



Набор ИФА для определения СВОБОДНОГО СПЕЦИФИЧЕСКОГО ПРОСТАТИЧЕСКОГО АНТИГЕНА

Кат. № : EIA-1792
К-во анализов : 96
Производитель : DRG (УСША)

Методика от 25-05-2005

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

НАЗНАЧЕНИЕ

Настоящий набор предназначен для количественного определения ракового свободного специфического простатического антигена в сыворотке человека.

ВВЕДЕНИЕ

Человеческий простат-специфический антиген (ПСА) это сериновая протеаза, одноцепочный гликопротеин молекулярной массой 34 000 дальтон, вмещающий 7% карбогидрата. ПСА иммунологически специфичен простатической ткани, метастатической карциноме простаты, а также простатической и семенной жидкости. ПСА не присутствует ни в какой другой нормальной ткани человека, также он не продуцируется раковыми клетками груди, легких, кишечника, прямой кишки, желудка, поджелудочной и щитовидной железами. Кроме того, он функционально и иммунологически отличается от простатической кислой фосфатазы (ПКФ).

Увеличенный уровень сывороточного ПСА был обнаружен у пациентов с раком простаты, доброкачественной гипертрофией простаты или воспалительными состояниями других соседствующих урогенитальных тканей, но не у здоровых людей, людей с неппростатической карциномой, здоровых женщин или женщин с раковыми заболеваниями. ПСА может быть маркером ответа на лечение пациентов с раком простаты. Таким образом, определение ПСА может быть важным средством для мониторинга пациентов с раком простаты и при оценке эффективности применяемого лечения.

Последние исследования также показали, что измерение ПСА вместе с ректальным пальцевым исследованием может быть полезным для диагностики ранних форм рака простаты.

ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Данный набор является твердо-фазовым иммунным анализом. Анти-f-ПСА мноклональное антитело привито к поверхности микролунок и кроличье анти-ПСА антитело, меченное пероксидазой хрена используется в качестве трейсера. f-ПСА молекулы, что присутствуют в стандартном растворе или сыворотке будут в сэндвиче между двумя антителами. После образования комплекса привитого антитело-антиген-антитело-энзим, несвязанные антитело-энзим трейсера удаляются промыванием. Активность пероксидазы хрена, привитой к ячейке, анализируется колориметрической реакцией. Интенсивность образовавшегося цвета пропорционально концентрации f-ПСА, что присутствует в образце.

РЕАГЕНТЫ

Поставляемые материалы:

- Планшетка на 96 лунок, покрытых мышиными анти- f-ПСА;
- Нулевой буфер, f-ПСА, 13 мл;
- Стандарты, содержащие 0, 1,0, 2,5, 5,0, 10,0 и 25,0 нг/мл f-ПСА, 1 мл/фл. лиофилизированы, 1 набор;
- Ферментный конъюгат, 22 мл;
- ТМБ-реагент (один этап), 11 мл;
- Стоп раствор (1N HCl), 11 мл

Необходимые, но не поставляемые материалы:

- пипетки на 100 мкл, 200 мкл и 1,0 мл;
- сменные наконечники к пипеткам;
- дистиллированная вода;
- вортекс;
- абсорбирующая бумага;
- графическая бумага;
- микропланшетный ридер, способный проводить измерения при 450 нм (± 10 нм).

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Сыворотка должна быть приготовлена с цельной крови, собранной приемлемой медицинской технологией. Набор должен быть использован для сывороточных образцов без примесей.

ХРАНЕНИЯ НАБОРА И ИНСТРУМЕНТАРИЯ

Невыскранные наборы должны храниться при 2-8°C в запечатанном виде вместе с дессикантом. Открытые наборы останутся стабильными до окончания даты годности. Можно использовать фотометр, годный для чтения при 450 нм.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

1. Перед использованием все реагенты должны быть приведены к комнатной температуре.
2. Разбавьте лиофилизованные стандарты 1,0 мл дистиллированной воды. Оставьте их на 20 минут и мягко смешайте. Разбавленные стандарты останутся стабильными 48 часов при 2-8°C.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Пометьте стрипы, которые будут использоваться.
2. Пипеткой внесите 100 мкл стандартов, образцов и контролей в соответствующие лунки планшета.
3. Добавьте 100 мкл нулевого буфера в каждую лунку.
4. Тщательно перемешайте на протяжении 10 сек. Очень важно достичь полного смешивания на данном этапе.
5. Инкубируйте течение 60 минут при комнатной температуре (18-25°C).
6. Вытряхните содержимое лунок.
7. Промойте дистиллированной или деионизированной водой 5 раз.
8. Резко встряхните планшет над фильтровальной бумагой и промокните остатки влаги.
9. Добавьте 200 мкл ферментного конъюгата в каждую лунку. Легко смешивайте 5 секунд.
10. Инкубируйте 60 минут при комнатной температуре (18-25°C).
11. Удалите инкубационную смесь.
12. Промойте дистиллированной или деионизированной водой 5 раз.
13. Резко встряхните планшет над фильтровальной бумагой и промокните остатки влаги.
14. Добавьте 100 мкл ТМБ реагента в каждую лунку. Легко смешивайте 5 секунд.
15. Инкубируйте течение 20 минут при комнатной температуре (18-25°C).
16. Добавьте 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку.
17. Легко смешивайте 30 секунд. Очень важно, чтобы весь голубой цвет стал желтым.
18. Измерьте оптическую плотность лунок при 450 нм ± 10 нм в течении 15 минут.

Важные замечания:

1. Процедура промывания критична. Недостаточное промывание приведет к фальшивым и неточным результатам.
2. Рекомендуется, что б при ручном пипетировании использовались не более 32 лунок при одном анализе, поскольку пипетирование всех стандартов, образцов и контролей необходимо проводить в течении 3 минут. Полный планшет на 96 лунок можно использовать при автоматическом пипетировании.
3. Рекомендуется анализировать стандарты и образцы в дубликаты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. Определите среднюю абсорбцию для каждого набора стандартов, контроля и образцов.
2. Используя линейную или полулогарифмическую бумагу, отметьте точки значения поглощения стандартов в нг/мл на вертикальную ось Y, а соответствующие концентрации на горизонтальную ось X.
3. Используйте среднее значение поглощения для каждого образца, чтобы определить соответствующее значение концентрации f-ПСА в нг/мл со стандартной кривой.

ПРИМЕР ТИПИЧНОЙ СТАНДАРТНОЙ КРИВОЙ

Результаты типичного измерения поглощения стандартов против концентрации f-ПСА. Следующие данные предназначены только для демонстрации и не должны использоваться во время тестирования. Каждый пользователь должен получить свои собственные данные и калибровочную кривую.

ПСА (нг/мл)	Абсорбция (450 нм)
1	0,058
1,0	0,222
2,5	0,447
5,0	0,800
10,0	1,400
25,0	2,817

(Пример кривой см. в оригинальной инструкции).

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Как описано в введении, важным диагностическим параметром не является уровень f-ПСА, но коэффициент свободного ПСА и общего ПСА. Процент свободного ПСА предлагает большое преимущество чем общий ПСА, если значение общего ПСА составило 3,0-10,0 нг/мл. Для данных образцов пациентов разные коммерческие тесты могут дать разные значения общего и свободного ПСА. Пользователь должен принять это во внимание при вычислении процента. Следующая информация взята из Литературы 6, 7, 10, 11, 13, 14-17. Для уровней общего ПСА между 3,0 и 4,0 нг/мл, используя 19% точки исключения для процента свободного ПСА покажет результат при определении 90% всех опухолей. Для уровней общего ПСА между 4,1 и 10,0 нг/мл, наиболее соответствующей точкой исключения для свободного ПСА есть 24%. При этой величине исключения 95% опухолей будет определяться. С соответствием свободному ПСА и значению простаты, доступная информация опять ограничена. Catalona et al первой продемонстрировала важность размера простаты при выборе величины исключения для процента свободного ПСА. В этом изучении, мужчины с опухолью простаты и величиной простаты 400 cc или меньше имели медиану пропорции свободного к общему ПСА 0,092 (9,2%), значение статистически ниже чем 0,159 (15,9%) обнаруженных для пациентов с опухолью простаты или железы > 40,0 cc. Yemoto et al в недавнем изучении 200 мужчин, не показал корреляции между процентом свободного ПСА и объемом простаты. Данные нескольких исследований показывают обратное соотношение между процентом свободного ПСА и общим ПСА. Эти наблюдения предполагают, что высшие ПСА уровни в большинстве случаев ассоциируются с низким процентом свободного ПСА и эти мужчины более часто имеют более агрессивную или развитую опухоль простаты.

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ

Чувствительность этого набора установлена на уровне 0,1 нг/мл.

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

1. Достоверные результаты будут достигнуты только при полном понимании инструкции к набору и при соблюдении квалифицированной лабораторной практики.
2. Процедура промывки крайне важна. Недостаточная промывка приведет к низкой точности и ошибочно повышенным результатам считывания.
3. Образцы сыворотки, демонстрирующие повышенную липемию, гемолиз или мутность не должны использоваться в этом анализе.
4. Полученные результаты должны оцениваться в комплексе с остальными методами исследования и клиническими данными.

ЛИТЕРАТУРА

(См. в оригинале инструкции).

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА:

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