использованию.

Необходимое количество конъюгата отобрать в 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 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 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 нако-*

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

нечники. 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 во все лунки по 50 мкл раствора для разведения сывороток (РРС).

7.9. Внести в соответствующие лунки в дублях по 50 мкл каждого калибровочного образца 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 условии использования всех лунок планшета.

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 коньюгата (см п. 7.5.).

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

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

7.14. По окончании второй инкубации удалить содержимое лунок и промыть планшет 5 раз промывочным раствором так, как это указано в п. 7.11.

7.15. Внести во все лунки по 100 мкл раст-вора ТМБ 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 ТМБ плюс использовать ванночку для реагента и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

7.16. 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).

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

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

9.1. Вычислить среднее арифметическое значение оптической плотности для каждой пары лунок, содержащих калибровочные образцы.

9.2. Построить в линейных координатах калибровочный график зависимости средних арифметических значений оптической плотности (ед. опт. плотн.) от концентрации $ПСА_{св.}$ в калибровочных образцах (нг/мл).

9.2. Определить содержание $ПСА_{св.}$ в контрольном образце и анализируемых образцах по ка-

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

либровочному графику. Вычислить среднее арифметическое значение концентрации для каждой пары лунок, содержащих анализируемые образцы. В случае предварительного разведения анализируемых образцов (п. 11.4.) необходимо полученную концентрацию $ПСА_{св.}$ умножить на фактор разведения.

10. РАСЧЕТ ЗНАЧЕНИЯ ДОЛИ СВОБОДНОЙ ФРАКЦИИ ПСА

10.1. Рассчитать значение доли свободной фракции ПСА по формуле:

$$\frac{\textbf{концентрация } ПСА_{св.}}{\textbf{концентрация } ПСА_{общ.}} \times 100,\%$$

Значение доли $ПСА_{св.}$ менее 10% с достаточно высокой вероятностью свидетельствует о наличии злокачественных новообразований.

Если доля $ПСА_{св.}$ выше 15%, высока вероятность доброкачественной гиперплазии простаты.

При значении этого соотношения в диапазоне от 10 до 15% необходимо дальнейшее дообследование пациента.

Для получения корректных значений соотношения $ПСА_{св.}$ и $ПСА_{общ.}$ необходимо измерять их концентрацию одномоментно в одном и том же образце, не допуская их повторного замораживания и размораживания, при этом концентрации $ПСА_{общ.}$ должна быть измерена исключительно с применением «Набора реагентов для определения концентрации общего простат-специфического антигена в сыворотке крови человека (ПСА общий – ИФА – БЕСТ) производства АО «Вектор-Бест».

11. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

11.1. Набор реагентов ПСА свободный – ИФА – БЕСТ должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности (12 мес).

11.2. 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.

Замораживание компонентов набора не допускается.

11.3. 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 образцы, контрольный образец, конъюгат после вскрытия флаконов хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности набора;
- 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;
- построение калибровочного графика необходимо проводить для каждого независимого эксперимента, а также рекомендуется определение концентрации $ПСА_{св.}$ в контрольном образце.

11.4. Если концентрация $ПСА_{св.}$ в анализируемых образцах сыворотки крови превышает 5 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.

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

Нельзя использовать реагенты из наборов других фирм-производителей.

11.6. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

11.7. Не допускается применение серии набора по истечении срока ее годности.

12. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

12.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной

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

и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

12.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

12.3. 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 свободный – ИФА – БЕСТ»,
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 $ПСА_{св.}$ 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 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 вне-

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

сением 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 образцов:

– $ОП_0 < ОП_{0,25} < ОП_{0,5} < ОП_{1,0} < ОП_{2,5} < ОП_{5,0}$;

– $ОП_{5,0} \geq 1,0$ ед. опт. плотн. (о.е.);

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

$ОП_0$, $ОП_{0,25}$, $ОП_{0,5}$, $ОП_{1,0}$, $ОП_{2,5}$ и $ОП_{5,0}$ – среднее значение оптической плотности калибровочных образцов 0; 0,25; 0,5; 1,0; 2,5; 5,0 нг/мл соответственно.

3. Расчет результатов анализа

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

Пример калибровочного графика представлен на рисунке.

Определить концентрацию $ПСА_{св.}$ 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 $ПСА_{св.}$ 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 свободный – ИФА – БЕСТ»

Использовать только после внимательного ознакомления с инструкцией!

Внести:	по 50 мкл РРС.
Внести:	по 50 мкл контрольного образца и калибровочных образцов в дублях; по 50 мкл исследуемых сывороток в дублях.
Инкубировать:	60 мин, 37°С, 650 об/мин.
Промыть:	промывочным раствором, 350 мкл, 5 раз.
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.

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

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	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.**

---

* по ГОСТ Р 51352-2013.

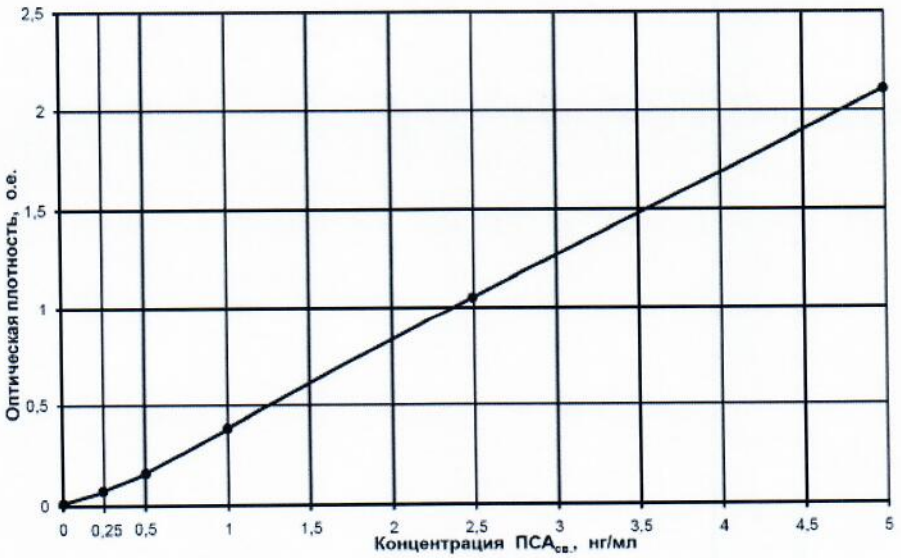


Рис. Пример зависимости оптической плотности от концентрации ПСА$_{св.}$ в калибровочных образцах.

Таблица расхода компонентов набора реагентов

Кол-во используемых стрипов	Конъюгат, мл	Раствор ТМБ плюс, мл	Промывочный раствор	
			ФСБ-Т×25, 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

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

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