

НАБІР ІФА
ДЛЯ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ
ЗАГАЛЬНОГО ПРОСТАТА-СПЕЦИФІЧНОГО
АНТИГЕНУ

СН-151, ДС-ІФА-ПСА Загальний

Каталог. №: **СН-151**
Виробник : **ДС (Росія)**

Методика від **25-01-2008**



Основою при проведенні аналізу є оригінал інструкції англійською мовою, вкладеної в набір. Номер і дата версії оригіналу та перекладу інструкції повинні співпадати.

1. Призначення

1.1. Набір реагентів «ДС-ІФА-ПСА загальний» призначений для кількісного визначення загального простата-специфічного антигену (ПСА) у сироватці крові людини методом твердофазового імуноферментного аналізу (ІФА).

1.2. ПСА - глікопротеїн з молекулярною масою 33 кДа, що відноситься до калікреїнового сімейства серинових протеаз. ПСА продукується епітеліальними клітинами простати, присутній в спермі і в більш низьких концентраціях у сироватці крові та сечі. ПСА відповідає за розрідження насінної рідини після еякуляції. Основна форма змісту ПСА в сироватці крові - комплекси з інгібіторами протеаз, частка вільного ПСА невелика.

Під загальним ПСА, який визначається імунологічними методами, мається на увазі сумарна кількість ПСА, пов'язаного з альфа-1-антихотрипсином, і вільної фракції ПСА. Підвищення рівня загального ПСА вище 4 нг/мл свідчить про патологію передміхурової залози: доброякісної гіперплазії та аденокарциноми простати. Визначення співвідношення ПСА вільного до ПСА загального служить для розмежування злоякісних і доброякісних новоутворень простати. Рівень ПСА вільного істотно вище при гіперплазії передміхурової залози, ніж при раку простати. Значення співвідношення ПСА вільного до ПСА загального < 10% з високою частотою ймовірності свідчить про злоякісну пухлину, при значенні > 25% рак простати малоімовірний. Визначення рівня ПСА є найважливішим засобом для контролю ефективності проведеної терапії.

1.3. Набір розрахований на проведення аналізу в дублікатах в 48 проб (40 невідомих проб, одна проба контрольної сироватки, шість калібрувальних проб і одна проба для визначення оптичної щільності ТМБ-субстратного розчину) при одночасному використанні всіх смужок планшета.

У разі дрібного застосування набору: необхідне обов'язкове використання всіх калібрувальних проб при кожній постановці; набір може бути використаний протягом місяця після розпечатування реагентів набору.

2. Характеристика набору

2.1. Принцип дії

У наборі «ДС-ІФА-ПСА загальний» застосовано «сендвіч»-варіант твердофазного ІФА. Для реалізації його використані два моноклона антитіл з різною специфічністю до двох доменів молекули ПСА: перші (немічені) іммобілізовані на твердій фазі, другі (мічені пероксидазою хрому) входять до складу кон'югату. У лунках планшета під час інкубації відбувається одночасне зв'язування ПСА, що міститься в досліджуваному зразку, з антитілами, іммобілізованими на твердій фазі, і антитілами, кон'югованими з пероксидазою хрому.

Кількість зв'язаного кон'югату прямо пропорційна кількості загального ПСА в зразку сироватки крові.

Під час інкубації з ТМБ-Субстратним розчином відбувається фарбування розчину в лунках. Ступінь забарвлення прямо пропорційна кількості загального ПСА в зразку сироватки крові. Після вимірювання оптичної щільності розчину в лунках на підставі калібрувального графіка розраховується концентрація загального ПСА в досліджуваних зразках.

2.2. Склад набору:

- Імуносорбент - планшет полістироловий розбірний (12 стрипів по 8 лунок кожний) з іммобілізованими на внутрішній поверхні лунок моноклональними антитілами до загального ПСА, маркований «Імуносорбент» - 1 шт;
- кон'югат - моноклональні антитіла до загального ПСА, кон'юговані з пероксидазою хрому; прозора або опалесцююча

рожевого кольору рідина; маркований «Кон'югат» - 1 фл. (12,0 мл);

- Калібрувальні проби, що містять відомі концентрації загального ПСА, атестовані відповідно з Першим міжнародним стандартом ВООЗ 96/670; прозорі або опалесцентні жовтого кольору рідини; калібрувальний матеріал може відрізнятися від заявленого за значеннями концентрації загального ПСА (нг/мл), значення концентрацій загального ПСА зазначені на етикетках флаконів і в аналітичному паспорті якості; марковані:
 - «Калібратор 0» (0 нг/мл) - 1 фл. (2,0 мл);
 - «Калібратор 1» (1,0 нг/мл) - 1 фл. (0,5 мл);
 - «Калібратор 2» (2,5 нг/мл) - 1 фл. (0,5 мл);
 - «Калібратор 3» (5,0 нг/мл) - 1 фл. (0,5 мл);
 - «Калібратор 4» (10,0 нг/мл) - 1 фл. (0,5 мл);
 - «Калібратор 5» (30,0 нг/мл) - 1 фл. (0,5 мл);
- Контрольна сироватка з відомим вмістом загального ПСА; прозора або опалесцююча жовтого кольору рідина; значення концентрації загального ПСА в сироватці вказано на етикетці флакона і в аналітичному паспорті якості, маркована «Контрольна сироватка» - 1 фл. (0,5 мл);
- Промивний розчин, концентрат; прозора або злегка опалесцююча, безбарвна або світло-жовтого кольору рідина, допустимо утворення осаду, повністю розчиняється при температурі від 35 до 39 °С і струшуванні; маркований «ПР (концентрат x 25)» - 1 фл. (50,0 мл);
- ТМБ-Субстратний розчин, прозора безбарвна рідина; маркований «ТМБ-Субстратний розчин» - 1 фл. (12,0 мл);
- Сірчана кислота в концентрації 0,2 моль/л; прозора безбарвна рідина; маркована «Стоп-реагент/0,2 М» - 1 фл. (15,0 мл);
- Інструкція із застосування - 1 шт;
- Бланк для побудови калібрувальної кривої - 1 шт.
Додатково в комплект поставки можуть бути включені:
 - кришка до полістиролових 96-лунок планшетів;
 - одноразові наконечники;
 - пластикова ванночка для рідких реагентів;
 - пластикова скріпка для закривання пакета з імуносорбентом.

3. Аналітичні та діагностичні характеристики набору

3.1. Чутливість. Мінімальна концентрація загального ПСА, яка достовірно визначається в сироватці крові людини, не перевищує 0,3 нг/мл.

3.2. Специфічність. Обидва моноклональних антитіла, використовувані в наборі, демонструють еквімолярну взаємодію, як з вільним ПСА, так і з ПСА-АХТ комплексом. Не виявлено перехресної реакції моноклональних антитіл до калікреїна 2 людини.

3.3. Коефіцієнт варіації результатів визначення загального ПСА в одному і тому ж зразку з використанням набору не перевищує 8%.

3.4. Лінійність. Залежність концентрації загального ПСА має лінійний характер в діапазоні концентрацій калібрувальних проб №1-№5. Значення «лінійності» має перебувати в межах від 90 до 110%.

3.5. Точність. Даний аналітичний параметр перевіряється тестом на «відкриття» загального ПСА - відповідність вимірної концентрації загального ПСА, приписаної в пробі, отриманої шляхом змішування рівних об'ємів контрольної сироватки і калібрувальної проби №1. Відсоток відкриття становить від 90 до 110%.

3.6. Клінічна перевірка. Концентрацію загального ПСА вимірювали в зразках сироватки крові, взятої з 9 до 11 години у 157 чоловіків у віці від 21 до 50 років. Середня концентрація загального ПСА склала $0,89 \pm 0,7$ нг/мл.

3.7. Рекомендується в кожній лабораторії при використанні набору уточнити значення концентрацій загального ПСА, відповідні нормальним значенням для конкретної території.

4. Застереження

4.1. Потенційний ризик застосування набору - клас 2а.

4.2. Всі компоненти набору у використовуваних концентраціях є нетоксичними.

4.3. При роботі з набором слід дотримуватися «Правил пристрою, техніки безпеки, виробничої санітарії, протиепідемічного режиму та особистої гігієни при роботі в лабораторіях (відділеннях, відділах) санітарно-епідеміологічних установ системи Міністерства охорони здоров'я СРСР» (Москва, 1981 р.).

4.4. Стоп-реагент являє собою 0,2 М розчин сірчаної кислоти. Унікати розбризкування та попадання на шкіру і слизові. У разі потрапляння розчину стоп-реагенту на шкіру і слизові необхідно промити уражену ділянку великою кількістю проточної води.

4.5. При роботі з набором слід надягати одноразові гумові або пластикові рукавички, так як досліджувані зразки сироватки крові є потенційно інфікованим матеріалом, в якому тривалий час можуть зберігатися збудники ВІЛ, парентеральних вірусних гепатитів та інших інфекційних захворювань.

4.6. Хімічний посуд і обладнання, які використовуються в роботі з набором, повинні бути відповідним чином марковані і зберігатися окремо.

4.7. Забороняється прийом їжі, використання косметичних засобів і куріння в приміщеннях, призначених для роботи з наборами.

5. Обладнання та матеріали, необхідні при роботі з набором:

- спектрофотометр вертикального сканування, що дозволяє вимірювати оптичну щільність розчину в лунках планшета при довжині хвилі 450 нм;
- Термостатований шейкер, що дозволяє проводити струшування зі швидкістю від 500 до 800 об/хв. при температурі від 18 до 24 °С;
- Пристрій для промивання планшетів (вошера);
- Дозатори піпеточні напівавтоматичні одноканальні із змінним обсягом відбору рідин: на 5-50 мкл; на 40-200 мкл; на 200-1000 мкл; на 1000-5000 мкл з наконечниками;
- дозатор піпеточний напівавтоматичний восьмиканальний, що дозволяє відбирати об'єми рідини до 300 мкл, з наконечниками;
- Циліндр мірний (200 мл, 500 мл);
- Стакан скляний (500 мл);
- Вода дистильована;
- Папір фільтрувальний лабораторний;
- Рукавички гумові або пластикові.

6. Підготовка досліджуваних зразків сироваток крові людини

Для виключення помилкових результатів не можна піддавати досліджувані зразки термоінактивації, необхідно відбирати і зберігати їх в умовах, що запобігають бактеріальному росту. Неприпустимо використання зразків з додаванням азиду натрію в якості консерванту! Кожен зразок досліджуваної сироватки слід відбирати новим наконечником! Відібрані зразки зберігати при температурі від 2 до 8 °С не більше 3-х діб. Більш тривале зберігання допустимо при температурі не вище мінус 20 °С (зразки можуть піддаватися заморожуванню і відтаванню не більше 1 разу). Не можна використовувати зразки з бактеріальним ростом, вираженим гемолізом і гіперліпемією. Зразки сироватки крові, що містять агрегати або осад, необхідно освітлювати центрифугуванням при 1000-2000 об/хв. протягом 15 хв. при температурі від 4 до 8 °С.

7. Підготовка реагентів для аналізу

7.1. Не можна використовувати реагенти з наборів різних серій або змішувати їх в процесі приготування розчинів, а також використовувати реагенти після закінчення терміну придатності! Перед використанням всі реагенти набору витримати 30 хв. при кімнатній температурі (від 18 до 24 °С).

7.2. Імуносорбент. **Увага: щоб уникнути конденсації вологи всередині лунок необхідно витримати імуносорбент при кімнатній температурі (від 18 до 24 °С) в закритому пакеті не менше 30 хвилин!**

Розкрити фольгований пакет, відступивши 1,0 см від краю пакета. Вийняти з пакета рамку і необхідну кількість смужок, вставити смужки в рамку.

7.3. ПР - робочий промивний розчин. Вміст флакона з концентратом ПР ретельно перемішати. Для приготування робочого ПР необхідну кількість концентрату розчину для промивання відібрати в окрему ємність і додати відповідну кількість води дистильованої (відповідно до таблиці 1). Отриманий розчин ретельно перемішати.

7.4. Кон'югат - готовий до застосування. Перед використанням відібрати необхідну кількість в чисту ємність.

7.5. Калібрувальні проби - готові до застосування.

7.6. Контрольна сироватка, готова до застосування.

7.7. ТМБ-Субстратний розчин - готовий до застосування. Перед використанням відібрати необхідну кількість в чисту ємність.

7.8. Стоп-реагент - готовий до застосування.

Таблиця 1

Розхід реагентів набору в залежності від кількості використовуваних смужок

	Робочий промивний розчин		Кон'югат (мл)	ТМБ-Субстратний розчин (мл)
	ПР (конц x 25) (мл)	Вода дистильована (мл)		
3	5	120	3.0	3.0
4	5	120	4.0	4.0
5	10	240	5.0	5.0
6	10	240	6.0	6.0
7	15	360	7.0	7.0
8	15	360	8.0	8.0
9	20	480	9.0	9.0
10	20	480	10.0	10.0
11	25	600	11.0	11.0
12	25	600	12.0	12.0

8. Проведення аналізу

8.1. Калібрувальні проби і контрольну сироватку рекомендується вносити за наступною схемою: в лунки імуносорбенту А-1, А-2 дозатором піпеточним внести по 25 мкл «Калібратора 0», в лунки В-

1, В-2 - по 25 мкл «Калібратора 1», в лунки С-1, С-2 - по 25 мкл «Калібратора 2», в лунки D-1, D-2 - по 25 мкл «Калібратора 3», в лунки Е-1, Е-2 - по 25 мкл «Калібратора 4», в лунки F-1, F-2 - по 25 мкл «Калібратора 5», в лунки G-1, G-2 - по 25 мкл контрольної сироватки. Лунки Н1 і Н2 залишити для вимірювання оптичної щільності ТМБ-Субстратного розчину.

В інші лунки внести дозатором по 25 мкл досліджуваних сироваток в двох повторях.

Увага! Час внесення зразків не повинен перевищувати 10 хв.!

8.2. З чистої ємності з відбраною необхідною кількістю кон'югату (див. п.7.4.) внести піпеточним дозатором по 100 мкл кон'югату у всі лунки планшета, крім лунок Н1 і Н2. Перемішати вміст лунок обертанням планшета на поверхні столу протягом 10 сек.

Смужки планшета закрити кришкою та інкубувати протягом 60 хв. при температурі (37,0 ± 0,5) °С у вологій камері в термостаті.

Для створення вологої камери планшет закрити кришкою, на яку покласти змочений водою фільтрувальний папір, планшет помістити в поліетиленовий пакет, після чого краї пакета звернути вниз.

8.3. Після закінчення зазначеного часу вміст лунок видалити за допомогою вошера (або багатоканальної піпетки) в ємність для збору інфікованого матеріалу, імуносорбент промити 5 разів робочим ПР, заливаючи його до країв лунок (не менше 300 мкл в лунку) і видаляючи промивний розчин за допомогою вошера (або багатоканальної піпетки) в ємність для збору інфікованого матеріалу. По закінченні промивання ретельно видалити залишки рідини з лунок постукуванням рамки зі смужками в перевернутому положенні по фільтрувальному папері. Не допускати залишку рідини в лунках планшета.

8.4. З чистої ємності з відбраною необхідною кількістю ТМБ-Субстратного розчину (див. п.7.7.) внести піпеточним дозатором по 100 мкл розчину в усі лунки відмитого планшета. Планшет витримати протягом 20 хв. у захищеному від світла місці при температурі від 18 до 24 °С.

8.5. Реакцію зупинити додаванням в усі лунки смужок по 150 мкл стоп-реагенту, обережно постукати по краю планшета або струшувати смужки на шейкері протягом 10 секунд і провести облік результатів. Час між зупинкою реакції і вимірюванням ОЩ не повинен перевищувати 20 хвилин.

9. Реєстрація результатів

Реєстрацію результатів проводити спектрофотометрично при довжині хвилі: 450 нм з налаштуванням приладу по «повітря».

Бажано використовувати програму спектрофотометра, що дозволяє віднімати величину ОЩ в лунках з калібрувальною пробю «Калібратор 0» (А1 і А2) зі значень ОЩ всіх інших лунок. Якщо фотометр не дозволяє віднімати величину ОЩ лунок А1 і А2, то для розрахунків концентрації слід використовувати величину різниці ОЩ зразка - ОЩ_{А1А2}, де ОЩ зразка - середнє значення ОЩ в лунках, що містять калібрувальні або випробовувані зразки, а ОЩ_{А1А2} - середнє значення ОЩ лунок А1 і А2.

10. Облік результатів

Реакцію слід враховувати, якщо середнє значення оптичної щільності (ОЩ) в лунках з контролем субстрату (Н1 і Н2) - не більше 0,1.

На бланку для побудови калібрувальної кривої в лінійних координатах по осі абсцис Х відкладають відповідні значення концентрації загального ПСА, вираженої в нг/мл, по осі ординат У відкладають середні значення ОЩ калібрувальних проб. За отриманими точкам будують калібрувальну криву.

Для досліджуваних зразків визначають концентрацію загального ПСА за калібрувальним графіком. Для цього на осі ординат У відзначають значення досліджуваного зразка, проводять пряму до перетину з калібрувальною кривою, від отриманої точки проводять перпендикуляр до осі абсцис Х. Точка перетину покаже значення концентрації загального ПСА в досліджуваному зразку, виражену в нг/мл.

Контрольна сироватка служить для перевірки точності і достовірності результатів. Отримані величини концентрацій загального ПСА в зразках вважати достовірними, якщо обчислене за калібрувальним графіком значення концентрації загального ПСА в контрольному зразку потрапляє в межі, зазначені на етикетці флакона.

Якщо значення вмісту загального ПСА в досліджуваному зразку вище значення калібрувальної проби «Калібратор 5», зразок слід розвести калібрувальною пробю «Калібратор 0» в 10 разів, повторити аналіз, отримане значення вмісту загального ПСА помножити на фактор розведення.

11. Умови зберігання і експлуатації набору

11.1. Набір реагентів повинен зберігатися в упаковці підприємства-виробника при температурі від 2 до 8 °С в захищеному від світла місці протягом усього терміну придатності. Термін придатності набору - 13 місяців.

11.2. Транспортування набору реагентів проводити при температурі від 2 до 8 °С. Припустимо транспортування при температурі від 9 до 20 °С не більше 10 діб.

11.3. У разі дрібного використання компоненти набору необхідно зберігати таким чином:

- Імуносорбент - пакет з невикористаними смужками і силікагелем ретельно герметизувати. Після першого розкриття пакета імуносорбент стабільний протягом 1 місяця при зберіганні при температурі від 2 до 8 °С.
- ПР (концентрат x25) - після розкриття флакона той, що залишився невикористаним ПР (концентрат x 25), зберігати у флаконі, щільно закритому гвинтовою кришкою, протягом терміну придатності набору при температурі від 2 до 8 °С;
- Робочий промивний розчин, підготовлений до використання, зберігати не більше 3-х діб при температурі від 2 до 8 °С.
- Кон'югат - після розкриття флакона той, що залишився невикористаним кон'югат, зберігати у флаконі, щільно закритому гвинтовою кришкою, протягом місяця при температурі від 2 до 8 °С.
- Калібрувальні проби - після розкриття флакона ті, що залишилися невикористаними калібрувальні проби, зберігати у флаконах, щільно закритих гвинтовими кришками протягом місяця при температурі від 2 до 8 °С.
- Контрольна сироватка - після розкриття флакона та, що залишилася невикористаною контрольна сироватка, має зберігатися у флаконі, щільно закритому гвинтовою кришкою, протягом місяця при температурі від 2 до 8 °С.
- ТМБ-Субстратний розчин - після розкриття флакона той, що залишився невикористаним ТМБ-Субстратний розчин, зберігати у флаконі, щільно закритому гвинтовою кришкою, протягом місяця при температурі від 2 до 8 °С.
- Стоп - реагент - після розкриття флакона залишився невикористаним Стоп - реагент зберігати у флаконі, щільно закритому гвинтовою кришкою, протягом терміну придатності набору при температурі від 2 до 8 °С.

11.4. Для отримання надійних результатів необхідно суворе дотримання інструкції.

Рекламації на специфічні та фізичні властивості препарату направляти на адресу підприємства-виробника - ТОВ «Науково виробниче об'єднання «Діагностичні системи» 603093, Росія, м. Нижній Новгород, вул. Яблунева, 22, тел./Факс: (831) 434-86-83 або тел.: (831) 434-97-12.



ОФІЦІЙНИЙ ДИСТРИБ'ЮТОР

ТОВ «ДІАМЕБ»
вул.Чорновола, 97
м. Івано-Франківськ, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com