



Набор ИФА для определения в человеческой сыворотке ОБЩЕГО АНТИГЕНА ПРОСТАТЫ

Кат. № : E-TPS-1P
Количество : 96
Производитель : Dima Diagnostika (Германия)

Методика от 14-10-2008

Внимание: основой при проведении анализа является оригинал инструкции на англ. языке.

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Настоящий набор используется для количественного определения общего специфического антигена простаты (t-PSA) в образцах человеческой сыворотки или плазмы. Определение уровня t-PSA используется для оценки риска карциномы простаты у мужчин в сочетании с цифровым ректоскопическим обследованием или для мониторинга эффективности лечения у пациентов карциномы простаты.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Данный набор является твердо-фазовым фермент-связанным иммуносорбентным анализом (ELISA), снованным на принципе «сэндвича». Микротитровальные лунки покрыты антителом, направленным на эпитоп молекулы антигена. Аликвот сыворотки пациента инкубируется в покрытой лунке с вторым антителом, конъюгированным ферментом (E-Ab), направленным на разные области молекулы антигена. После инкубации несвязанное E-Ab вымывается. Количество связанного E-Ab пропорционально концентрации антигена в образце. После добавления раствора субстрата, интенсивность образовавшегося цвета пропорциональна концентрации антигена в образце. Измеренные ОП стандартов используются для отображения калибровочной кривой, из которой определяются неизвестные образцы.

РЕАГЕНТЫ

Каждый набор содержит реагенты, достаточные для 96 определений.

- Микропланшет** (12x8) для 96 определений.
- 5 ПСА-стандартов:** готовы к использованию реагенты (0,50 мл) в следующих концентрациях: 25 нг ПСА/мл; 12,5 нг ПСА/мл; 6,25 нг ПСА/мл; 3,1 нг ПСА/мл; 1,56 нг ПСА/мл.
Консерванты: Тимерозал 0,02%, Катон 0,1%.
- Нулевой стандарт/Разбавитель:** готов к использованию (10 мл).
- Контроль:** готовые к использованию (0,50 мл).
Консерванты: Тимерозал 0,02%, Катон 0,1%.
- Конъюгат ПСА:** готов к использованию (12 мл).
- ТМБ-субстрат:** готов к использованию (12 мл).
- Стоп-раствор:** (12 мл). Содержит серную кислоту.

НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

- Пипетки высокой точности, объемом 25 и 100 мкл со съёмными наконечниками.
- Дистиллированная вода.
- ELISA фотометр с фильтрами на 450 и 630 нм.
- Таймер.
- Микропланшетный вошер.
- Вихревой смеситель или другой аналогичный аппарат.
- Контейнер для соответствующей обработки отходов и образцов после их использования.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить набор при 2 - 8°C.
- Привести к комнатной температуре (18-25°C) за 30 минут перед началом использования. После использования поместить обратно в холодильник. Избегать долгосрочного хранения при комнатной температуре.
- Не используйте набор или компоненты после истечения срока годности. Срок годности указан на этикетке набора анализа.
- Немедленно закрывайте бутылки после использования
- Храните планшет с осушителем в поставляемом пакете. Неиспользуемые компоненты должны всегда храниться в таком виде.
- Убедитесь, что все компоненты набора не заморожены.

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

С реагентами и образцами следует обращаться как с потенциально инфицированными. Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие антител к гепатиту В, С и ВИЧ 1 и 2. Однако, ни один метод не может гарантировать, что продукты человеческого происхождения не инфицированы. Следовательно, с реагентами и образцами сыворотки следует обращаться как с потенциально инфекционно опасными. Реагенты анализа могут содержать азид натрия или тимерозал, которые токсичны при вдыхании. Азид натрия может реагировать с медью или свинцом, формируя взрывоопасные соли. При выбрасывании, смывайте большим количеством воды. Стоп раствор содержит соляную кислоту. При контакте с кожей, тщательно промойте водой и обратитесь за помощью. Поскольку соляная кислота, что используется для остановки реакции, является коррозивной, после использования инструмент следует тщательно промывать водой. Этот набор для диагностики in vitro. Не пипетируйте ртом и избегайте контакта с кожей и слизистыми. В противном случае, формайте большим количеством воды. При работе с реагентами не ешьте, не пейте и не курите. При работе используйте перчатки. Микробиологическое загрязнение может дать фальшиво отрицательные результаты.

УКАЗАНИЯ ПО СБОРЕ ОБРАЗЦОВ, ПОДГОТОВКА И ХРАНЕНИЕ

Сбор образцов

Образцы крови собираются путем венепункции. Следует учитывать, что на уровень ПСА в крови влияют различные факторы.

Подготовка образцов

Подготовка образцов сыворотки или плазмы проводится по стандартным методикам. Сыворотка или плазма должны быть подготовлены как можно скорее, чтобы избежать гемолиза и улучшить стабильность ПСА.

Хранение образцов

Для анализа должна использоваться свежие образцы сыворотки или плазмы. Если они не используются немедленно, их можно хранить 1 неделю при 2-8 °С. При более длинном хранении их необходимо заморозить до -20 °С. Повторного размораживания и размораживания образцов следует избегать.

Примечание:

- Высоко гемолизованные и липемические образцы могут давать неправильные аналитические результаты.
- Образцы не должны быть микробиологически загрязнены.
- Образцы, содержащие высокие титры ревматоидного фактора и анти мышинные гетерофильные антитела, могут давать ошибочные результаты.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

Примечание: Настоятельно рекомендуется проводить все измерения в дублях. При каждом измерении должна быть построена калибровочная кривая. Для получения наилучших результатов важно. Чтобы растворы всегда добавлялись в лунки в одном порядке с целью минимизации отклонений во времени инкубаций (18-25°).

- Перед использованием все реагенты, стандарты, контроли и образцы необходимо довести до комнатной температуры (18-25°).
- Проверить даты сроков годности флаконов и планшета (включая мешочек), а также наличие повреждений.
- Разместить требуемые лунки микропланшета. Следует учитывать, что все измерения должны проводиться в дублях. Зафиксировать местоположение лунки и соответствующих образцов, стандартов и контролей, чтобы обеспечить их распознавание в дальнейшем. Любые неиспользованные стрипы микролунок вернуть обратно в герметично запечатывающийся мешочек с осушителем, закрыть мешочек и хранить при (2-8°).
- Раскапать по 25 мкл стандартов, контролей и образцов в каждую лунку. Образцы с ожидаемыми высокими значениями ПСА, более 25 нг/мл необходимо развести раствором для разведения.
- Инкубировать 5 минут при комнатной температуре (18-25°C).
- Добавить 100 мкл конъюгата пероксидазы в каждую лунку.
- Смешать, двинув плашку по столу (10 сек.).

8. Инкубировать при комнатной температуре 1 час (18-25°C).
9. Удалить раствор из лунок аспирацией или декантацией. При декантации постучать планшетом о промокательную бумагу, чтобы удалить оставшуюся жидкость.
10. Для промывки наполнить лунки дистиллированной водой и оставить на 15 секунд, повторить промывку 5-6 раз. Рекомендуется следующая процедура: 6 раз промыть лунки дистиллированной водой 250 мкл на лунку. Предпочтительно использовать автоматизированную процедуру промывки, проследить, чтобы промывочный раствор оставался в каждой лунке одинаковое количество времени. Это необходимо для получения минимальных значений КВ!
11. Раскапать 100 мкл раствора субстрата ТМБ в каждую лунку.
12. Инкубировать 20 минут при комнатной температуре (18-25°C).
13. Добавить 100 мкл стоп-раствора (в том же порядке, что и раствор субстрата)
14. Считать абсорбцию (ОП) при 450 нм (слепая проба при 630 нм).

Результаты

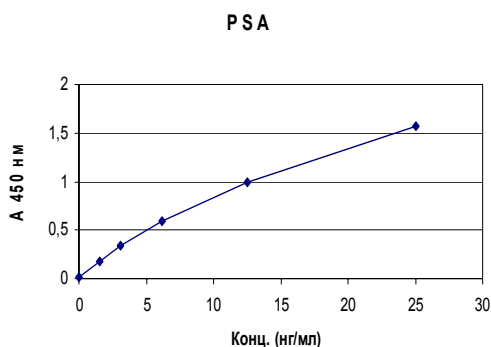
1. Рассчитать среднее значение абсорбции для каждого дубля.
 2. Вычесть среднее значение абсорбции нулевого стандарта от средних значений абсорбции стандартов, контролей и образцов.
 3. Отобразить стандартную кривую на лин.-лог. графической бумаге, выводя значения абсорбции стандартов против соответствующих значений концентрации ПСА, или использовать соответствующее ПО используемого ИФА-ридера.
- Считать и рассчитать концентрации ПСА контролей и образцов.

ДОСТОВЕРНОСТЬ АНАЛИЗА

1. ОП 450 нм луки бланка (слепой пробы) ниже 0,150. Вышие значения указывают на загрязнение хромогена/субстрата. В этом случаи повторить анализ проверяя реагент.
2. ОП 450 нм наивысшего стандарта (25 нг/мл) должна быть выше 0,700. Низшие значения указывают на ухудшение качества набора или контроля. В этом случаи, проверить дату истечения срока годности набора перед проведением повторного анализа.
3. Поставляемый контроль не должен отличаться больше чем на 15% при использовании в дубликате.
4. Ниже предоставлена таблица и стандартная кривая типового анализа – не использовать для расчета фактических результатов исследования.

Лунки	Наименование	450 нм		Конц. нг/мл
1-2	Стандарт 0 нг/мл	0,022	0,023	
3-4	Стандарт 1.56 нг/мл	0,178	0,180	
5-6	Стандарт 3.10 нг/мл	0,337	0,342	
7-8	Стандарт 6.20 нг/мл	0,611	0,568	
9-10	Стандарт 12.50 нг/мл	0,990	0,984	
11-12	Стандарт 25.00 нг/мл	1,574	1,562	
13-14	Контроль	0,421	0,400	3,98

Серия 30902.2



КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Рекомендуется проведение внутреннего контроля для каждого анализа. Результаты контроля должны находиться в пределах установленных диапазонов. Поскольку ПСА – количественный тест, образцы нужно в общем определять в дубликатах.

Риск для пациентов в основном зависит от фальшиво негативных результатов (ПСА ниже 4,0 нг/мл). По этому очень рекомендуется проводить оценку набора с помощью дополнительных средств.

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Общепринятое пороговое значение сопутствующих исследований:

Пороговое значение (cut-off): 3,0-4,0 нг ПСА/мл

Здоровые мужчины имеют концентрацию ПСА менее 4,0 нг/мл. Если концентрация ПСА равна или более 4,0 нг/мл, настоятельно рекомендуется провести последующие исследования. Эта концентрация ПСА указывает на повышенный риск рака простаты, но также может быть вызвана ДПГ.

Примечание: Вышеуказанные значения являются ориентировочными. Каждая лаборатория должна определить собственные нормальные значения.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

1. Предел обнаружения

Минимальный определяемый уровень:
Предел обнаружения = 0,2 нг/мл.

2. Точность

Внутренний и внешний контроль правильности проводился исследованием сывороток трех пациентов с различными концентрациями ПСА. Результаты приведены в таблице 1 и 2.

Таб. 1. Точность в анализе

Пациенты	Кол-во репликатов	Среднее нг/мл	СО нг/мл	КВ %
1	24	12,52	0,65	6,0
2	24	3,44	0,13	3,9
3	32	0,83	0,07	8,8

Таб. 2. Точность между анализами

Пациенты	Кол-во репликатов	Среднее нг/мл	СО нг/мл	КВ %
1	4	12,28	0,82	6,7
2	4	3,33	0,266	7,98

3. Восстановление

Известное количество ПСА было добавлено в сыворотки трех пациентов, после чего были измерены восстановленные количества. Результаты показаны в таблице 3.

Таб. 3. Восстановление

Образец	Ожид. знач. (нг/мл)	Факт. знач. (нг/мл)	Восстановление %
1	6,30	6,40	100
2	4,67	4,56	98
3	10,10	10,91	108

4. Специфичность

Антитела, используемые в данном наборе высокоспецифичны к ПСА, имеют относительно низкую кросс-реактивность с другими протеинами и полипептидами, липидами или химиотерапевтическими веществами в образцах пациентов.

Таб. 4 Специфичность

антигены	добавл. кол-во	Перекрестн. реакция
Белки		нет
АФП	10 мкг/мл	нет
КЭА	10 мкг/мл	нет
ХГЧ	10 мкг/мл	нет
Лактатальбумин	10 мкг/мл	нет
ПАП	1 мкг/мл	нет
Интерферирующие в-ва		
Билирубин	0,2 мг/мл	нет
Гемоглобин*	0,1 мг/мл	нет
Триглицеридов	15 мг/мл	нет
Химиотерапевтические в-ва		
Циклофосфамид	800 мкг/мл	нет
Доксорубин *HCl	20 мкг/мл	нет
Диэтилстилбестрол	2 мкг/мл	нет
Флютамид	10 мкг/мл	нет
Метолтрексат	50 мкг/мл	нет

5. «Хук-эффект» высокой дозы

Тест был проверен на наличие хук-эффекта. При концентрации ПСА до 2000 нг/мл - не наблюдается.

13.6 Корреляция

Настоящий набор сравнивался с набором Roche ElecSys total PSA:

$$Y = 0.9644 x + 0.0741$$

7. Калибровка

Настоящий набор откалиброван относительно стандарта ВОЗ 96/670.

ЛИТЕРАТУРА

(См. в оригинале инструкции).

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА:

ЧМП «ДИАМЕБ»
Ул. Чорновола, 97, г. Ивано-Франковск, 76005
Тел.: (0342) 775122
Тел/факс: (0342) 775612
E-mail: info@diameb.ua
www.diameb.ua