

НАБОР ИФА

ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ИЗМЕРЕНИЯ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ КИСЛОТНОЙ ФОСФАТАЗЫ (PAP)

4227-11, PAP

Каталог. № : 4227-11
Количество : 96
Производитель: DAI (США)

Методика от 05-01-2013



Основой при проведении анализа является оригинал инструкции на английском языке, вложенной в набор. Номер и дата версии оригинала и перевода инструкции должны совпадать.

ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Количество тестов	96 тестов
Тест	Предстательная Кислотная Фосфатаза ИФА
Метод	ИФА: Твердофазный иммуносорбентный анализ
Принцип	ИФА: Пероксидаза-Конъюгированный
Диапазон обнаружения	0-60 нг/мл
Образец	50 мкл сыворотки
Специфичность	98.7 %
Чувствительность	0.2 нг/мл
Общее время	~ 75 минут
Срок хранения	12-14 месяцев
Температура хранения	2-8 °С

**Лабораторные анализы не могут быть единственными критериями для медицинского заключения. История болезни пациента и последующие тесты должны быть приняты во внимание.*

НАЗНАЧЕНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Для количественного измерения предстательной кислотной фосфатазы (PAP) в сыворотке или плазме человека.

ВВЕДЕНИЕ

Ферментная активность предстательной кислотной фосфатазы (PAP) была впервые измерена в моче мужчин и как показали исследования она локализована в органах генитального тракта мужчин. Гутман и его коллеги заявили, что PAP может быть важным маркерным геном опухоли в пациентах с раком простаты, потому что обнаруженные концентрации PAP в сыворотке оказались повышенными в мужчин с первичной предстательной карциномой и метастатическими повреждениями простаты.

В 1938, Гутман и Гутман зафиксировали повышенную активность кислотной фосфатазы в сыворотке пациентов с раком предстательной железы, особенно с метастазами кости. Последующие изучения подтвердили повышенную ферментную активность предстательного происхождения; также, свойства этого предстательного фермента отличались от таковых кислотной фосфатазы в здоровой сыворотке.

Много лет кислотная фосфатаза в сыворотке измерялась спектрофотометрическими анализами, основанными на действии фермента. Эти колориметрические методы используют различные субстраты, некоторые вместе с дифференциальными ингибиторами предстательной кислотной фосфатазы. В общем, этим анализам не хватает чувствительности или специфичности; также, стабильность ферментативной активности сыворотки зависит от времени, температуры и pH. ИФА был разработан, чтобы предложить метод высокой чувствительности и специфичности.

ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Набор ИФА PAP компании «Диагностик Аутомейшн Инк.» (DAI) – микролуночный иммуноферментный анализ, основанный на принципе «сэндвича». Лунки покрыты анти-PAP антителами. Образцы и стандарты инкубируются в покрытых лунках. В течение инкубации, при наличии антигена, на лунках образуется комплекс. Несвязанные вещества смываются. Затем добавляется ферментный конъюгат, образуя сэндвич комплекс. Несвязанные вещества смываются снова. Хромогенный субстрат ТМВ добавляется для того, чтобы образовался цвет. Ферментативная реакция останавливается добавлением и интенсивность образовавшегося цвета считывается с помощью микролуночного считывателя при 450

нм. С использованием стандартов PAP в образцах определяется из калибровочной кривой.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

1. Микролуночные полоски: лунки, покрытые антителами анти-PAP 12 x 8
2. Разбавитель образца 1 флакон, 12 мл
3. Набор калибраторов: 0, 1.5, 5, 15, 30 и 60 нг/мл 1.0 мл/флакон
4. Набор контролей: Отрицательный и Положительный Контроли. Диапазоны указаны на этикетках 1.0 мл/флакон
5. Промывочный Концентрат 20x. Черная крышка 1 флакон, 50 мл
6. Ферментный конъюгат: Раствор красного цвета. Анти-PAP антитела, конъюгированные с пероксидазой хрена 1 флакон, 12 мл
7. Субстрат ТМВ: янтарная бутылка 1 флакон, 12 мл
8. Стоп раствор 1 флакон, 12 мл

СБОР И ОБРАЩЕНИЕ С ОБРАЗЦАМИ

1. Соберите образцы крови и отделите сыворотку.
2. Образцы могут храниться при 2-8°C до 7 дней или в замороженном виде до 6 месяцев. Избегать повторного замораживания и размораживания образца сыворотки.

ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Не пипетировать ртом. Не курить, не принимать пищу и не пить в помещениях, где используются образцы или реагенты набора.
2. Компоненты данного набора предназначены для применения как целостной единицы. Нельзя перемешивать компоненты из разных партий.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Хранить набор при 2-8°C.
2. После вскрытия мешочка остальные лунки необходимо немедленно герметично закрыть в мешочке с высушивающими средствами. Рекомендуется использовать лунки в течение 4 недель.
3. Реагенты стабильны до окончания срока годности набора.
4. Не поддавать реагенты анализа влиянию тепла, солнца или сильного света во время хранения или использования.

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

1. Привести все образцы и реагенты набора к комнатной температуре (20-25°C) и осторожно перемешать.
2. Довести до готовности все реагенты и образцы перед началом анализа. Как только начался анализ, он должен быть проведен без прерывания, чтобы получить наиболее достоверные и непротиворечивые результаты.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

**50 + 50 / 100 / 100
30 / 30 / 15 КТ**

1. Поместите желаемое количество покрытых полосок в держатель.
2. Внесите по 50 мкл стандартов и образцов в соответствующие лунки.
3. Внесите по 50 мкл разбавителя образца в каждую лунку и инкубируйте 30 минут при комнатной температуре.
4. Удалите инкубационный раствор и промойте 3 раза дистиллированной или водопроводной водой.
5. Внесите по 100 мкл ферментного конъюгата в каждую лунку и инкубируйте 30 минут при комнатной температуре.
6. Удалите инкубационный раствор и промойте 3 раза дистиллированной или водопроводной водой.
7. Внесите по 100 мкл хромогенного субстрата ТМВ в каждую лунку и инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.
8. Добавьте по 100 мкл стоп раствора, чтобы остановить реакцию.
9. Считайте ОП микролуночным считывателем при 450 нм.

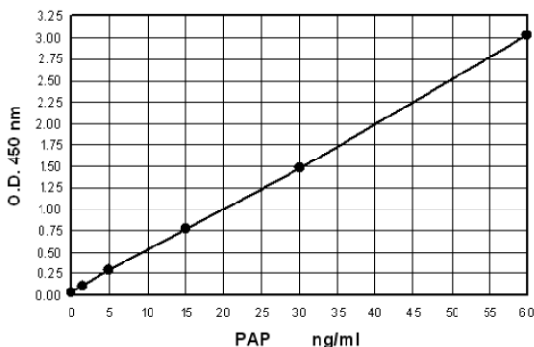
ПРОЦЕДУРНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

1. Важно тщательно промывать микролунки и удалять последние капли воды, чтобы достичь лучших результатов.
2. Пипетировать все реагенты и образцы на дно лунок.
3. Абсорбция - функция времени и температуры инкубаций. Рекомендуется снять все крышки с реагентов и образцов и расположить и закрыть в держателе все необходимые лунки. Это будет гарантировать равномерное распределение времени без прерывания при каждом пипетировании.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. Создайте калибровочную кривую построением ОП при 450 нм на оси ординат против концентрации PAP в нг/мл на оси абсцисс на миллиметровке или логарифмической графической бумаге.
2. Используя значение ОП каждого образца, определите концентрацию PAP из калибровочной кривой.
3. Типичный пример:

Standard Set	PAP (ng/ml)	O.D. 450 nm		O.D. 450 nm Mean	SD	CV %
Standard 1	0	0.046	0.041	0.044	0.004	8.128
Standard 2	1.5	0.108	0.099	0.104	0.006	6.149
Standard 3	5	0.302	0.306	0.304	0.003	0.930
Standard 4	15	0.773	0.778	0.776	0.004	0.456
Standard 5	30	1.501	1.464	1.483	0.026	1.765
Standard 6	60	3.003	3.059	3.031	0.040	1.306
Control 1 -	1.740	0.116	0.113	0.115	0.002	1.853
Control 2 -	27.591	1.232	1.229	1.231	0.002	0.172



ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

1. Рекомендуется, чтобы каждая лаборатория определила свои собственные диапазоны нормы и патологии.
2. Результаты клинического изучения с использованием ИФА PAP ДАИ были обобщены:
 - a. Были проанализированы образцы сыворотки от 95 людей в норме. В этой совокупности 99 % значений составили меньше чем 3 нг/мл.
 - b. Были проанализированы образцы от 69 пациентов с легкой предстательной гипертрофией (ВРН) и 94% полученных значений составили меньше чем 3 нг/мл.
 - c. Образцы от 43 пациентов с предстательной карциномой были проанализированы с результатом 81 % выше чем 3 нг/мл.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Точность (восстановление)

Исследования восстановления были проведены путем смешивания аликвота объединенной сыворотки и PAP стандарта. Значения PAP были измерены и определено процентное соотношение воспроизведение.

Исходные значения нг/мл	Насыщ. конц. нг/мл	Ожидаемые значения нг/мл	Наблюд. значения нг/мл	Восстановл. %
A:	4	5	4.5	100
	4	15	9.5	105
B:	4	30	17.0	99
	10.8	5	7.9	105
	10.8	15	12.9	101
	10.8	30	20.4	99
C:	28	3	15.5	97
	28	5	16.5	103
	28	15	21.5	109

Параллелизм

Разбавление	Вычисленный (нг/мл)	Наблюдаемый (нг/мл)	Восстановл. %
4 в 4		86.0	
3 в 4	64.5	69.7	108
2 в 4	43.0	45.2	105
1 в 4	21.5	21.0	98

Точность (воспроизводимость)

Коэффициент вариации между анализами (к-во=12) и в пределах анализа (к-во = 12) был оценен в 3 различных объединенных образцах сыворотки:

	Между анализами			В пределах анализа		
	Объед. А	Объед. В	Объед. С	Объед. А	Объед. В	Объед. С
К-во	12	12	12	12	12	12
Среднее (нг/мл)	3.73	9.91	18.7	5.62	11.21	22.75
СО (нг/мл)	0.20	0.98	0.96	0.23	0.62	0.94
КВ %	5.28	9.92	5.15	4.15	5.57	4.14

Чувствительность

(минимальная обнаруживаемая концентрация)

Минимальная обнаруживаемая концентрация PAP составляет 0.2 нг/мл. Минимальная обнаруживаемая концентрация определена как та концентрация PAP, которая соответствует значению абсорбции, то есть, двум стандартным отклонениями больше чем среднее значение абсорбции 20 определений репликатов разбавленных образцов.

Специфичность (перекрестная реактивность)

Следующие человеческие гормоны и опухолевые маркеры были проанализированы на перекрестную реактивность данного анализа.

Проанализированные Гормоны или опухолевые маркеры	Количество	Эквивалент создавшейся интенсивности света для PAP (нг/мл)
Человеческий TSH	25 МЕ/мл	Неопределяемый
Человеческий AFP	100 МЕ/мл	Неопределяемый
Человеческий СЕА	30 нг/мл	Неопределяемый

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Значения PAP должны использоваться как дополнение к другим данным, располагаемым врачом.
2. Чтобы получить точное значение образца с уровнем PAP более, чем 60 нг/мл, он должен быть разбавлен.



ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

ООО «ДИАМЕВ»
ул.Черновола, 97
г. Ивано-Франковск, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com