



## Набор ИФА для определения в человеческой сыворотке ОБЩЕГО АНТИГЕНА ПРОСТАТЫ

Кат. № : E-TPS-1P  
Количество : 96  
Производитель : Dima Diagnostika (Германия)

Методика от 14-10-2008

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

### ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Настоящий набор используется для количественного определения общего специфического антигена простаты (t-PSA) в образцах человеческой сыворотки или плазмы. Определение уровня t-PSA используется для оценки риска карциномы простаты у мужчин в сочетании с цифровым ректоскопическим обследованием или для мониторинга эффективности лечения у пациентов карциномы простаты.

### ПРИНЦИП МЕТОДА

Данный набор является твердо-фазовым ферменто-связанным иммуносорбентным анализом (ELISA), снованным на принципе «сэндвича». Микротитровальные лунки покрыты антителом, направленным на эпитоп молекулы антигена. Аликвот сыворотки пациента инкубируется в покрытой лунке с вторым антителом, конъюгированным ферментом (E-Ab), направленным на разные области молекулы антигена. После инкубации несвязанное E-Ab вымывается. Количество связанного E-Ab пропорционально концентрации антигена в образце. После добавления раствора субстрата, интенсивность образовавшегося цвета пропорциональна концентрации антигена в образце. Измеренные ОП стандартов используются для отображения калибровочной кривой, из которой определяются неизвестные образцы.

### РЕАГЕНТЫ

Каждый набор содержит реагенты, достаточные для 96 определений.

- Микропланшет** (12x8) для 96 определений.
- 5 ПСА-стандартов:** готовы к использованию реагенты (0,50 мл) в следующих концентрациях: 25 нг ПСА/мл; 12,5 нг ПСА/мл; 6,25 нг ПСА/мл; 3,1 нг ПСА/мл; 1,56 нг ПСА/мл.  
Консерванты: Тимерозал 0,02%, Катон 0,1%.
- Нулевой стандарт/Разбавитель:** готов к использованию (10 мл).
- Контроль:** готовые к использованию (0,50 мл).  
Консерванты: Тимерозал 0,02%, Катон 0,1%.
- Конъюгат ПСА:** готов к использованию (12 мл).
- ТМБ-субстрат:** готов к использованию (12 мл).
- Стоп-раствор:** (12 мл). Содержит серную кислоту.

### НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

- Пипетки высокой точности, объемом 25 и 100 мкл со съёмными наконечниками.
- Дистиллированная вода.
- ELISA фотометр с фильтрами на 450 и 630 нм.
- Таймер.
- Микропланшетный вошер.
- Вихревой смеситель или другой аналогичный аппарат.
- Контейнер для соответствующей обработки отходов и образцов после их использования.

### ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить набор при 2 - 8°C.
- Привести к комнатной температуре (18-25°C) за 30 минут перед началом использования. После использования поместить обратно в холодильник. Избегать долгосрочного хранения при комнатной температуре.
- Не используйте набор или компоненты после истечения срока годности. Срок годности указано на этикетке набора анализа.
- Немедленно закрывайте бутылки после использования
- Храните планшет с осушителем в поставляемом пакете. Неиспользуемые компоненты должны всегда храниться в таком виде.
- Убедитесь, что все компоненты набора не заморожены.

### ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

С реагентами и образцами следует обращаться как с потенциально инфицированными.

Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие антител к гепатиту В, С и ВИЧ 1 и 2. Однако, ни один метод не может гарантировать, что продукты человеческого происхождения не инфицированы. Следовательно, с реагентами и образцами сыворотки следует обращаться как с потенциально инфекционно опасными. Реагенты анализа могут содержать азид натрия или тимерозал, которые токсичны при вдыхании. Азид натрия может реагировать с медью или свинцом, формируя взрывоопасные соли. При выбрасывании, смывайте большим количеством воды. Стоп раствор содержит соляную кислоту. При контакте с кожей, тщательно промойте водой и обратитесь за помощью. Поскольку соляная кислота, что используется для остановки реакции, является коррозионной, после использования инструмент следует тщательно промывать водой. Этот набор для диагностики in vitro. Не пипетируйте ртом и избегайте контакта с кожей и слизистыми. В противном случае, формите больше количеством воды. При работе с реагентами не ешьте, не пейте и не курите. При работе используйте перчатки. Микробиологическое загрязнение может дать фальшиво отрицательные результаты.

### УКАЗАНИЯ ПО СБОРЕ ОБРАЗЦОВ, ПОДГОТОВКА И ХРАНЕНИЕ

#### Сбор образцов

Образцы крови собираются путем венепункции. Следует учитывать, что на уровень ПСА в крови влияют различные факторы.

#### Подготовка образцов

Подготовка образцов сыворотки или плазмы проводится по стандартным методикам. Сыворотка или плазма должны быть подготовлены как можно скорее, чтобы избежать гемолиза и улучшить стабильность ПСА.

#### Хранение образцов

Для анализа должна использоваться свежие образцы сыворотки или плазмы. Если они не используются немедленно, их можно хранить 1 неделю при 2-8 °С. При более длинном хранении их необходимо заморозить до -20 °С. Повторного размораживания и размораживания образцов следует избегать.

#### Примечание:

- Высоко гемолизированные и липемические образцы могут давать неправильные аналитические результаты.
- Образцы не должны быть микробиологически загрязнены.
- Образцы, содержащие высокие титры ревматоидного фактора и анти мышечные гетерофильные антитела, могут давать ошибочные результаты.

### ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

*Примечание: Настоятельно рекомендуется проводить все измерения в дублях. При каждом измерении должна быть построена калибровочная кривая. Для получения наилучших результатов важно. Чтобы растворы всегда добавлялись в лунки в одном порядке с целью минимизации отклонений во времени инкубации (18-25°).*

- Перед использованием все реагенты, стандарты, контроли и образцы необходимо довести до комнатной температуры (18-25°).
- Проверить даты сроков годности флаконов и планшета (включая мешочек), а также наличие повреждений.
- Разместить требуемые лунки микропланшета. Следует учитывать, что все измерения должны проводиться в дублях. Зафиксировать местоположение лунки и соответствующих образцов, стандартов и контролей, чтобы обеспечить их распознавание в дальнейшем. Любые неиспользованные стрипы микролунок вернуть обратно в герметично запечатывающийся мешочек с осушителем, закрыть мешочек и хранить при (2-8°).
- Раскапать по 25 мкл стандартов, контролей и образцов в каждую лунку. Образцы с ожидаемыми высокими значениями ПСА, более 25 нг/мл необходимо развести раствором для разведения.
- Инкубировать 5 минут при комнатной температуре (18-25°C).
- Добавить 100 мкл конъюгата пероксидазы в каждую лунку.
- Смешать, двига плашку по столу (10 сек.).

8. Инкубировать при комнатной температуре 1 час (18-25°C).
9. Удалить раствор из лунок аспирацией или декантацией. При декантации постучать планшетом о промокательную бумагу, чтобы удалить оставшуюся жидкость.
10. Для промывки наполнить лунки дистиллированной водой и оставить на 15 секунд, повторить промывку 5-6 раз. Рекомендуется следующая процедура: 6 раз промыть лунки дистиллированной водой 250 мкл на лунку. Предпочтительно использовать автоматизированную процедуру промывки, проследить, чтобы промывочный раствор оставался в каждой лунке одинаковое количество времени. Это необходимо для получения минимальных значений КВ!
11. Раскапать 100 мкл раствора субстрата ТМБ в каждую лунку.
12. Инкубировать 20 минут при комнатной температуре (18-25°C).
13. Добавить 100 мкл стоп-раствора (в том же порядке, что и раствор субстрата)
14. Считать абсорбцию (ОП) при 450 нм (слепая проба при 630 нм).

### Результаты

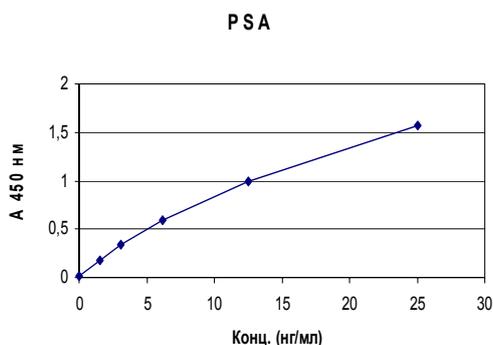
1. Рассчитать среднее значение абсорбции для каждого дубля.
  2. Вычесть среднее значение абсорбции нулевого стандарта от средних значений абсорбции стандартов, контролей и образцов.
  3. Отобразить стандартную кривую на лин.-лог. графической бумаге, выводя значения абсорбции стандартов против соответствующих значений концентрации ПСА, или использовать соответствующее ПО используемого ИФА-ридера.
- Считать и рассчитать концентрации ПСА контролей и образцов.

### ДОСТОВЕРНОСТЬ АНАЛИЗА

1. ОП 450 нм луки бланка (слепой пробы) ниже 0,150. Вышие значения указывают на загрязнение хромогена/субстрата. В этом случаи повторить анализ проверяя реагент.
2. ОП 450 нм наивысшего стандарта (25 нг/мл) должна быть выше 0,700. Низшие значения указывают на ухудшение качества набора или контроля. В этом случаи, проверить дату истечения срока годности набора перед проведением повторного анализа.
3. Поставляемый контроль не должен отличаться больше чем на 15% при использовании в дубликате.
4. Ниже предоставлена таблица и стандартная кривая типового анализа – не использовать для расчета фактических результатов исследования.

Лунки	Наименование	450 нм		Конц. нг/мл
1-2	Стандарт 0 нг/мл	0,022	0,023	
3-4	Стандарт 1.56 нг/мл	0,178	0,180	
5-6	Стандарт 3.10 нг/мл	0,337	0,342	
7-8	Стандарт 6.20 нг/мл	0,611	0,568	
9-10	Стандарт 12.50 нг/мл	0,990	0,984	
11-12	Стандарт 25.00 нг/мл	1,574	1,562	
13-14	Контроль	0,421	0,400	3,98

Серия 30902.2



### КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Рекомендуется проведение внутреннего контроля для каждого анализа. Результаты контроля должны находиться в пределах установленных диапазонов. Поскольку ПСА – количественный тест, образцы нужно в общем определять в дубликатах.

Риск для пациентов в основном зависит от фальшиво негативных результатов (ПСА ниже 4,0 нг/мл). По этому очень рекомендуется проводить оценку набора с помощью дополнительных средств.

### ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Общепринятое пороговое значение сопутствующих исследований:

**Пороговое значение (cut-off):** 3,0-4,0 нг ПСА/мл

Здоровые мужчины имеют концентрацию ПСА менее 4,0 нг/мл. Если концентрация ПСА равна или более 4,0 нг/мл, настоятельно рекомендуется провести последующие исследования. Эта концентрация ПСА указывает на повышенный риск рака простаты, но также может быть вызвана ДПГ.

**Примечание:** Вышеуказанные значения являются ориентировочными. Каждая лаборатория должна определить собственные нормальные значения.

### РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

#### 1. Предел обнаружения

Минимальный определяемый уровень:  
Предел обнаружения = 0,2 нг/мл.

#### 2. Точность

Внутренний и внешний контроль правильности проводился исследованием сывороток трех пациентов с различными концентрациями ПСА. Результаты приведены в таблице 1 и 2.

Таб. 1. Точность в анализе

Пациенты	Кол-во репликатов	Среднее нг/мл	СО нг/мл	КВ %
1	24	12,52	0,65	6,0
2	24	3,44	0,13	3,9
3	32	0,83	0,07	8,8

Таб. 2. Точность между анализами

Пациенты	Кол-во репликатов	Среднее нг/мл	СО нг/мл	КВ %
1	4	12,28	0,82	6,7
2	4	3,33	0,266	7,98

#### 3. Восстановление

Известное количество ПСА было добавлено в сыворотки трех пациентов, после чего были измерены восстановленные количества. Результаты показаны в таблице 3.

Таб. 3. Восстановление

Образец	Ожид. знач. (нг/мл)	Факт. знач. (нг/мл)	Восстановление %
1	6,30	6,40	100
2	4,67	4,56	98
3	10,10	10,91	108

#### 4. Специфичность

Антитела, используемые в данном наборе высокоспецифичны к ПСА, имеют относительно низкую кросс-реактивность с другими протеинами и полипептидами, липидами или химиотерапевтическими веществами в образцах пациентов.

Таб. 4 Специфичность

антигены	добавл. кол-во	Перекрестн. реакция
<b>Белки</b>		нет
АФП	10 мкг/мл	нет
КЭА	10 мкг/мл	нет
ХГЧ	10 мкг/мл	нет
Лактатальбумин	10 мкг/мл	нет
ПАП	1 мкг/мл	нет
<b>Интерферирующие в-ва</b>		
Билирубин	0,2 мг/мл	нет
Гемоглобин*	0,1 мг/мл	нет
Триглицеридов	15 мг/мл	нет
<b>Химиотерапевтические в-ва</b>		
Циклофосфамид	800 мкг/мл	нет
Доксорубин *HCl	20 мкг/мл	нет
Диэтилстилбестрол	2 мкг/мл	нет
Флютамид	10 мкг/мл	нет
Метолтрексат	50 мкг/мл	нет

**5. «Хук-эффект» высокой дозы**

Тест был проверен на наличие хук-эффекта. При концентрации ПСА до 2000 нг/мл - не наблюдается.

**13.6 Корреляция**

Настоящий набор сравнивался с набором Roche ElecSys total PSA:

$$Y = 0.9644 x + 0.0741$$

**7. Калибровка**

Настоящий набор откалиброван относительно стандарта ВОЗ 96/670.

**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)**