Версия 2-2019

«**УТВЕРЖДАЮ**»
Генеральный Директор
АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»

_____ А.Г. Плехов

«22» _____ 2019 г.

# ИНСТРУКЦИЯ

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

**«Свободный ПСА-Имаксиз (IMAXYZ)»**
**ТУ 21.20.23-078-94568735-2019**

## 1. НАЗНАЧЕНИЕ

**1.1.** Набор реагентов для количественного иммуноферментного определения свободного простат-специфического антигена в сыворотке крови человека «Свободный ПСА-Имаксиз (IMAXYZ)» предназначен для количественного определения концентрации свободного простат-специфического антигена (ПСА) в сыворотке крови человека в клинической лабораторной диагностике, клинической медицине, медицинской биохимии и научно-исследовательской практике. Набор реагентов «Свободный 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 свободного ПСА в сыворотке крови, предназначенное для скрининга новообразований предстательной железы (ПЖ), оценки эффективности лечения и диагностики рецидивов РПЖ.

ПСА 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 ПЖ 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 ПЖ, 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).

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

Несвязанный, или свободный ПСА (10–30% общего ПСА) является еще одной 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.

**1.3.** Уровень общего ПСА в сыворотке крови выше 4 нг/мл является индикатором повышенного риска РПЖ. Однако, повышение уровня ПСА может наблюдаться также при доброкачественной гиперплазии ПЖ и простатите, что приводит к получению большого количества ложных результатов скрининга РПЖ при использовании только этого теста. Для повышения точности дифференциальной



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

диагностики, у пациентов с уровнем общего ПСА в диапазоне 4–10 нг/мл рекомендуется измерение свободного ПСА для определения процентного соотношения свободного и общего ПСА. Согласно данным исследований процентное содержание свободного ПСА ниже у пациентов с РПЖ по сравнению с пациентами с гиперплазией простаты и простатите.

Таким образом, определение уровня свободного ПСА в сравнении с общим ПСА позволяет существенно повысить специфичность скрининга пациентов с РПЖ при повышенном уровне общего ПСА и снизить число неоправданных и весьма травматичных процедур биопсии ПЖ.

**1.4.** Набор реагентов «Свободный 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 В – 1 флакон (14 мл);
- раствор ТМБ – 1 флакон (14 мл);
- стоп-реагент – 1 флакон (14 мл);
- Буфер П – 2 флакона (по 20 мл);
- пакет закрывающийся – 1 шт;
- пленка для заклеивания микропланшета – 2 шт;
- ванночки для внесения реагентов – 2 шт;
- одноразовые наконечники для дозаторов – 16 шт.

**1.6.** Набор «Свободный 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 «Свободный 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. Моноклональные антитела к свободному ПСА конъюгированы с пероксидазой. Во время первой инкубации происходит связывание свободного ПСА, содержащегося в образцах, контрольных материалах и калибровочных пробах, с моноклональными антителами, иммобилизованными на внутренней поверхности лунок. Во время второй инкубации происходит взаимодействие образовавшегося комплекса с моноклональными антителами, меченными пероксидазой.

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 свободный ПСА. Степень окраски прямо пропорциональна концентрации свободного ПСА в анализируемых образцах, калибровочных пробах и контрольных материалах.

Реакцию останавливают, добавляя стоп–реагент (при этом цвет раствора меняется с синего на желтый). Измеряют оптическую плотность раствора в лунках и проводят расчет концентрации свободного 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 «Свободный 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 свободному 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 96/668, содержащих известные количества свободного ПСА.

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

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

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

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

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

**КП № 6** – 1 флакон, 0,5 мл, содержащий известное количество свободного 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 96/668, содержащая известное количество свободного ПСА, маркирована «Контрольная сыворотка».

**Примечание**

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

**БУФЕР В** **1 флакон, 14 мл**

Водно-солевой раствор, маркирован «Буфер В»

**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** **2 флакона, по 20 мл**

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

**Пакет закрывающийся** **1 шт**

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** **2 шт**

Прозрачная целлюлозная пленка на липкой основе, предназначенная для заклеивания микропланшета при проведении инкубации при комнатной температуре +18–25°С для предотвращения неравномерного испарения реакционной смеси из лунок микропланшета и для защиты от загрязнения.

**Ванночки для внесения реагентов** **2 шт**

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

**Одноразовые наконечники для дозаторов** **16 шт.**

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.



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

3. Метрологическая прослеживаемость калибровочных проб и контрольной сыворотки, входящих в состав набора «Свободный ПСА-Имаксиз (IMAXYZ)», осуществляется с использованием международного стандарта WHO NIBSC 96/668. Калибровочные пробы и контрольная сыворотка аттестуются относительно рабочих калибраторов, изготовленных с использованием первичного калибратора (международного референсного стандарта ВОЗ для свободного ПСА — WHO International Standard Prostate-Specific Antigen Free NIBSC code: 96/668) 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 свободного ПСА в сыворотке крови человека - 0,06 нг/мл.

**4.2. Специфичность.** Моноклональные антитела, использованные в данном наборе реагентов, связываются только со свободной фракцией ПСА и не взаимодействуют с ПСА в составе стабильных комплексов. Использование в наборе реагентов специфических блокирующих агентов исключает возможность получения ложноположительных результатов в сыворотках крови, содержащих гетерофильные, в том числе антимышиные (HAMA), антитела.

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 свободного ПСА с помощью набора «Свободный ПСА-Имаксиз (IMAXYZ)».

**4.3. Линейность**. Зависимость концентрации свободного ПСА в образцах сыворотки крови при разведении калибровочной пробой № 1, имеет линейный характер в диапазоне концентраций калибровочных проб № 2 – № 6 и составляет 90–110%.

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

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

**4.6. Нормальные значения**. При концентрациях общего ПСА в диапазоне 4–10 нг/мл для дифференциальной диагностики доброкачественности заболевания ПЖ используют процентное соотношение Свободного ПСА к Общему ПСА:

| Соотношение СПСА/ОПСА, % | Вероятность РПЖ, % |
|---|---|
| 0–10% | 55% |
| 10–15% | 28% |
| 15–20% | 25% |
| Более 20% | 10% |

По данным различных исследований, при уровне общего ПСА от 3 до 4 нг/мл рекомендуется использовать 19% cut-off для оценки процентного содержания свободного ПСА. Это позволяет диагностировать РПЖ в 90% случаев. При уровне общего ПСА от 4,1 до 10 нг/мл рекомендуется использовать 24% cut-off для оценки процентного содержания свободного ПСА. Это позволяет диагностировать РПЖ в 95% случаев

При использовании набора рекомендуется уточнить значения концентраций свободного ПСА, а также соотношение концентраций свободного и общего ПСА, соответствующие нормальным, с учетом особенностей популяции.

**4.7.** Аналитические характеристики метода исследования, используемого в наборе «Свободный 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.



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

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

**5.5.** 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**

- Сыворотка крови для определения свободного ПСА 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;
- фотометр вертикального сканирования, позволяющий производить измерение оптической плотности раствора в лунках при 450 нм;
- автоматический промыватель для планшетов или дозирующее устройство;
- прибор для встряхивания микропланшета (термостатируемый шейкер), позволяющий производить встряхивание со скоростью 500–800 об/мин при температуре +37 °С;
- фильтровальная бумага;
- цилиндр мерный на 500 мл;
- стакан стеклянный вместимостью 1000 мл;



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

– 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. 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.

**8.4. Конъюгат, калибровочные пробы, контрольная сыворотка, Буфер В, 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 Буфера В.

**9.3.** Внести в соответствующие лунки по 50 мкл калибровочных проб и контрольной сыворотки, в оставшиеся лунки — по 50 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.

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

**9.6.** Инкубировать микропланшет **при температуре +18–25 °С** в течение 1 часа без встряхивания.

**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



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

добавить по 300 мкл промывочного буфера, приготовленного по п. 8.3, 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.** Во все лунки, кроме А1 и А2, внести по 100 мкл Конъюгата.

**9.9.** Заклеить лунки микропланшета пленкой, входящей в состав набора. Не применять повторно пленку, использовавшуюся на первой стадии анализа!

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

**9.11.** Инкубировать микропланшет **при температуре +18–25 °С** в течение 30 минут без встряхивания.

**9.12.** По окончании инкубации удалить пленку, удалить содержимое лунок и промыть лунки согласно п. 9.7.

**9.13.** 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.**

**9.14.** 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 свободного ПСА в калибровочных пробах (нг/мл), используя средние значения ОП дубликатов.

**11.3.** Определить содержание свободного ПСА в исследуемых образцах и контрольной сыворотке по калибровочному графику, используя среднее значение ОП для дубликатов.

**11.4.** Для расчета процентного соотношения свободного ПСА и общего ПСА следует использовать формулу:

$$\frac{\text{свободный ПСА, нг/мл}}{\text{общий ПСА, нг/мл}} \times 100\% = \%\ \text{содержание свободного ПСА}$$

**11.5.** 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 свободного ПСА. Данный график приведен исключительно в целях иллюстрации и не может быть использован для расчета концентрации свободного ПСА в образцах сывороток пациентов. Внешний вид графика зависит от выбранного метода аппроксимации.



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

## 12. ОГРАНИЧЕНИЯ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ АНАЛИЗА

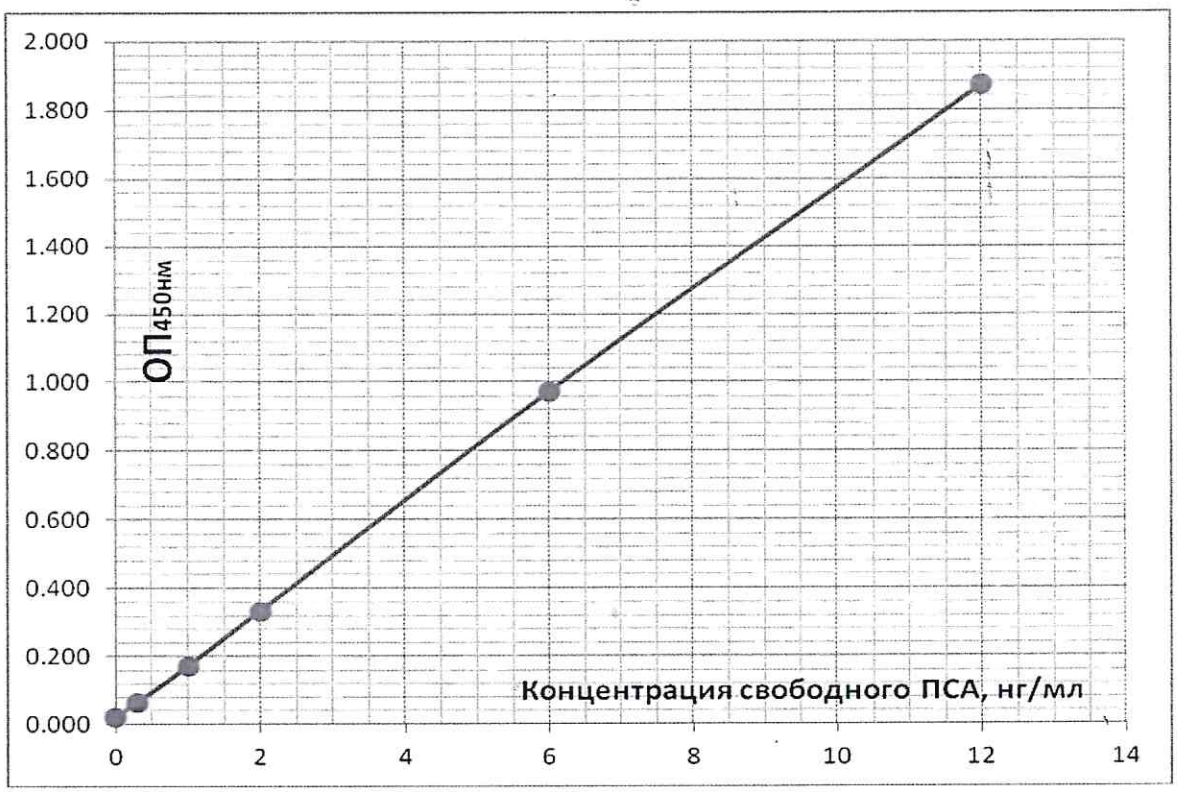
**12.1.** При использовании набора для проведения нескольких независимых серий анализов необходимо иметь в виду, что количество независимых экспериментов ограничено объемом калибровочных проб.

**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.

Рисунок 2




## 13. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ НАБОРА

**13.1.** Набор реагентов для количественного иммуноферментного определения свободного простат-специфического антигена в сыворотке крови человека «Свободный 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;



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

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

– конъюгат, раствор ТМБ, концентрированный Буфер П, Буфер В и стоп-реагент после вскрытия флаконов хранить в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2–8 °С в течение всего срока годности;

– 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 «Свободный 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 «Свободный 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 «Свободный 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 на 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



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

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.

## 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 «Свободный 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 «Свободный 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

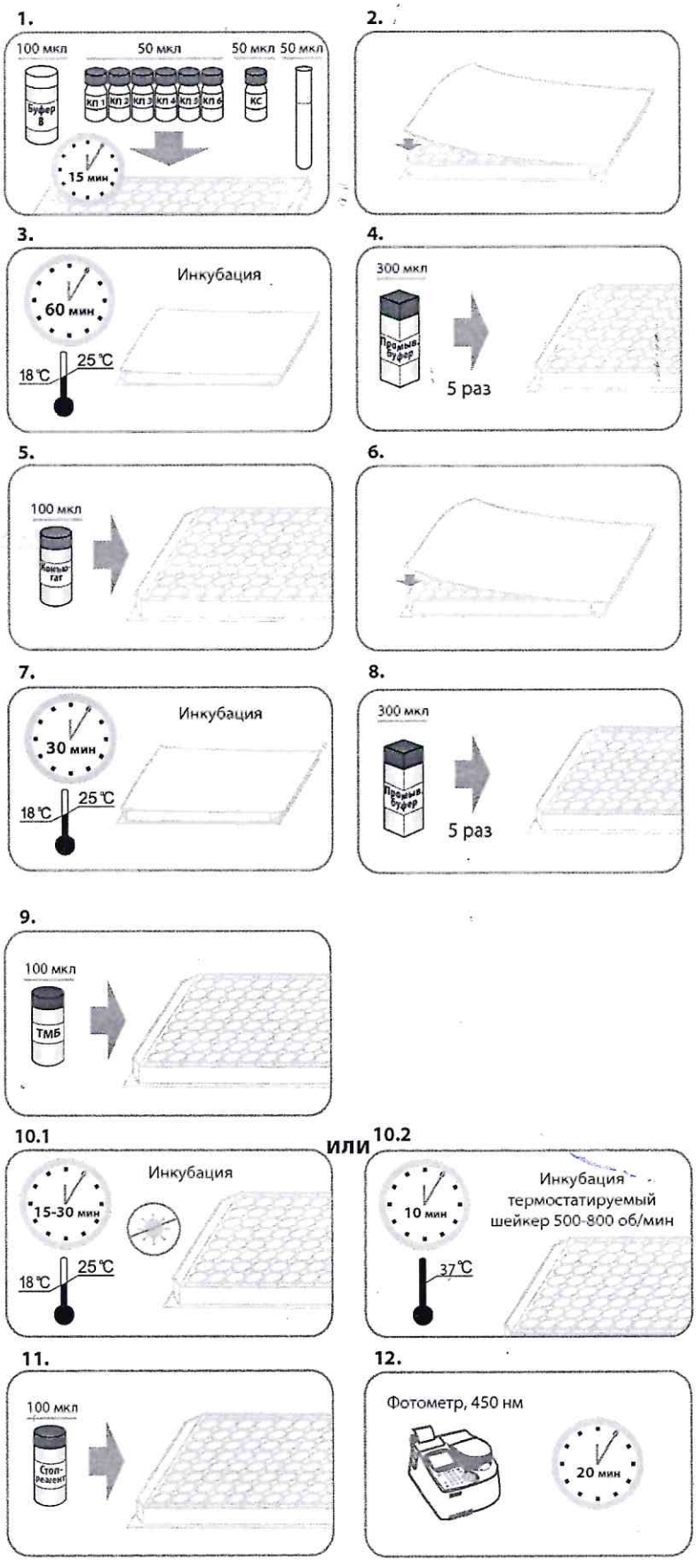
Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР» П.К. Варнавичус



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

«24» 11 2019 год

Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичус Г.К.

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