Версия 1-2019

«УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный Директор
АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»

_____ А.Г. Плехов

«__» _____ 2019 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов
для количественного иммуноферментного определения
общего простат-специфического антигена
в сыворотке крови человека

«Общий ПСА-Имаксиз (IMAXYZ)»
ТУ 21.20.23-082-94568735-2019

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для количественного иммуноферментного определения общего простат-специфического антигена в сыворотке крови человека «Общий ПСА-Имаксиз (IMAXYZ)» предназначен для количественного определения концентрации общего простат-специфического антигена в сыворотке крови человека в клинической лабораторной диагностике, клинической медицине, медицинской биохимии и научно-исследовательской практике. Набор реагентов «Общий ПСА-Имаксиз (IMAXYZ)» предназначен для лабораторной in vitro диагностики и должен применяться специалистами, имеющими необходимую квалификацию в данной области в соответствии с требованиями документов, регламентирующих деятельность лаборатории.

1.2. Показания к использованию набора — обследование мужчин с целью выявления наличия факторов риска возникновения рака предстательной железы (РПЖ), для осуществления мониторинга течения и оценки эффективности терапии заболеваний предстательной железы. Противопоказаний нет.

Функциональное назначение набора – определение концентрации общего простат-специфического антигена в сыворотке крови, предназначенное для скрининга новообразований предстательной железы (ПЖ), оценки эффективности лечения и диагностики рецидивов РПЖ.

1.3. Простат-специфический антиген (ПСА) синтезируется в предстательной железе и представляет собой гликопротеин с молекулярной массой около 32 000 Да, состоящий из одной полипептидной цепи длиной в 237 аминокислот. ПСА является сериновой протеазой семейства калликреинов с химотрипсин-подобной активностью. Его экзокринная функция заключается в разжижении эякулята и увеличении подвижности сперматозоидов. В нормальных условиях ПСА секретируется люминальными эпителиальными клетками и затем выводится через каналец простаты в семенную жидкость, где его концентрация может в миллионы раз превышать сывороточную (от 0,24 до 5,50 г/л, среднее значение 1,92 г/л). ПСА может также обнаруживаться при раке груди, неоплазмозах слюнных желез, в периуретральных и анальных железах, клетках уретры у мужчин, молочной железе. В низких концентрациях ПСА присутствует в крови и моче. Увеличение концентрации ПСА в сыворотке крови свидетельствует о патологиях простаты, таких, как простатит, инфаркт простаты, доброкачественная гиперплазия и злокачественное перерождение ткани простаты.

В крови ПСА встречается в 3 основных формах. Основной его формой (70–90% общего ПСА) является комплекс ПСА с ингибитором сериновых протеаз – α-1-антихимотрипсином (АХТ).

Несвязанный, или свободный ПСА (10–30% общего ПСА) является другой формой ПСА в сыворотке, которую можно обнаружить иммунологическими методами. Основная часть свободного ПСА в сыворотке является ферментативно неактивной и не может образовывать комплексы с ингибиторами протеаз. Соотношение свободного ПСА и комплекса ПСА-АХТ может быть различным для разных пациентов. Доля свободного ПСА выше в случае доброкачественной гиперплазии в сравнении с раком простаты.

Третья форма ПСА – его комплекс с α-2-макроглобулином (АМГ) не определяется в иммуноанализе из-за блокировки макроглобулином специфических сайтов связывания ПСА.

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

Помимо АХТ и АМГ, ПСА может также связываться с некоторыми другими ингибиторами сериновых протеаз, такими как PZP (pregnancy zone protein), PCI (protein C inhibitor) и α-1-антитрипсин, но доля этих комплексов в крови невелика и в диагностических процедурах ими можно пренебречь.

Определение концентрации ПСА в сыворотке крови, наряду с пальцевым ректальным исследованием (ПРИ) и трансректальным ультразвуковым исследованием (ТРУЗИ) предстательной железы, является важным критерием ранней диагностики рака предстательной железы.

1.4. Набор реагентов «Общий ПСА-Имаксиз (IMAXYZ)» может быть использован для обследования мужской части населения без градации по демографическому или популяционному признаку.

1.5. В состав набора входят следующие компоненты:

- микропланшет – 1 упаковка;
- конъюгат – 1 флакон (14 мл);
- комплект калибровочных проб – 6 флаконов (по 0,5 мл);
- контрольная сыворотка – 1 флакон (0,5 мл);
- Буфер Р – 1 флакон (3,0 мл);
- раствор ТМБ – 1 флакон (14 мл);
- стоп-реагент – 1 флакон (14 мл);
- Буфер П –1 флакон (20 мл);
- пакет закрывающийся – 1 шт;
- пленка для заклеивания микропланшета – 1 шт;
- ванночки для внесения реагентов – 2 шт;
- одноразовые наконечники для дозаторов – 16 шт.

1.6. Набор «Общий ПСА-Имаксиз (IMAXYZ)» рассчитан на проведение анализа в дубликатах 40 неизвестных, 6 калибровочных проб, одной пробы контрольной сыворотки и одной пробы для определения оптической плотности раствора тетраметилбензидина (ТМБ), всего 96 определений при использовании всех стрипов одновременно.

В случае дробного применения необходима обязательная постановка всех калибровочных проб для каждого отдельного анализа.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

2.1. В наборе «ПСА-Имаксиз (IMAXYZ)» использована технология количественного «сэндвич»-варианта твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с высокоаффинной стрептавидин-биотиновой системой. Для реализации этого варианта на внутренней поверхности лунок микропланшета иммобилизован стрептавидин, с которым связаны биотинилированные моноклональные антитела к ПСА. Другие моноклональные антитела к ПСА конъюгированы с пероксидазой. Во время инкубации происходит связывание ПСА, содержащегося в образцах, контрольных материалах и калибровочных пробах с моноклональными антителами, иммобилизованными на внутренней поверхности лунок и взаимодействие связавшегося ПСА с моноклональными антителами, меченными пероксидазой. Оба моноклональных антитела имеют разную эпитопную специфичность к ПСА, что позволяет использовать их для реализации одностадийного высокоспецифичного анализа.

По окончании инкубации во время промывки происходит удаление всех не связавшихся компонентов из зоны реакции.

Во время инкубации с раствором ТМБ происходит окрашивание в синий цвет раствора в лунках с пробами, содержавшими ПСА. Степень окраски прямо пропорциональна концентрации ПСА в анализируемых образцах, калибровочных пробах и контрольных материалах.

После остановки реакции стоп-реагентом (цвет раствора меняется с синего на желтый) и измерения оптической плотности раствора в лунках проводится расчет концентрации общего ПСА в исследуемых образцах и контрольных материалах по калибровочному графику. Калибровочный график строится на основании результатов анализа калибровочных проб, участвующих в анализе одновременно с исследуемыми образцами.

2.2. Набор «Общий ПСА-Имаксиз (IMAXYZ)» может быть использован на фотометрах вертикального сканирования, позволяющих производить измерение оптической плотности раствора в лунках при 450 нм. Для проведения анализа необходим автоматический промыватель для планшетов или дозирующее устройство и прибор для встряхивания микропланшета (термостатируемый шейкер), позволяющий производить встряхивание со скоростью 500–800 об/мин при температуре +37 °С. Набор может быть использован на автоматических иммуноферментных анализаторах. Программы адаптации на автоматические анализаторы предоставляются по запросу.

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

3. СОСТАВ НАБОРА

МИКРОПЛАНШЕТ **1 упаковка**

Разборный полистирольный микропланшет со стрипами, разделяемыми на отдельные лунки, с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок мышиными моноклональными антителами к ПСА, маркирован «Микропланшет с моноклональными антителами к ПСА».

КОНЪЮГАТ **флакон, 14 мл**

Конъюгат моноклональных антител к ПСА с пероксидазой, маркирован «Конъюгат».

КАЛИБРОВОЧНЫЕ ПРОБЫ (КП) **комплект**

Комплект калибровочных проб на основе сыворотки крови или водно-солевого буфера, аттестованных по международному стандарту WHO NIBSC 96/670, содержащих известные количества общего ПСА.

КП № 1 – 1 флакон, 0,5 мл, содержащий известное количество общего ПСА маркирован «Калибровочная проба № 1».

КП № 2 – 1 флакон, 0,5 мл, содержащий известное количество общего ПСА, маркирован «Калибровочная проба № 2».

КП № 3 – 1 флакон, 0,5 мл, содержащий известное количество общего ПСА, маркирован «Калибровочная проба № 3».

КП № 4 – 1 флакон, 0,5 мл, содержащий известное количество общего ПСА, маркирован «Калибровочная проба № 4».

КП № 5 – 1 флакон, 0,5 мл, содержащий известное количество общего ПСА, маркирован «Калибровочная проба № 5».

КП № 6 – 1 флакон, 0,5 мл, содержащий известное количество общего ПСА, маркирован «Калибровочная проба № 6».

КОНТРОЛЬНАЯ СЫВОРОТКА (КС) **1 флакон, 0,5 мл**

Контрольная сыворотка, изготовленная на основе сыворотки крови или водно-солевого буфера, аттестованная по международному стандарту WHO NIBSC 96/670, содержащая известное количество общего ПСА, маркирована «Контрольная сыворотка».

Примечание

Точные номиналы калибровочных проб и контрольной сыворотки указаны на этикетках флаконов и в паспорте к набору реагентов.

БУФЕР Р **1 флакон, 3,0 мл**

Водно-солевой раствор, маркирован «Буфер Р».

РАСТВОР ТМБ **1 флакон, 14 мл**

Раствор тетраметилбензидина, маркирован «Раствор ТМБ».

СТОП-РЕАГЕНТ **1 флакон, 14 мл**

1М соляная кислота (HCl), маркирован «Стоп-реагент».

БУФЕР П **1 флакон, 20 мл**

Концентрированный водно-солевой раствор для промывки лунок (20-кратный концентрат), маркирован «Буфер П».

Пакет закрывающийся – пакет прозрачный с замком из пленки полиэтиленовой, предназначенный для хранения микропланшета с моноклональными антителами к ПСА в случае дробного использования набора.

Пленка для заклеивания микропланшета – прозрачная целлюлозная пленка на липкой основе, предназначенная для заклеивания микропланшета при проведении инкубации для предотвращения неравномерного испарения реакционной смеси из лунок микропланшета и для защиты от загрязнения.

Ванночки для внесения реагентов – ванночки из полипропилена, предназначенные для оптимизации отбора растворов конъюгата и ТМБ 8-канальными дозаторами во избежание их контаминации.

Одноразовые наконечники для дозаторов – конусообразные наконечники из полипропилена, предназначенные для отбора растворов конъюгата и ТМБ при помощи дозаторов.

Примечания

1. Сыворотки крови человека и компоненты сыворотки крови, входящие в состав калибровочных проб и контрольной сыворотки, инактивированы и протестированы на отсутствие антител к ВИЧ 1,2, вируса гепатита С и HBsAg.

2. Материалы животного происхождения, входящие в состав компонентов набора, не представляют опасности для человека.

3. Метрологическая прослеживаемость калибровочных проб и контрольной сыворотки, входящих в состав набора «Общий ПСА-Имаксиз (IMAXYZ)», осуществляется с использованием международного

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

стандарта WHO NIBSC 96/670. Калибровочные пробы и контрольная сыворотка аттестуются относительно рабочих калибраторов, изготовленных с использованием первичного калибратора (международного референсного стандарта ВОЗ для общего ПСА — WHO International Standard Prostate-Specific Antigen NIBSC code: 96/670) в соответствии с протоколом переноса калибровки по ГОСТ ISO 17511-2011.

4. В случае если микропланшет упакован в пакет закрывающийся, дополнительный пакет в состав набора не входит.

4. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

4.1. Чувствительность. Минимальная достоверно определяемая набором концентрация общего ПСА в сыворотке крови человека - 0,15 нг/мл.

4.2. Специфичность. Моноклональные антитела, использованные в этом наборе реагентов (иммобилизованные и конъюгированные с пероксидазой), высокоспецифичны к различным эпитопам молекулы ПСА (свободного и связанного с АХТ). Перекрестной реакции обоих моноклональных антител с РЭА, АФП, ХГч, лактальбумиином, пролактином, СА-125 и ПКФ не обнаружено.

Такие потенциально интерферирующие вещества, как гемоглобин в концентрации до 5 г/л, триглицериды до концентрации 20 ммоль/л и билирубин до концентрации 50 мг/дл не влияют на правильность определения концентрации общего ПСА с помощью набора «Общий ПСА-Имаксиз (IMAXYZ)».

4.3. Линейность. Зависимость концентрации общего ПСА в образцах сыворотки крови при разведении Буфером Р, имеет линейный характер в диапазоне концентраций калибровочных проб № 2 – № 6 и составляет 90–110%.

4.4. Точность. Соответствие измеренной концентрации общего ПСА в пробе, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы № 3, составляет 90–110%.

4.5. Коэффициент вариации результатов определения общего ПСА в одном и том же образце с использованием набора «Общий ПСА-Имаксиз (IMAXYZ)» не превышает 8%.

4.6. Хук-эффект высоких концентраций. При использовании набора реагентов «ПСА-Имаксиз (IMAXYZ)» хук-эффект не обнаружен вплоть до концентрации общего ПСА 2000 нг/мл.

4.7. Нормальные значения. Не существует такого уровня ПСА, ниже которого можно было бы утверждать, что у мужчин нет РПЖ, но высокий уровень ПСА коррелирует с более высоким риском РПЖ.

Ниже приведены данные, позволяющие оценить риск возникновения РПЖ у здоровых мужчин старше 50 лет с отрицательными результатами ТРУЗИ:

Уровень ПСА, нг/мл	Вероятность РПЖ, %
0–2	10
2–4	15–25
4–10	17–32
>10	43–65

Верхней границей нормы при определении содержания общего ПСА у здоровых мужчин в возрасте до 50 лет считается 4 нг/мл. В возрасте до 60 лет такая же граница нормы сохраняется у 97% мужчин, в возрасте до 70 лет – у 93% и в возрасте до 80 лет – у 90% мужчин.

ВОЗ рекомендует в качестве верхней границы нормы – 2,5 нг/мл.

При использовании набора рекомендуется уточнить значения концентраций общего ПСА, соответствующие нормальным, с учетом особенностей популяции.

4.8. Аналитические характеристики метода исследования, используемого в наборе «Общий ПСА-Имаксиз (IMAXYZ)», установлены в соответствии с требованиями ГОСТ Р 53022.2-2008, ГОСТ ISO 17511-2011.

5. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

5.1. Исследуемые образцы – негемолизированная, прозрачная, нелипемичная сыворотка крови.

5.2. Взятие крови для анализа следует проводить с использованием стандартных процедур для венозной крови, а образцы сыворотки должны быть освобождены от клеток крови центрифугированием. После центрифугирования сыворотка крови должна быть перенесена в отдельную пробирку.

5.3. Следует избегать использования в анализе плазмы крови, гемолизованной, мутной или гиперлипемичной сыворотки.

5.4. Не допускается использование в качестве консерванта азида натрия, так как он является ингибитором ферментной метки, входящей в состав набора.

5.5. Взятие крови для анализа на ПСА следует проводить до манипуляций на предстательной железе во избежание получения ложных результатов.

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

5.6. Перед центрифугированием образцов следует убедиться в том, что формирование сгустка завершено (особенно у больных, принимающих антикоагулянты и тромболитики). Присутствие фибрина и взвешенных частиц может привести к получению неверных результатов.

5.7. Образцы сыворотки крови следует использовать в течение 5 суток с момента их получения при условии хранения при температуре +2–8 °С. Для более длительного хранения образцы необходимо заморозить при температуре ниже –20 °С не более чем на 1 месяц. При необходимости более длительного хранения образцы заморозить при температуре ниже –70 °С. Избегать повторного замораживания образцов.

Примечание

- в том случае, если образцы используются так же для анализа на свободный ПСА, сыворотка крови должна быть отделена от кровяного сгустка в течение 3 часов после взятия крови.

- несоблюдение рекомендаций врача по исключению любых манипуляций с ПЖ при подготовке к исследованию может привести к неправильной интерпретации результатов анализа и неоправданному назначению дополнительных исследований, в том числе весьма травматичной процедуры биопсии ПЖ.

6. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

6.1. Потенциальный риск применения набора — класс 2б.

6.2. Реагенты, входящие в состав набора, предназначены исключительно для лабораторной in vitro диагностики, набор должен применяться специалистами, имеющими необходимую квалификацию в данной области в соответствии с требованиями документов, регламентирующих деятельность лаборатории.

6.3. Стоп-реагент представляет собой 1 М раствор соляной кислоты. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые оболочки. В случае попадания раствора стоп-реагента на кожу и слизистые оболочки необходимо промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.

6.4. В учреждениях, в которых осуществляется работа с наборами реагентов, следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности» и СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

6.5. Несмотря на то, что производные крови человека, входящие в состав наборов, были проверены на наличие антител к ВИЧ 1 и 2 типа, вирусу гепатита С, а также HBsAg и дали отрицательный результат, необходимо с калибраторами и контрольными материалами обращаться как с образцами, несущими инфекционную опасность, так как ни один существующий метод тестирования не может на 100% гарантировать отсутствие инфекционных агентов. При работе с исследуемыми образцами пациентов следует соблюдать меры предосторожности как в отношении инфекционно опасного материала. Настоятельно рекомендуется использование одноразовых перчаток и других рекомендованных мер защиты (спецодежды), позволяющих снизить риск инфицирования.

6.6. Все материалы, контактировавшие с образцами крови пациентов, контрольными и калибровочными материалами, должны быть инактивированы официально регламентированными методами (автоклавированием в течение 1 часа при +121 °С или обработкой в соответствии с инструкцией каким-либо лабораторным дезинфектантом). Жидкие отходы, включая промывочные воды, должны быть инактивированы в соответствии с инструкцией каким-либо лабораторным дезинфектантом, предназначенным для этих целей.

6.7. Физические риски (возможность самопроизвольного взрыва и возгорания) отсутствуют.

6.8. Запрещается прием пищи, использование косметических средств и курение в помещениях, предназначенных для работы с наборами реагентов.

7. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

- одно- или многоканальные дозаторы с изменяемым объемом отбора жидкостей в диапазонах 10–100 мкл, 50–300 мкл для постановки анализа и в диапазонах 100–1000 мкл, 1000–5000 мкл, 1000–10000 мкл для приготовления реагентов;
- одноразовые наконечники для дозаторов;
- ванночки для внесения реагентов;
- автоматический промыватель для планшетов или дозирующее устройство;
- фотометр вертикального сканирования, позволяющий производить измерение оптической плотности раствора в лунках при 450 нм;
- термостат или прибор для встряхивания микропланшета (термостатируемый шейкер), позволяющий производить встряхивание со скоростью 500–800 об/мин при температуре +37 °С;
- цилиндр мерный на 200 мл;
- стакан стеклянный вместимостью 500 мл;

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

– фильтровальная бумага;
– вода деионизованная или дистиллированная;
– перчатки одноразовые.

8. ПОДГОТОВКА

8.1. Все реагенты перед проведением анализа должны быть тщательно перемешаны и доведены до комнатной температуры +18–25 °С.

8.2. Микропланшет. Перед вскрытием упаковку с микропланшетом необходимо выдержать при комнатной температуре +18–25 °С не менее 30 минут во избежание конденсации влаги на поверхности лунок. Открыть упаковку и переставить на свободную рамку необходимое количество стрипов или лунок. Оставшиеся стрипы хранить в упаковке и в пакете закрывающемся с герметично закрытым замком при температуре +2–8 °С в течение всего срока годности.

8.3. Предварительное разведение исследуемых образцов. Если значения ПСА в исследуемых образцах по предварительным данным выше значения концентрации калибровочной пробы № 6, образцы следует развести Буфером Р в 20 раз:

– 190 мкл Буфера Р + 10 мкл исследуемого образца.

Тщательно перемешать.

8.4. Приготовление промывочного буфера. Необходимое количество Буфера П развести дистиллированной водой в 20 раз.

Например:

10 мл Буфера П + 190 мл деионизованной или дистиллированной воды.

Тщательно перемешать, избегая пенообразования. Готовый к использованию промывочный буфер хранить закрытым при комнатной температуре +18–25 °С не более 5 суток. Оставшийся неиспользованным 20-кратный Буфер П хранить закрытым при температуре +2–8 °С в течение всего срока годности.

8.5. Конъюгат, калибровочные пробы, контрольная сыворотка, раствор ТМБ, и стоп-реагент готовы к использованию.

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

9.1. Составить протокол маркировки лунок. Лунки промаркировать следующим образом:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	ТМБ	ТМБ	1	1	9	9	17	17	25	25	33	33
B	КП1	КП1	2	2	10	10	18	18	26	26	34	34
C	КП2	КП2	3	3	11	11	19	19	27	27	35	35
D	КП3	КП3	4	4	12	12	20	20	28	28	36	36
E	КП4	КП4	5	5	13	13	21	21	29	29	37	37
F	КП5	КП5	6	6	14	14	22	22	30	30	38	38
G	КП6	КП6	7	7	15	15	23	23	31	31	39	39
H	КС	КС	8	8	16	16	24	24	32	32	40	40

9.2. Во все лунки, кроме А1 и А2, внести по 100 мкл Конъюгата.

9.3. Внести в соответствующие лунки по 25 мкл калибровочных проб и контрольной сыворотки, в оставшиеся лунки — по 25 мкл исследуемой сыворотки крови в дубликатах. *Общее время внесения калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов не должно превышать 15 минут во избежание получения неправильных результатов исследования.*

9.4. Заклеить лунки микропланшета пленкой, входящей в состав набора.

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

9.5. Аккуратно перемешать содержимое лунок постукиванием по краю микропланшета в течение 1–2 минут.

9.6. Инкубировать микропланшет **при температуре +37 °С** в течение 1 часа без встряхивания. *При проведении инкубации в суховоздушном термостате во избежание неравномерного прогрева и испарения жидкости из лунок следует исключить контакт микропланшета с металлическими поверхностями термостата.*

9.7. По окончании инкубации удалить пленку, удалить содержимое лунок в специальную емкость для сбора инфицированного материала и промыть лунки пять раз. При каждой промывке во все лунки добавить по 300 мкл промывочного буфера, приготовленного по п. 8.4, с последующим удалением жидкости в емкость для инфицированного материала. По окончании промывки тщательно удалить остатки жидкости из лунок постукиванием микропланшета в перевернутом положении по фильтровальной бумаге до исчезновения следов наличия жидкости в лунках. При использовании автоматического промывающего устройства тщательно следить за точностью наполнения и полнотой удаления жидкости из лунок микропланшета.

9.8. Внести во все лунки по 100 мкл раствора ТМБ. Инкубировать микропланшет в темноте. Возможны 2 варианта инкубации с ТМБ:

– инкубировать микропланшет в течение 10 минут в темноте **при встряхивании** в термостатируемом шейкере **при температуре +37 °С** со скоростью 500–800 об/мин;

– инкубировать микропланшет в течение 15–30 минут в зависимости от степени развития окраски в темноте **без встряхивания при комнатной температуре +18–25 °С.**

9.9. Остановить ферментную реакцию добавлением в каждую лунку по 100 мкл стоп-реагента с той же скоростью и в той же последовательности, что и раствор ТМБ. Цвет реакционной смеси в лунках должен измениться с синего на желтый. Время между остановкой реакции и измерением оптической плотности (ОП) не должно превышать 20 минут.

Примечание

Максимальная ОП при проведении ферментной реакции не должна превышать пределов линейного измерения прибора, используемого в лаборатории. Диапазон линейности измерения необходимо уточнить в паспорте прибора. Рекомендуемая максимальная оптическая плотность – не более 2,5 ед. ОП.

Схема проведения анализа приведена на Рисунке 1.

9.15. В случае дробного использования микропланшета необходимо разделить микропланшет на стрипы и использовать при проведении анализа необходимое количество стрипов.

10. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

10.1. Измерить на фотометре вертикального сканирования ОП раствора в лунках при длине волны 450 нм.

10.2. Определить среднее значение ОП в лунках А1 и А2 (контроль ТМБ) и вычесть его из среднего значения ОП калибровочных проб, контрольной сыворотки и анализируемых образцов.

11. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

11.1. Результаты анализа следует учитывать, если среднее значение ОП в лунках А1 и А2 не превышает 0,1 ед.ОП.

11.2. В линейных координатах построить график зависимости ОП (ед.опт.плотн.) от концентрации общего ПСА в калибровочных пробах (нг/мл), используя средние значения ОП дубликатов.

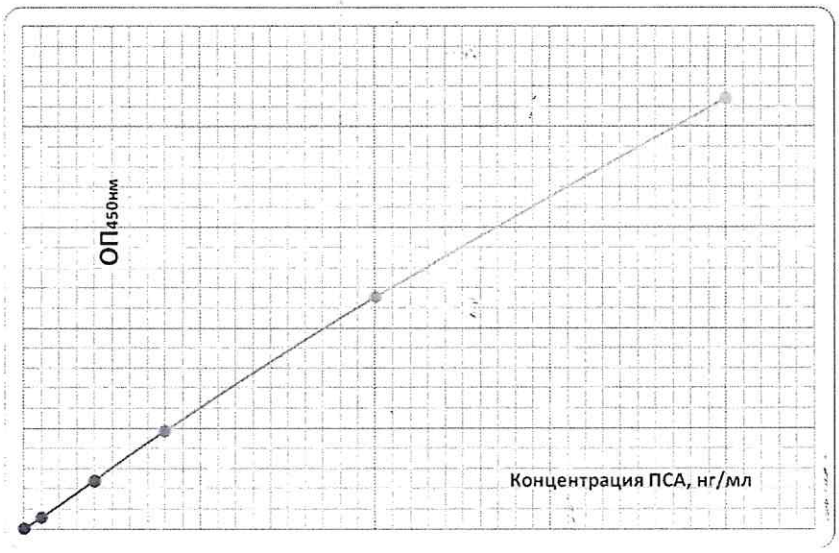
11.3. Определить содержание общего ПСА в исследуемых образцах и контрольной сыворотке по калибровочному графику, используя среднее значение ОП для дубликатов. В случае предварительного разведения образцов необходимо измеренную концентрацию общего ПСА умножить на фактор разведения.

11.4. При наличии автоматической программы расчета на фотометре в качестве метода аппроксимации калибровочной кривой выбрать метод 4PL, 5PL или кубический сплайн.

На рисунке 2 приведен типичный график зависимости ОП калибровочных проб от концентрации в них общего ПСА. Данный график приведен исключительно в целях иллюстрации и не может быть использован для расчета концентрации общего ПСА в образцах сывороток пациентов. Внешний вид графика зависит от выбранного метода аппроксимации.

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

Рисунок 2



12. ОГРАНИЧЕНИЯ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ АНАЛИЗА

12.1. При использовании набора для проведения нескольких независимых серий анализов необходимо иметь в виду, что количество независимых экспериментов ограничено объемом калибровочных проб.

12.2. Для каждого независимого эксперимента настоятельно рекомендуется построение нового калибровочного графика и определение концентрации аналита в контрольной сыворотке.

12.3. Не допускается использование реагентов разных серий при проведении анализа, а также использование ТМБ, стоп-реагента и промывочного буфера других фирм-производителей.

12.4. После окончания внесения реагентов необходимо плотно закрыть крышки флаконов и поместить их на хранение при температуре +2–8 °С.

13. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ НАБОРА

13.1. Набор реагентов для количественного иммуноферментного определения общего простат-специфического антигена в сыворотке крови человека «Общий ПСА-Имаксиз (IMAXYZ)» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2–8 °С в течение всего срока годности.

13.2. Транспортирование наборов должно производиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с требованиями и правилами, принятыми на данном виде транспорта, при температуре +2–8 °С. Допускается транспортирование наборов при температуре до +25 °С не более 10 суток.

13.3. Замораживание компонентов не допускается. Использование набора, транспортировавшегося или хранившегося с нарушением регламентированного температурного режима, не допускается.

14. УСЛОВИЯ ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

14.1. Срок годности набора — 24 месяца. До окончания срока годности набора реагентов, при условии соблюдения температурного режима хранения, транспортирования и эксплуатации, производитель гарантирует работоспособность набора и соответствие всех аналитических характеристик набора заявленным. Не допускается использование набора реагентов по истечению срока годности. Набор реагентов не подлежит ремонту и техническому обслуживанию.

14.2. В случае дробного использования компоненты набора необходимо после вскрытия хранить следующим образом:

– стрипы микропланшета поместить в упаковку с этикеткой (если стрипы упакованы в упаковку из 2-слойного полиэтилена), который затем вложить в пакет закрывающийся и герметично закрыть. Хранить в герметично закрытом пакете при температуре +2–8 °С в течение всего срока годности;

– калибровочные пробы и контрольные сыворотки после вскрытия флаконов хранить в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2–8 °С в течение всего срока годности;

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

– промывочный буфер, подготовленный к использованию, хранить закрытым при комнатной температуре +18–25 °С не более 5 суток. Не добавлять в емкость с используемым промывочным раствором вновь приготовленный раствор.

14.3. Производитель набора АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» произвел верификацию и валидацию набора «Общий ПСА-Имаксиз (IMAXYZ)». Результаты верификации и валидации, отраженные в протоколах предварительных испытаний опытных партий набора, признаны удовлетворяющими параметрам, заявленным в настоящей технической документации.

14.4. В процессе верификации и валидации набора «Общий ПСА-Имаксиз (IMAXYZ)» была проведена оценка стабильности набора при хранении, использовании и транспортировке (ГОСТ Р ИСО 23640-2015); результаты, отраженные в протоколах стабильности набора и его компонентов, соответствуют заявленным срокам годности при хранении, использовании и транспортировке в соответствующих условиях.

14.5. В процессе разработки набора «Общий ПСА-Имаксиз (IMAXYZ)» были оценены риски, связанные с возможным изменением параметров проведения анализа в лабораториях потребителей: изменение температуры инкубации, скорости вращения шейкера и времени раскапывания образцов. Оценка проводилась в соответствии с МИ СМК 07 по ИСО 14971:2007 «Медицинские изделия – Применение менеджмента риска к медицинским изделиям». По результатам анализа риски минимизированы до уровня «приемлемый».

14.6. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции. Любые отклонения от рекомендованных процедур проведения анализа и приготовления реагентов могут привести к получению неверных результатов исследования.

14.7. Достоверность и воспроизводимость результатов анализа зависят от выполнения следующих основных правил при работе с набором реагентов:

– для дезинфекции исследуемых образцов, посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, следует использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие воздействия на реагенты, используемые при проведении ИФА, например, комбинированные средства н основе четвертичных аммониевых соединений (ЧАС), спиртов, третичных аминов. Использование дезинфицирующих средств, содержащих активный кислород и хлор, а также альдегиды в помещениях, используемых для постановки ИФА, может приводить к получению неправильных результатов анализа;

– поскольку наличие паров кислот, щелочей, альдегидов может менять ферментативную активность конъюгатов и ТМБ, нельзя проводить анализ при наличии в воздухе рабочей зоны таких соединений;

– стадия, когда проводится реакция окрашивания с ТМБ, чувствительна к присутствию ионов металлов, поэтому контакт каких-либо металлических предметов с конъюгатом и раствором ТМБ может изменить ход реакции;

– используйте в работе чистую посуду и чистые одноразовые наконечники для каждого реагента, контроля, образца во избежание микробной контаминации компонентов набора и значительного снижения сроков хранения компонентов, входящих в его состав;

– запрещается использование одной и той же емкости для конъюгата и раствора ТМБ во избежание их перекрестной контаминации и искажения результатов анализа;

– при частичном отборе раствора ТМБ из флакона следует учитывать тот факт, что загрязнение поверхности пипеток конъюгатом может привести к контаминации всего содержимого флакона с ТМБ и, как следствие, изменению его цвета;

– если допущена ошибка при внесении реагентов или образцов в лунку, нельзя, удалив неправильно внесенные реагенты, вносить в нее новый реагент; такая лунка должна быть исключена при учете результатов анализа;

– рабочие поверхности столов, оборудования следует обрабатывать 70% этиловым спиртом или специальными растворами на основе спиртов (не допускается использование перекиси водорода, хлорсодержащих и альдегидсодержащих растворов);

– в связи с тем, что качество промывки лунок микропланшета играет важную роль для получения правильных результатов анализа, то для удаления не связавшихся компонентов реакции из лунок микропланшета и последующей промывки рекомендуется использовать автоматическое или ручное промывающее устройство и контролировать равномерность и качество наполнения лунок, а также полноту удаления из них жидкости.

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

15. СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ

Согласно классификации по СанПиН 2.1.7.27910 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» компоненты набора могут быть отнесены к классу «Б». Утилизацию использованных реагентов и реагентов с истекшим сроком годности производить в соответствии с СанПиН 2.1.7.27910 в отношении отходов класса «Б».

Дезинфекцию следует проводить в соответствии с МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

16. ЗАЩИТА ОХРАНЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Производитель гарантирует, что набор реагентов «Общий ПСА-Имаксиз (IMAXYZ)» для иммуноферментного анализа разработан и произведен с целью предотвращения любых рисков для окружающей среды. Набор в процессе использования не оказывает воздействия на окружающую среду и не приводит к ущербу для нее при соблюдении всех мер безопасности и утилизации набора, рекомендованных производителем.

17. ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

По вопросам, касающимся качества набора «Общий ПСА-Имаксиз (IMAXYZ)», следует обращаться к производителю — в Акционерное Общество «Витал Девелопмент Корпорэйшн» (АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн») по адресу:

194356, Россия, Санкт-Петербург, дорога в Каменку, д. 56, лит. А
Тел./факс +7 812 702-10-86.

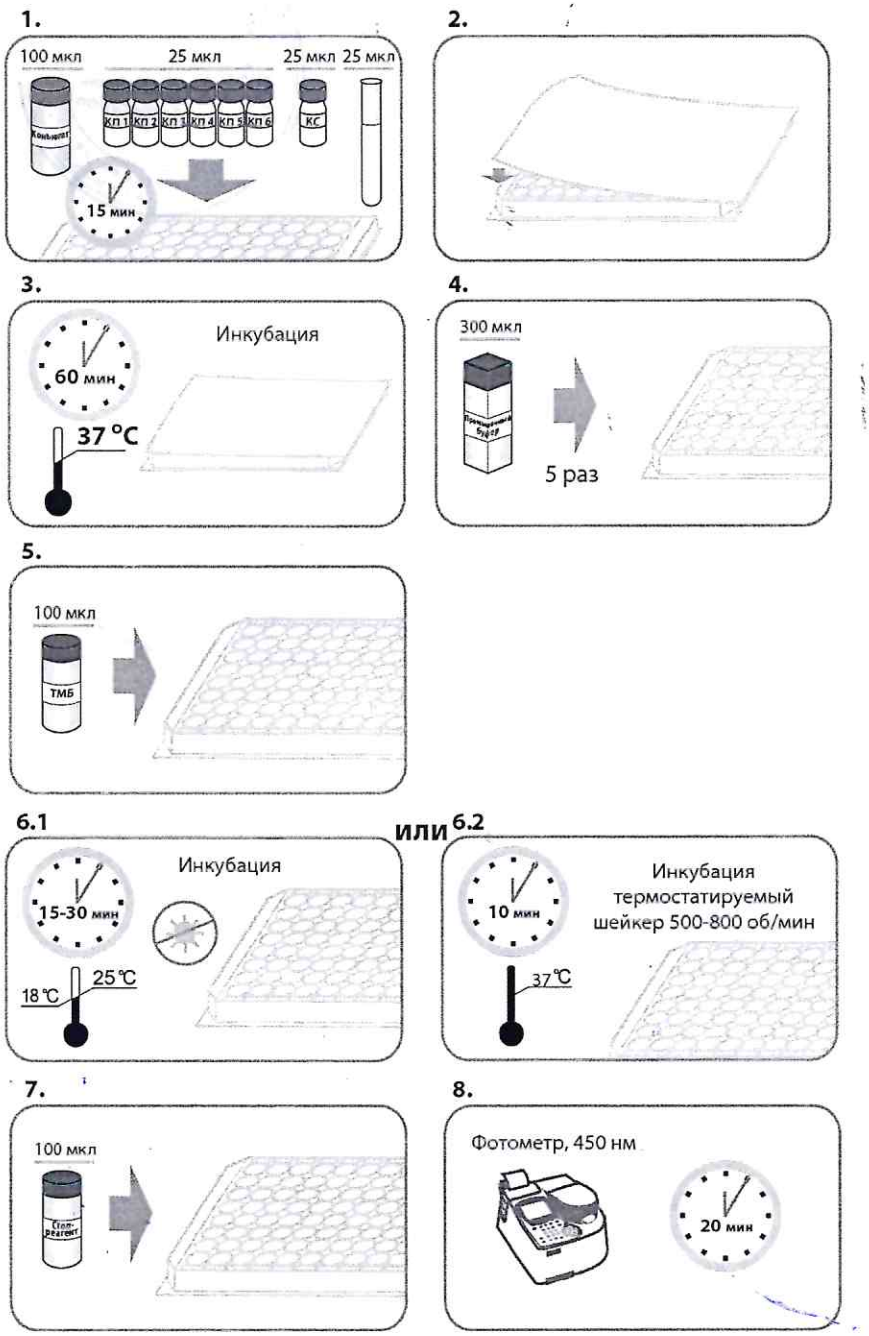
Генеральный директор
АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» А.Г. Плехов

Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР» П.К. Варнавичус

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

Рисунок 1

СХЕМА ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА



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

Прошито, пронумеровано,
и скреплено печатью

Всего 11 листа(ов)

Ген. директор Плехов А.Г.

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 11 ЛИСТОВ

«9» 12 2019 год

Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичус П.К. _____

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