



**Набор ИФА**  
**для количественного определения**  
**в сыворотке человека**  
**СВОБОДНОГО СПЕЦИФИЧЕСКОГО**  
**ПРОСТАТИЧЕСКОГО АНТИГЕНА (f-PSA)**

**Каталог. №** : 4322Z  
**Количество** : 96  
**Производитель** : DAI (США)

*Методика от 10-10-2009*

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

<b>Анализ</b>	<b>Free PSA</b>
<b>Метод</b>	<b>Иммунсорбентный анализ с применением фиксированных ферментов</b>
<b>Принцип</b>	<b>Конъюгированный пероксидазой ИФА</b>
<b>Диапазон обнаружения</b>	<b>0-10 нг/мл</b>
<b>Образец</b>	<b>100 мкл сыворотки</b>
<b>Специфичность</b>	<b>98,7 %</b>
<b>Чувствительность</b>	<b>0,05 нг/мл</b>
<b>Общее время</b>	<b>~ 180 мин.</b>
<b>Срок годности</b>	<b>12-14 мес.</b>

#### НАЗНАЧЕНИЕ

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

#### ПРИНЦИП

Набор DAI f-PSA ELISA базируется на принципе твердофазного ферментно-связанного иммунсорбентного анализа. Моноклональное анти-f-PSA антитело покрывает поверхность лунок микропланшета, а другое моноклональное анти-f-PSA антитело, меченное пероксидазой хрена, используется в качестве трейсера. Присутствующие молекулы f-PSA в растворе стандарта или сыворотке получают в сэндвиче между двумя антителами. Следом за формированием покрывающего комплекса антитело-антиген-антитело-фермент, несвязанный антитело-фермент трейсер удаляется промыванием. Потом активность пероксидазы хрена, связанной в лунке анализируется колориметрической реакцией. Интенсивность развитого цвета пропорциональна концентрации f-PSA в образце.

#### МАТЕРИАЛЫ И КОМПОНЕНТЫ

**Поставляемые в наборе для анализа материалы:**

- Планшет на 96 лунок, покрытых антителом.
- Разбавитель образца, 12 мл.
- Референтные стандарты, содержащие 0, 0,1, 0,5, 2,0, 5,0 и 10,0 нг/мл f-PSA, жидкие стандарты, готовы к использованию, 1 набор.
- Ферментный конъюгат, 22 мл.
- Субстрат ТМБ, 12 мл.
- Стоп-раствор, 12 мл.
- Концентрат промывочного буфера (50x), 15 мл.

**Необходимые, но не поставляемые материалы.**

- Точные пипетки на 0,04, 0,2, и 1,0 мл.
- Сменные наконечники к пипеткам.
- Дистиллированная вода.
- Вихревой смеситель или аналог.
- Промокательная бумага или бумажные полотенца.
- Графопостроительная бумага.
- Планшет-ридер с шириной дорожки 10 нм или меньше и оптической плотностью 0-2 ОП или выше при длине волны 450 нм.

#### СБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

1. Соберите кровь, используя стандартную технологию венопункции, и отделите как можно быстрее сыворотку от красных кровяных клеток. Избегайте высоко липемических, гемолитических или мутных образцов.

2. Плазма, собранная в пробирки, содержащие EDTA, гепарин или оксалат, могут влиять на результаты анализа.
3. Образцы должны храниться закрытыми 48 часов при 2-8°C, для более длительного хранения она должна быть заморожена до -20°C. После оттаивания, образцы следует хорошо перемешать до начала исследования.

#### ХРАНЕНИЕ НАБОРОВ И ИНСТРУМЕНТАРИЯ

1. Невскрытые наборы следует хранить при 2-8°C после получения, а планшет в закрытой упаковке с влагопоглотителем до конца срока годности. Набор для анализа может использоваться до окончания срока годности (один год после даты изготовления). Смотрите дату годности, указанную на этикетке.
2. Вскрытые наборы остаются стабильными до окончания срока годности при хранении как указано выше.
3. Микротитрационный планшет-ридер с шириной дорожки 10 нм или меньше и оптической плотностью 0-2 ОП или выше при длине волны 450 нм используется для измерения абсорбции.

#### ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

1. Перед использованием все реагенты должны быть приведены к комнатной температуре (18-22°C) и хорошо смешаны до начала исследования. Избегайте появления пены.
2. Разбавьте 1 часть промывочного буфера (50x) с 49 частями дистиллированной воды. Например, разбавьте 15 мл промывочного буфера (50x) с дистиллированной водой для приготовления 750 мл промывочного буфера (1x). Тщательно перемешайте перед использованием.

#### ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Пометьте стрипы, которые будут использованы.
2. Внесите **100 мкл** стандартов, образцов и контролей в соответствующие лунки планшета.
3. Добавьте **100 мкл** разбавителя образца в каждую лунку.
4. Тщательно перемешайте на протяжении **10 сек.** Очень важно достичь полного смешивания на данном этапе.
5. Инкубируйте течение **60 минут** при 37°C.
6. Вытряхните инкубационную смесь с лунок.
7. Промойте промывочным буфером (1x) **5 раз.**
8. Резко встряхните планшет над абсорбирующей бумагой или бумажным полотенцем для удаления остатков влаги..
9. Добавьте **200 мкл** ферментного конъюгата в каждую лунку. Легко смешивайте **5 секунд.**
10. Инкубируйте **60 минут** при 37°C.
11. Удалите инкубационную смесь в подходящую емкость для отходов.
12. Промойте промывочным буфером (1x) **5 раз.**
13. Резко встряхните планшет над промокательной бумагой для удаления остатков влаги.
14. Добавьте **100 мкл** ТМБ реагента в каждую лунку. Легко смешивайте 5 секунд.
15. Инкубируйте течение **20 минут** при комнатной температуре в темноте.
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** в течении **20 минут.**

#### Важные замечания:

1. Процедура промывки крайне важна. Неточное промывание приведет к завышенной абсорбции и неточным результатам.
2. Рекомендовано использование 32 лунок для одного исследования при ручном пипетировании, поскольку пипетирование всех стандартов, образцов или контролей должно быть проведено в течении 3 мин. Использование всего планшета на 96 лунок возможно при автоматическом промывании.
3. Дублирование стандартов и образцов не требуется, но рекомендуется.
- 4.

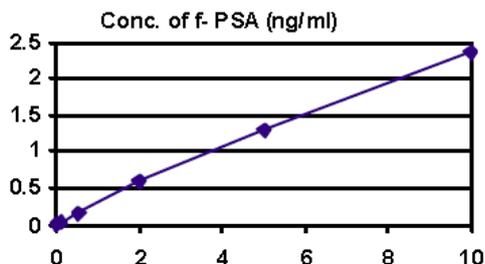
#### ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. Вычислите среднее значение абсорбции ( $A_{450}$ ) для каждого набора стандартов, контролей и образцов. Постройте калибровочную кривую, откладывая среднюю абсорбцию каждого стандарта против его концентрации в нг/мл. Абсорбция откладывается на оси Y, а концентрация на оси X. Используйте среднее значение поглощения для каждого образца, чтобы определить соответствующее значение концентрации f-PSA в нг/мл с калибровочной кривой.

**ПРИМЕР КАЛИБРОВОЧНОЙ КРИВОЙ**

Результаты типичного измерения поглощения стандартов против концентрации f-PSA. Следующие данные предназначены только для демонстрации и не должны использоваться для расчета неизвестных значений. Каждый пользователь должен построить собственную калибровочную кривую.

f-PSA (нг/мл)	Абсорбция (450 нм)
0	0,006
0,1	0,032
0,5	0,155
2,0	0,597
5,0	1,302
10,0	2,361

**Чувствительность**

Минимально определяемая концентрация f-PSA в данном анализе равна 0,05 нг/мл.

**Перекрестная реактивность**

Антигены	Концентрация	% перекрестной реактивности
PSA-ACT	500 нг/мл	0,2
AFP	10,000 нг/мл	0
CEA	5,000 нг/мл	0
CA 125	1,000 Е/мл	0
CA 15-3	1,000 Е/мл	0
CA 19-9	1,000 Е/мл	0
-HCG	1,000 нг/мл	0
β-HCG	1,000 нг/мл	0
HCG	50,000 мМЕ/мл	0

**Точность**

В анализе

	Репликации	СО	КВ%
Уровень I	20	0,005	13,1
Уровень II	20	0,011	4,4
Уровень III	20	0,128	3,2

**Линейность**

Две сыворотки пациента, последовательно разбавленные 0 нг/мл. Среднее восстановление равно 108,7%.

**Образец А**

Разбавление	Ожидаемые	Полученные	% Восстановл.
Неразбавленный	8,691	8,691	100
2X	4,346	4,455	102,5
4X	2,173	2,290	105,4
8X	1,086	1,258	115,8
16X	0,543	0,617	113,6
32X	0,272	0,294	108,1
64X	0,136	0,147	108,1

Среднее восстановление 107,6%

**Образец В**

Разбавление	Ожидаемые	Полученные	% Восстановл.
Неразбавлен	7,015	7,015	100
2X	3,508	3,516	100,2
4X	1,754	1,834	104,6
8X	0,877	0,970	110,6
16X	0,438	0,509	116,2
32X	0,219	0,249	113,7
64X	0,110	0,136	123,6

Среднее восстановление 109,8%

**Восстановление**

Равные части разбавленной сыворотки пациента смешаны для тестирования влияния неизвестных образцов, как лекарства или гормоны, в этом анализе. Концентрация f-PSA была определена перед (оригинальный и добавленный) и после (полученный). Среднее восстановление равно 99,2%.

(См. оригинал инструкции).

**ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ**

1. Достоверные результаты будут достигнуты только при полном понимании инструкции к набору.
2. Промывание важный этап. Недостаточное промывание приведет к неточности результатов.
3. Гетерофильные антитела, такие как человеческие анти-мышинные антитела (НАМА) часто найдены в сыворотке человека. Эти антитела могут влиять при некоторых иммунодиагностических процедурах. Данный набор разработан для минимизации этого влияния. Но полное исключение этого влияния для всех образцов пациентов не можно 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](mailto:info@diameb.ua)  
[www.diameb.ua](http://www.diameb.ua)