Набор ИФА
для определения
ПРОСТАТИЧЕСКОГО СПЕЦИФИЧЕСКОГО АНТИГЕНА (ПСА)

Кат. № **: 4222Z**
Количество **: 96**
Производитель **: DAI (США)**

Методика от ***13-08-2012***

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

ТОЛЬКО ДЛЯ ДИАГНОСТИЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ IN VITRO

НАЗНАЧЕНИЕ
Набор ИФА ПСА предназначен для количественного определения простатического специфического антигена в сыворотке человека.

ВВЕДЕНИЕ
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 семинальной 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 непростатической карциномой, здоровых женщин или женщин с раковыми заболеваниями. PSA является 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 цифровым исследованием может быт полезным для диагностики ранних форм рака простаты.

ПРИНЦИП ИССЛЕДОВАНИЯ
Набор DRG PSA ELISA основывается на принципе твердофазового ферменто-связанного иммуносорбентного анализа. Кроличье анти-ПСА покрывает поверхность лунок микропланшета, а другое моноклональное анти-ПСА антитело, меченное пероксидазой хрена, используется в качестве меченного атома. Присутствующие молекулы ПСА в растворе стандарта или сыворотке попадают в «сэндвич» между двумя антителами. Следом за формированием покрывающего комплекса антитело-антиген-антитело-фермент, несвязанный трейсер антитело-фермент удаляется промыванием. Активная пероксидаза хрена связывается в лунке, а затем анализируется колориметрической реакцией. Интенсивность развитого цвета пропорциональна концентрации ПСА в образце.

МАТЕРИАЛЫ И КОМПОНЕНТЫ

Поставляемые материалы в наборе для исследования:
- **Микротитровальный планшет,** покрытый антителами на 96 лунок.
- **Нулевой буфер**, 12 мл.
- **Референтные стандарты**, содержащие 0, 2, 4, 15, 50 и 100 нг/мл ПСА, жидкие, готовые к использованию, 1 набор;
- **Реагент ферментного конъюгата**, 12 мл;
- **Субстрат ТМВ**, 12 мл;
- **Стоп раствор**, 12 мл;
- **Концентрат промывочного буфера (50x)**, 15 мл.

Необходимые, но не поставляемые материалы.
- Точные пипетки: 0,040 - 0,2 мл;
- Сменные наконечники к пипеткам;
- Дистиллированная вода;
- Вихревой смеситель или аналог;
- Промокательная бумага или бумажное полотенце;
- Графопостроительная бумага;
- Микротитровальный планшет-ридер с шириной дорожки 10 нм или меньше и диапазоном оптической плотности 0-2 или больше при 450 нм, является приемлемым для использования в измерении абсорбции.

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ
1. Сыворотка должна быть приготовлена с цельной крови, собранной подходящей медицинской методикой и сыворотка должна быть отделена от красных телец крови как можно быстрее. Избегайте сильно гемолизированной, липемической и мутной сыворотки.
2. Образцы плазмы, собранные в пробирки, содержащие ЭДТА, гепарин или оксалат, могут влиять на процедуру теста и их необходимо избегать.
3. Образцы необходимо закрыть и хранить 48 часов при 2-8^{0}C до начала анализа. Образцы для более длительного срока хранения необходимо заморозить до -20^{0}C. Размороженные образцы следует перемешать перед тестированием.

ХРАНЕНИЕ НАБОРОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ
Невскрытые наборы должны храниться после получения при 2-8^{0}C. Для минимизации влияния влажного воздуха микротитровальный планшет должен хранится при 2-8^{0}C в запечатанном виде вместе с осушителями. Открытые наборы остаются стабильными до окончания срока годности, при условии, что они хранятся с соблюдением вышеуказанных условий.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ
1. Перед использованием все реагенты должны быть приведены к комнатной температуре (18-22^{0}C).
2. Разбавьте 1 часть промывочного буфера (50x) 49 частями дистиллированной воды. Например, разбавьте 15 мл промывочного буфера (50x) дистиллированной водой, чтобы приготовить 750 мл промывочного буфера (1x). Перед использованием хорошо перемешать.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА
1. Закрепить необходимое количество покрытых лунок в держателе.
2. Распределить 50 мкл стандартов, образцов и контролей в соответствующие лунки.
3. Распределить 100 мкл нулевого буфера в каждую лунку.
4. Тщательно перемешать в течение 10 секунд. Очень важно иметь полное смешение в этом положении.
5. Инкубировать при комнатной температуре (18-22 °C) на протяжении 60 минут.
6. Удалить инкубационную смесь методом опорожнения содержимого планшета в контейнер с отходами.
7. Сполоснуть и опорожнить лунки микропланшета 5 раз с использованием промывочного буфера (1x).
8. Резко ударить лунки на впитывающую бумагу или бумажные полотенца для удаления всех остаточных водных капель.
9. Распределить Реагент ферментного конъюгата в каждую лунку. Аккуратно перемешать в течение 5 секунд.
10. Инкубировать при комнатной температуре (18-22 °C) на протяжении 60 минут.
11. Удалить инкубационную смесь методом опорожнения содержимого планшета в контейнер с отходами.
12. Сполоснуть и опорожнить лунки микропланшета 5 раз с использованием промывочного буфера (1x).
13. Резко ударить лунки на впитывающую бумагу или бумажные полотенца для удаления всех остаточных водных капель.
14. Распределить 100 мкл раствора ТМВ в каждую лунку. Аккуратно перемешать в течение 5 секунд.
15. Инкубировать при комнатной температуре в течение 20 минут.
16. Остановить реакцию добавлением 100 мкл Стоп раствора в каждую лунку.
17. Аккуратно перемешать в течение 30 секунд и убедиться в том, что цвет полностью поменялся с синего на желтый.
18. Используя микротитровальный планшет-ридер считать оптическую плотность при 450 нм в течение 20 минут.

Внимание:
1. Процедура промывки имеет большое значение. При недостаточно тщательном промывании результаты будут неточными, и уровень оптической плотности лунок будет завышен.
2. В случае ручного пипетирования не рекомендуется в одном анализе использовать более 32 лунок, так как внесение всех калибровочных, контрольных и исследуемых образцов не должно занимать более 3 минут. В случае автоматического

пипетирования можно использовать весь планшет из 96 лунок.
3. Хотя дублирование всех стандартов и образцов не требуется, но рекомендуется.

РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Определите среднее значение абсорбции (A_{450}) для каждого набора референтных стандартов, контролей и образцов пациентов. На графопостроительной бумаге постройте калибровочную кривую отмечая среднюю абсорбцию, полученную от каждого референтного стандарта против его концентрации в нг/мл. Значения абсорбции размещаются на вертикальной, или оси Y, а концентрации на горизонтальной, или оси X. Используйте среднее значение поглощения для каждого образца, чтобы определить с калибровочной кривой соответствующую концентрацию ПСА в нг/мл.

ПРИМЕР КАЛИБРОВОЧНОЙ КРИВОЙ

Результаты типичного измерения поглощения стандартов со считыванием оптической плотности при 450 нм указаны на оси Y против концентраций ПСА на оси X.

ПСА (нг/мл)	Абсорбция (450 нм)
0	0,008
2	0,231
4	0,447
15	1,254
50	2,659
100	3,593

Настоящая калибровочная кривая предоставлена только в качестве примера и не должна использоваться для вычисления неизвестных значений. Каждый пользователь должен получить свою собственную калибровочную кривую и данные.

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ

Здоровые мужчины до 50 лет должны иметь значения ПСА **ниже 4 нг/мл**. Однако уровень ПСА также зависит тот возраста. Поэтому. диапазон нормы ПСА отличается с возрастом. Ниже см. пример данных, касающихся возраста:

Возраст 40-49	0.0-2.5 нг/мл
Возраст 50-59	0.0-3.5 нг/мл
Возраст 60-69	0.0-4.5 нг/мл
Возраст 70-79	0.0-6.5 нг/мл

Минимально определяемая набором концентрация ПСА составила **0,5 нг/мл**.

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

1. Достоверные результаты будут достигнуты только при полном понимании инструкции к набору и соблюдении правил лабораторной практики.
2. Процедура промывки очень важна. Недостаточное промывание приведет к низкой точности и ошибочно повышенным считываниям абсорбции.
3. Гетерофильные антитела, такие как человеческие анти-мышиные антитела (HAMA) часто обнаруживаются в сыворотке человека. Эти антитела могут сильно влиять при некоторых иммунодиагностических процедурах. Настоящий набор разработан для минимизации этого влияния. Но полное исключение этого влияния для всех образцов пациентов невозможно гарантировать. Полученные результаты должны оцениваться в комплексе с остальными методами исследования и клиническими данными.

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