



Набор для определения СПЕЦИФИЧЕСКОГО ПРОСТАТИЧЕСКОГО АНТИГЕНА PSA EIA KIT

Кат. № : 105-1778
Количество тестов : 96
Производитель : DRG (USA)

Внимание: основной при проведении анализа есть оригинал инструкции на англ. языке.

НАЗНАЧЕНИЕ.

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

ВСТУПЛЕНИЕ.

Человеческий простат-специфический антиген (PSA) это сериновая протеаза, одноцепочный гликопротеин молекулярной массой 34 000 дальтон, вмещающий 7% карбогидрата. PSA иммунологически специфичен простатической ткани, метастатической карциноме простаты, а также простатической и семенной жидкости. PSA 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 (PAP).

Увеличенный уровень сывороточного PSA 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. PSA может быть маркером ответа на лечение пациентов с раком простаты. Таким образом, определение PSA может быть важным средством для мониторинга пациентов с раком простаты и при оценке эффективности применяемого лечения.

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

ПРИНЦИП МЕТОДА.

Набор DRG PSA ELISA базируется на принципе твердофазового ферментно связанного иммуносорбентного теста. Система набора взаимодействует с кроличьими анти-PSA антителами, направленными против интактных PSA для иммобилизации на твердой фазе (лунки планшетки). Моноклональное анти-PSA

антитело конъюгировано с пероксидазой (HRPO) и содержится в растворе антитело-ферментного конъюгата. Образец сперва реагирует с иммобилизованным кроличьим антигеном при комнатной температуре в течении 60 минут. Лунки промываются для удаления несвязанного антигена. Потом с иммобилизованным антигеном при комнатной температуре на протяжении 60 минут реагирует моноклональный анти-PSA-HRPO-конъюгат с образованием сэндвича молекул PSA, расположенных между твердой фазой и ферментно связанными антителами. Для удаления несвязанных антител лунки промывают водой. Добавляется раствор TMB и инкубируют при комнатной температуре 20 минут, что приводит к образованию голубого цвета. Развитие цвета останавливают добавлением стоп раствора, изменяя голубой цвет на желтый. Концентрация PSA прямо пропорциональна интенсивности цвета образца. Абсорбция измеряется на фотометре при 450 нм.

РЕАГЕНТЫ.

Поставляемые материалы:

- Планшетка на 96 лунок, покрытых кроличьими анти- PSA;
- Нулевой буфер, 7 мл;
- Стандарты, содержащие 0, 2, 4, 15, 60 и 120 нг/мл PSA, лиофилизированы, 1 набор;
- Ферментный конъюгат, 12 мл;
- TMB-реагент (один этап), 11 мл;
- Стоп раствор (1N HCl), 11 мл

Необходимые, но не поставляемые материалы.

- пипетки на 0,02, 0,05, 0,10, 0,20 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 ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ.

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

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ.

Невскрытые наборы должны храниться при 2-8⁰С в запечатанном виде вместе с десикантом. Открытые наборы останутся стабильными до окончания даты годности. Можно использовать фотометр, годный для чтения при 450 нм.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ 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 30 дней при 2-8⁰ С.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА.

1. Пометьте стрипы, которые будут использованы.

2. Пипеткой внесите **50 мкл** стандартов, образцов и контролей в соответствующие лунки планшета.
3. Добавьте **50 мкл** нулевого буфера в каждую лунку.
4. Тщательно перемешайте на протяжении **30 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 **100 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** ТМВ 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 ячеек при **450 нм ± 10 нм** в течении **15 минут**.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.

1. Определите среднюю абсорбцию для каждого набора стандартов, контроля и образцов.
2. Используя линейную или полулогарифмическую бумагу, отметьте точки значений 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 PSA в нг/мл простой интерполяцией со стандартной кривой.

ПРИМЕР ТИПИЧНОЙ СТАНДАРТНОЙ КРИВОЙ

Результаты типичного измерения поглощения стандартов против концентрации PSA. Следующие данные предназначены только для демонстрации и не должны использоваться во время тестирования:

PSA (нг/мл)	Абсорбция (450 нм)	Корректированная абсорбция (450 нм)
0	0,079	0,000
2	0,163	0,084
4	0,250	0,171
15	0,708	0,629
60	2,034	1,955
120	3,043	2,964

ПРИМЕР КРИВОЙ СМОТРИ В ОРИГИНАЛЬНОЙ ИНСТРУКЦИИ

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ.

У здоровых мужчин уровень PSA ниже 4 нг/мл. Минимальная определяемая набором концентрация PSA 0,25 нг/мл.

ОГРАНИЧЕНИЯ К ПРОЦЕДУРЕ.

1. Достоверные результаты будут достигнуты только при полном понимании инструкции к набору.
2. Промывание критический этап. Недостаточное промывание приведет к неточности результатов.
3. Полученные результаты должны оцениваться в комплексе с остальными методами исследования и клиническими данными.

Информация для заказа:

ЧМП «ДИАМЕБ»
 Ул. Чорновола 97,
 г. Ивано-Франковск, 76005
 Тел.: +38 (0342) 77 51 22
 Тел/факс: +38 (0342) 77 56 12
 E-mail: info@diameb.com