

| | |
|----|------------|
| CP | 7041/2007 |
| | 11.10.2012 |

**Перший заступник
Голови Державної служби України
з лікарських засобів
І.Б.Демченко
11 жовтня 2012 р.**

**Інструкція
з використання тест-системи для визначення
загального простатспецифічного антигену в сироватці крові
ПСА заг. - ІФА**

IN VITRO

Зберігати при 2-10°C

Принцип методу

У наданій тест-системі використовується принцип двосайтового імуноферментного аналізу (сендвіч-метод). У лунку планшета з іммобілізованим антигеном (специфічні анти-ПСА-антитіла) вносять досліджуваний зразок і кон'югат (другі анти-ПСА-антитіла, мічені пероксидазою). ПСА загальний із зразка зв'язується з антигеном на поверхні лунки та кон'югатом. Незв'язаний матеріал видаляється відмивкою. Після відмивки активність ферменту, зв'язаного на поверхні лунки планшета, проявляється додаванням субстрату та вимірюється при довжині хвилі 450 нм.

Інтенсивність кольорової реакції прямо пропорційна кількості ПСА загального у зразку.

Клінічне значення

ПСА (простатспецифічний антиген) являє собою глікопротеїд, який виробляється епітеліальними клітинами здорової простати. За функціями ПСА відноситься до протеолітичних ферментів, які належать до сімейства калікреїну. Основним субстратом для ПСА є білки, що містяться в еякуляті і обумовлюють гелеподібну консистенцію останнього. ПСА розщеплює ці білки і сприяє розрідженню сперми, що у свою чергу сприятливо позначається на рухливості сперматозоїдів. ПСА знаходиться в сироватці крові у вільному і зв'язаному з білками стані. Лабораторно визначається загальний і вільний ПСА. Вміст ПСА загального (ПСАз) в сироватці крові збільшується з віком, особливо у чоловіків після 40 років.

При гіперплазії та злоякісній трансформації простати збільшується виробка та секреція ПСА в кров за рахунок проникнення його через зруйновані пухлиною базальні мембрани в матрикс і судинну мережу. За пороговий рівень ПСАз приймається рівень 4 нг/мл, проте цей рівень відносний і дуже суперечливий, оскільки залежить від віку та об'єму передміхурової залози з урахуванням супутньої доброякісної гіперплазії передміхурової залози. Додатковими показниками, що підвищують чутливість та специфічність лабораторної діагностики раку передміхурової залози, є визначення швидкості наростання ПСА та співвідношення вільного ПСА до загального.

Аналіз варто проводити до або не раніше ніж 7 днів після масажу або пальцевого ректального обстеження простати, трансректального УЗД, біопсії, лазерної терапії, цисто- та колоноскопії, після будь-яких інших механічних впливів на простату. Важливо враховувати, що підвищення рівня ПСА може бути протягом 3 тижнів після біопсії, простатектомії або масажу простати. **ДУЖЕ ВАЖЛИВО:** щоб не допустити помилок визначення ПСАв і ПСАз (з розрахунком їх співвідношення) аналіз треба проводити з однієї проби крові, одним методом та наборами однієї фірми.

Показання до визначення ПСАз: проведення масового скринінгу в чоловіків старшого віку, діагностика та моніторинг лікування раку предстатевої залози.

Склад набору

1. Планшет з іммобілізованим антигеном, 8x12 лунок (1 шт.)
2. Стрічка для заклеювання планшет (1 шт.)
3. Набір калібраторів та контролю по 0.5 мл, нульовий калібратор 6 мл (всього 5 калібраторів: 0, 1.5, 5, 10, 30 нг/мл; 1 контроль)
4. Відмиваючий розчин концентрат 20x, 22 мл (1 фл.)
5. Кон'югат, 11 мл (1фл.)
6. Субстрат, 11 мл (1 фл.)
7. Зупиняючий розчин, 11 мл (1 фл.)

Аналітичні характеристики

Чутливість методу: 0.3 нг/мл.

Очікуванні коливання контролю: 6-9 нг/мл.

Коефіцієнт варіації результатів визначень не більш 10%.

Матеріал для дослідження

Використовуйте свіжу, вільну від домішок сироватку крові. Зберігайте зразки не більше 48 годин при 2-10°C. Довгострокове зберігання допускається в замороженому вигляді при температурі -20°C. Повторне заморожування-відтавання не допускається. Не використовуйте мутні, хильозні та гемолітичні зразки.

Перелік необхідного устаткування

Автоматичні одно- та багатоканальні дозатори фіксованого або варіабельного об'єму 5-1000 мкл.

Загальне лабораторне устаткування.

Аналізатор імуноферментний з довжиною хвилі 450 нм.

Підготовка реагентів

1. Перед використанням набір витримайте при кімнатній температурі протягом 30 хвилин. До цього не знімайте стрічку для заклеювання з планшету, щоб не утворювався конденсат.
2. Приготуйте відмиваючий розчин. Для цього концентрат розбавте 20-кратним об'ємом дистильованої води в чистому посуді. Отриманий розчин стабільний протягом 5-ти діб при кімнатній температурі або 30 діб у холодильнику 2-10°C.
3. **УВАГА!** Якщо припустима концентрація у зразку вище, ніж верхня крапка калібрувальної кривої, розбавте наданий зразок, використовуючи калібратор 0. Аномальний ПСА пухлинного походження може не забезпечувати лінійність вимірювань при серійних розведеннях! Для моніторингу таких пацієнтів завжди використовуйте однаковий фактор розведення зразку, наприклад 1:50.

Проведення аналізу

1. Помістіть у рамку потрібну кількість стрипів - 12 лунок для калібраторів, контролю та зразків в 2 повторях.
2. Внесіть у лунки 100 мкл кон'югату.
3. Внесіть у лунки 50 мкл калібраторів, контролю та досліджуваних зразків.
4. Інкубуйте 60 хвилин при температурі 37°C.
5. Відмийте стрипи 5 разів відмиваючим розчином.
6. Внесіть у лунки 100 мкл субстрату.
7. Інкубуйте **20-25** хвилин при температурі 20-25°C в темному місці.
8. Внесіть у лунки 100 мкл зупиняючого розчину.
9. Виміряйте оптичну щільність (ОЩ) у лунках на аналізаторі імуноферментному при довжині хвилі 450 нм. Бланк фотометра виставляйте проти нульового калібратора.
10. Використовуйте кусково-лінійний метод обчислювання значень.
11. Визначте концентрацію ПСА загального в досліджуваних зразках за допомогою калібрувальної кривої.

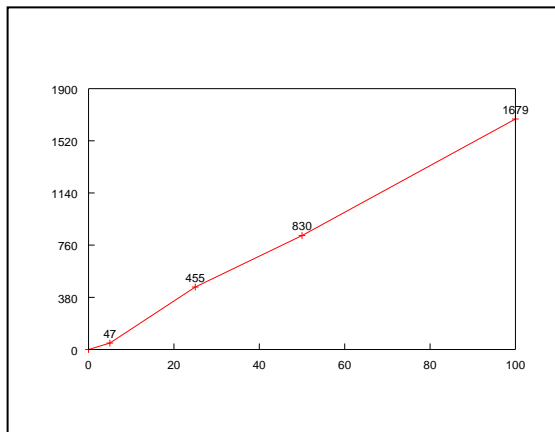
Примітки

1. Не змішуйте та не використовуйте в одній постановці реагенти різних серій.
2. Після використання реагенту негайно закривайте кожен флакон **своєю** кришкою.
3. Усі проби і стандарти бажано ставити в двох паралелях (повторах).

4. Відмивання планшета може проводитися як вручну, так і з використанням автоматичних пристроїв. Вносити по 250 мкл відмиваючого розчину в лунки при кожному відмиванні. Затримка при відмиванні («замочування») не потрібна. Після закінчення ручного відмивання різко переверніть планшет на фільтрувальний папір для видалення залишків буферу.

Приклад калібрувальної кривої (вісь X – концентрація, нг/мл; вісь Y – ОЩ)

Не використовувати для обчислювання!



Референтні величини

Грунтуючись на результатах досліджень, проведених лабораторіями, рекомендуємо користуватися нормами, приведеними нижче. Разом з тим, відповідно до правил GLP (Гарної лабораторної практики), кожна лабораторія повинна сама визначити для себе параметри норми, характерні для обстежуваної популяції.

Чоловіки: до 40 років -- верхня межа – 4.0 нг/мл,
41 – 60 років -- верхня межа – 5.5 нг/мл,
більш 61 рік -- верхня межа – 7 нг/мл.

Жінки: -- верхня межа – 0.45 нг/мл.

Вимоги безпеки

1. Категорично забороняється піпетування ротом.
2. Засобами індивідуального захисту при роботі з наборами є марлеві пов'язки та гумові рукавички.
3. Знезараження сироваток, тестових слайдів чи скляних пластин проводити згідно з наказом МОЗ СРСР №408 від 29.12.89 р. «О мерах по снижению заболеваемости вирусными гепатитами в стране».

Умови зберігання

Набір повинен зберігатися при температурі від 2-10°C. Не допускається замороження!

Після розкриття пакета **ретельно заклейте** лунки, що залишилися, стрічкою для заклеювання, щоб запобігти впливу вологи під час зберігання.

Усі компоненти набору стабільні до закінчення терміну придатності, якщо зберігати його щільно закритим, в захищеному від світла місці та запобігати забруднення під час його використання.

Гарантії виробника

1. Виробник гарантує відповідність якості наборів вимогам ТУ при додержанні споживачем умов зберігання.
2. Гарантійний термін зберігання становить 6 міс. з дня виготовлення набору.

| | |
|----|------------|
| СР | 7041/2007 |
| | 11.10.2012 |

ТОВ НВЛ "Гранум"
61050, м. Харків
вул. Юр'ївська, 17
т/ф (057) 768-07-14

Паспорт
Тест-система для визначення
загального простатспецифічного антигену в сироватці крові
ПСА заг. – ІФА

IN VITRO

Серія **689-3**
Дата виготовлення **12.11.2012**
Термін придатності **12.05.2013**

Зберігати при 2-10°C

| №/п | Показник | Вимоги ТУ У 24.4-31557962-002-2002 | | Результати контролю |
|---|---|---------------------------------------|--------------------------------|---------------------|
| 1. Показники правильності визначення | | | | |
| 1.1 | Чутливість не менш, нг/мл | | 0.3 | відповідає |
| 1.2 | Очікуванні коливання контролю, нг/мл | | 6-9 | відповідає |
| 1.3 | Коефіцієнт варіації результатів визначень не більш, % | | 10 | відповідає |
| 2. Зовнішній вигляд, комплектація | | | | |
| 2.1 | Планшет з іммобілізованим антигеном | полістирол | 8x12 | відповідає |
| 2.2 | Стрічка для заклеювання планшет | | 1 шт. | відповідає |
| 2.3 | Набір калібраторів та контролю (всього 5 калібраторів: 0, 1.5, 5, 10, 30 нг/мл; 1 контроль) | червоний | 1 фл. х 6 мл 5 фл. х 0.5 мл | відповідає |
| 2.4 | Відмиваючий розчин концентрат 20x | прозорий | 1 фл. х 22 мл | відповідає |
| 2.5 | Кон'югат | червоний | 1 фл. х 11 мл | відповідає |
| 2.6 | Субстрат | прозорий | 1 фл. х 11 мл | відповідає |
| 2.7 | Зупиняючий розчин | прозорий | 1 фл. х 11 мл | відповідає |

Термін зберігання – 6 місяців з дня виготовлення.

Висновок ВТК: відповідає ТУ У 24.4-31557962-002-2002