

**Руководство по применению
Наборов реагентов для иммуноферментного определения
общего и свободного простатаспецифического
антигена «обПСА-ИФА», «свПСА-ИФА»
и антигена СА 125 «СА 125-ИФА»
в сыворотке и плазме крови.**

Характеристики. Правила работы. Диагностическое значение маркеров.

Уважаемый Клиент!

В соответствии с Федеральным законом МЗСР РФ №80н от 20 февраля 2008 г. «О проведении в 2008-2009 годах дополнительной диспансеризации работающих граждан» перед многим клинико-диагностическим лабораториям (КДЛ) УЗ РФ поставлена задача обеспечить масштабные обследования мужчин старше 40 лет для определения уровня общего простатаспецифического антигена (обПСА) и женщин старше 40 лет для определения уровня антигена СА 125 в сыворотке или плазме крови.

Данное краткое руководство поможет заведующим КДЛ и лаборантам, а также специалистам по закупкам правильно оформить заказ, понять принципы работы наборов и узнать характеристики и диагностическую значимость указанных маркеров.

ООО «Хема-Медика», г. Москва является крупнейшим отечественным производителем ИФА-Наборов для *in vitro* диагностики с большим опытом разработки и внедрения в практику КДЛ самых разнообразных иммунологических методик.

Наборы реагентов для иммуноферментного определения общего простатаспецифического антигена «обПСА-ИФА» и антигена СА 125 «СА 125-ИФА» в сыворотке и плазме крови успешно продаются на российском и международном рынках уже свыше 10 лет, в течение которых они зарекомендовали себя как надежные, качественные и доступные методы для проведения массовых обследований различных групп доноров.

Сотрудничество с ООО «Хема-Медика» позволит Вашей лаборатории получать самые полные консультации и практическую помощь в использовании наборов, обеспечить быстрое и качественное обучение Вашего персонала работе с наборами и интерпретации результатов; широкая сеть филиалов и представительств по всей территории РФ и странам СНГ, крупнейшее в России собственное биотехнологическое производство (система менеджмента качества сертифицирована по ISO 9001) способствует быстрым и полным поставкам всего спектра ИФА-Наборов и лабораторного оборудования и готовности к выполнению заказов любых объемов.

В случае, если у Вас возникли вопросы или Вам необходима консультация по работе с нашей продукцией, Вы можете получить консультацию, связавшись с нами любым удобным способом:
тел.: (495) 737-39-36, факс: (495) 737-00-40
e-mail: info@xema.ru

Часть 1.**Набор реагентов для иммуноферментного определения общего простатаспецифического антигена в сыворотке и плазме крови «обПСА-ИФА».****Общая характеристика Набора**

Полное наименование	Набор реагентов для иммуноферментного определения общего простатаспецифического антигена в сыворотке и плазме крови
Сокращенное наименование	«обПСА-ИФА»
Каталожный номер	K221
Номер регистрационного удостоверения	ФС 01012006/3570-06 от 27 июня 2006 г.
Номер Технических условий (ТУ)	ТУ 9398-014-18619450-2006
Срок годности Набора	1 год
Чувствительность	0,3 нг/мл
Диапазон измеряемых концентраций	1,5-30 нг/мл
Количество калибровочных проб	5
Контрольная сыворотка	1 (входит в состав Набора)
Общее время проведения анализа	Не более 1 часа
Схема проведения анализа	Одностадийный
Объем биологического материала для анализа	50 мкл
Количество определений	Набор рассчитан на 96 определений
Готовность компонентов Набора к использованию	Все компоненты Набора готовы к использованию
Цветовая индикация внесения реагентов в лунки	Калибровочные пробы и контрольная сыворотка имеют яркую окраску различной интенсивности, что предотвращает возможные ошибки при внесении компонентов в лунки планшета.
Адаптация Набора к работе на спектрофотометре «Bio-Rad 680»	Набор полностью адаптирован к работе на планшетном спектрофотометре «Bio-Rad 680». По запросу Клиента ему бесплатно высылается подробная схема программирования оборудования.
Упаковка	Набор упакован в прозрачный пакет из плотного полиэтилена с zipперным механизмом закрывания. Планшет упакован в цефленовый пакет под вакуумом.

Общие сведения о маркере. Простатаспецифический антиген (ПСА) – гликопротеин с молекулярной массой 34 кДа, состоящий из одной полипептидной цепи, был обнаружен в эпителиальных клетках нормальной простаты. ПСА является сериновой протеазой из семейства калликреинов, его точное название по энзимологической классификации – прекалликреин 3.

Концентрация ПСА в крови повышается при доброкачественной гиперплазии и злокачественном перерождении ткани простаты, а также при метастатическом раке простаты.

У больных аденокарциномой простаты определяется повышение концентрации ПСА даже на ранних стадиях болезни. У больных с выраженным заболеванием отмечена концентрация ПСА 1000 нг/мл и выше. Клиническая значимость данного

определения заключается в возможности контроля и прогноза прогрессирования заболевания. Нарастающее или устойчивое повышение концентрации ПСА, свидетельствуют об опухолевой прогрессии и неэффективности терапии. Интерпретацию данных необходимо проводить с учетом других клинических данных.

Важную дополнительную информацию для дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных заболеваний простаты позволяет получить определение соотношения свПСА (свободная форма)/обПСА.

При этом необходимо учитывать возраст пациента и анамнез: так, **у мужчин до 60 лет** соотношение рекомендуется определять **при уровне обПСА выше 4,0 нг/мл**; при этом следует иметь в виду, что существенное – выше 15 нг/мл – повышение уровня обПСА может наблюдаться не только при злокачественном перерождении ткани простаты, но и при простатите и массаже предстательной железы (по данным ООО «Хема-Медика» – до 20 нг/мл и до 80 нг/мл соответственно), а также при эякуляции накануне исследования.

У мужчин старше 60 лет, когда доброкачественная гиперплазия наблюдается практически у каждого пациента данной группы, уровень обПСА до 10,0 нг/мл целесообразно рассматривать как нормальный, и соотношение свПСА/обПСА определять, **начиная с 10,0 нг/мл**.

Аналитические характеристики Набора

Вид биологического материала для исследований	Сыворотка или плазма крови
Диапазон измеряемых концентраций	1,5-30 нг/мл
Чувствительность	Минимальная достоверно определяемая Набором концентрация обПСА в сыворотке (плазме) крови не превышает 0,3 нг/мл . Диагностическая чувствительность определения составляет 100%.
Специфичность	Оба мышинных моноклональных антитела, использованные в Наборе, демонстрируют эквимолярное взаимодействие, как со свободным ПСА так и с ПСА-АХТ комплексом. Пара мышинных моноклональных антител, используемых в данном Наборе (PS2-PS6), равномерно (эквимолярно) распознает обе формы ПСА – свободную и связанную, что подтверждено результатами независимых исследований в Университете Турку, Финляндия (см. стр. 18). Диагностическая специфичность определения составляет 100%.
Воспроизводимость	Коэффициент вариации результатов определения содержания ПСА в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «обПСА-ИФА» не превышает 8,0%.
Линейность	Зависимость концентрации обПСА в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей ПСА, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 1,5 – 30 нг/мл и составляет $\pm 10,0\%$.
Точность	Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации обПСА предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 5,0 нг/мл. Процент «открытия» составляет 90-110%.

Состав Набора

Наименование	Количество, шт.	Описание
Планшет 96-луночный, полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	–
Калибровочные пробы на основе фосфатного буфера (pH 7,2-7,4), содержащие известные количества обПСА – 0; 1,5; 5; 10; 30 нг/мл , готовы к использованию (калибровочная проба 0 нг/мл – 6,0 мл, остальные по 0,8 мл)	5	прозрачные жидкости красного цвета (калибровочная проба 0 нг/мл не содержит красителя)
Контрольная сыворотка, на основе сыворотки крови человека с известным содержанием обПСА, готова к использованию (0,8 мл)	1	прозрачная бесцветная жидкость
Конъюгат, готов к использованию (11 мл)	1	прозрачная жидкость красного цвета
Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), готов к использованию (11 мл)	1	прозрачная бесцветная жидкость
Концентрат отмывочного раствора, 21-кратный (22 мл)	1	прозрачная бесцветная жидкость
Стоп-реагент, готов к использованию (11 мл)	1	прозрачная бесцветная жидкость
Бумага для заклеивания планшета	1	–
Инструкция по применению Набора реагентов «обПСА-ИФА»	1	–
Паспорт контроля качества Набора реагентов «обПСА-ИФА»	1	–

Набор поставляется либо в полиэтиленовом пакете с защелкой (зипперный механизм), либо в картонной коробке с вкладышем из вспененного полиэтилена, в зависимости от пожеланий Клиента.

Все реагенты разлиты в пластиковые герметичные флаконы с цветовой кодировкой крышек.

Все компоненты Набора готовы к использованию, в составе Набора отсутствуют лиофилизованные компоненты.

Раствор хромогена (раствор субстрата тетраметилбензидина, ТМБ) поставляется в виде однокомпонентного реагента и не требует дополнительного приготовления.

Калибровочные пробы окрашены в цвета различной интенсивности и имеют условные обозначения на крышках флаконов.

Концентрации ПСА в калибровочных пробах фиксированы для всех серий Набора, что не потребует от Вас внесения изменений в программу спектрофотометра.

Отмывочный раствор поставляется в виде 21-кратного концентрата. В случае, если Вам не хватило концентрата, мы предоставим Вам любое необходимое количество бесплатно. Отмывочный раствор и стоп-реагент являются универсальными для всех наборов ООО «Хема-Медика» и являются полностью взаимозаменяемыми.

В Паспорте контроля качества содержатся все необходимые данные для контроля анализа, в т. ч. и диапазон концентраций ПСА в контрольной сыворотке, входящей в состав Набора. Это позволит Вам быть уверенными в полученных результатах. По Вашему желанию мы готовы поставить универсальные контрольные препараты для внутри- и межлабораторного контроля определений онкомаркеров

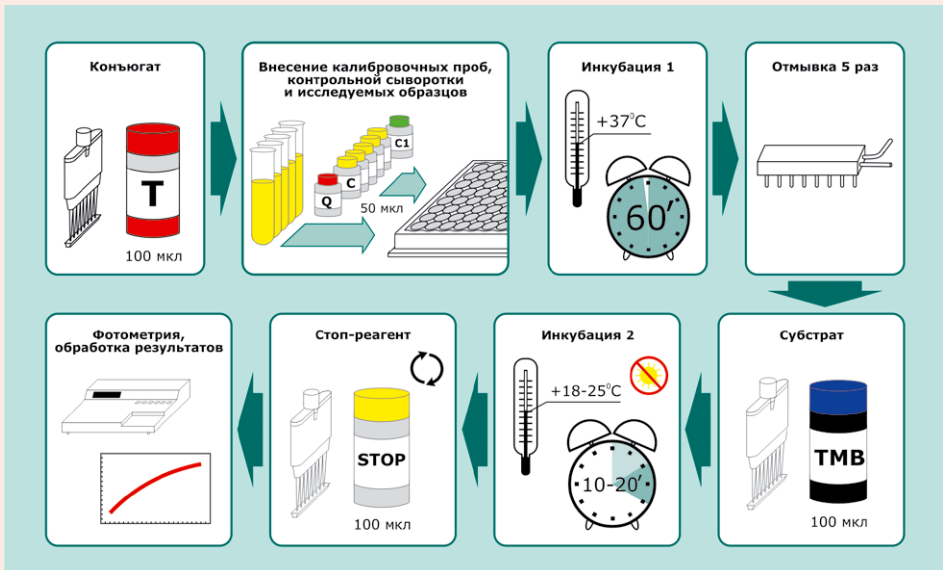
иммунологическими методами «ОмаКон-Контроль» (ООО «Хема-Медика»).

Инструкция по применению Набора снабжена простой и понятной графической схемой проведения анализа.

Принцип определения. Определение обПСА основано на использовании «сэндвич»-варианта (прямого) твердофазного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы мышинные моноклональные антитела к ПСА человека. В лунках планшета, при добавлении исследуемого образца, во время инкубации происходит связывание обПСА, содержащегося в образце, с антителами на твердой фазе. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата мышинных моноклональных антител к ПСА с пероксидазой. В результате образуется связанный с пластиком «сэндвич», содержащий пероксидазу. Во время инкубации с раствором субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) происходит окрашивание растворов в лунках.

Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации обПСА в исследуемом образце. Концентрацию обПСА в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания обПСА в калибровочных пробах.

Схема проведения анализа. Формат проведения анализа-одностадийный. Общее время проведения анализа не превышает 1 ч.



В случае, если концентрация обПСА в исследуемом образце сыворотки (плазмы) крови превышает 30 нг/мл, его следует предразвести, используя калибровочную пробу 0 нг/мл в качестве дилуэнта.

Аномальный обПСА опухолевого происхождения способен препятствовать линейности измерений при серийных разведениях. Для мониторинга таких пациентов всегда используйте одинаковый фактор разведения исследуемого образца.

При первичном обследовании пациентов рекомендуется использовать несколько независимых нелинейных разведений, например, 1:2; 1:5; 1:20.

Если Вам не хватило объема калибровочной пробы 0 нг/мл (например, при дробном использовании Набора), мы предоставим по Вашему запросу необходимое дополнительное количество бесплатно.

Результаты и интерпретация. Нормальные значения.

Значения концентрации обПСА в исследуемых образцах сыворотки (плазмы) крови, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0,3 нг/мл), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (30 нг/мл), если исследуемый образец не предразводили, следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце **X** концентрация обПСА **ниже** 0,3 нг/мл или **выше** 30 нг/мл.

Исследуемая группа	Единицы: нг/мл	
	Нижний предел	Верхний предел
Мужчины		
до 40 лет	-	4,0
41-60 лет	-	5,5
Старше 61 года	-	7,0
Женщины	-	0,45

Часть 2.**Набор реагентов для иммуноферментного определения свободного простатаспецифического антигена в сыворотке и плазме крови «свПСА-ИФА»**

Использование данного Набора реагентов допускается только для тех образцов сывороток (плазм) крови, для которых значения обПСА превышают 4,0 нг/мл.

Полное наименование	Набор реагентов для иммуноферментного определения свободного простатаспецифического антигена в сыворотке и плазме крови
Сокращенное наименование	«свПСА-ИФА»
Каталожный номер	K231
Номер регистрационного удостоверения	ФС 01012006/3558-06 от 27 июня 2006 г.
Номер Технических условий (ТУ)	ТУ 9398-015-18619450-2006
Срок годности Набора	1 год
Чувствительность	0,07 нг/мл
Диапазон измеряемых концентраций	0,25-5,0 нг/мл
Количество калибровочных проб	5
Контрольная сыворотка	1 (входит в состав Набора)
Общее время проведения анализа	Не более 1 часа
Схема проведения анализа	Двустадийный, инкубации по 30 мин.
Объем биологического материала для анализа	50 мкл
Количество определений	Набор рассчитан на 96 определений
Готовность компонентов Набора к использованию	Все компоненты Набора готовы к использованию
Цветовая индикация внесения реагентов в лунки	Калибровочные пробы и контрольная сыворотка имеют яркую окраску различной интенсивности, что предотвращает возможные ошибки при внесении компонентов в лунки планшета.
Адаптация Набора к работе на спектрофотометре «Bio-Rad 680»	Набор полностью адаптирован к работе на планшетном спектрофотометре «Bio-Rad 680». По запросу Клиента ему бесплатно высылаются подробная схема программирования оборудования.
Упаковка	Набор упакован в прозрачный пакет из плотного полиэтилена с зипперным механизмом закрывания. Планшет упакован в цефленовый пакет под вакуумом.

Общие сведения о маркере

Свободная форма ПСА (свПСА) представляет собой циркулирующую в кровотоке не связанную с анти-химотрипсином, α -2-макроглобулином и антитрипсином форму ПСА.

Определение уровня свПСА дает важную дополнительную информацию для дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных заболеваний простаты позволяет путем определения индекса свПСА/обПСА.

При этом необходимо учитывать возраст пациента и анамнез: так, **у мужчин до 60 лет** соотношение рекомендуется определять **при уровне обПСА выше**

4,0 нг/мл; при этом следует иметь в виду, что существенное – выше 15 нг/мл – повышение уровня обПСА может наблюдаться не только при злокачественном перерождении ткани простаты, но и при простатите и массаже предстательной железы (по данным ООО «Хема-Медика» – до 20 нг/мл и до 80 нг/мл соответственно), а также при эякуляции накануне исследования.

У мужчин старше 60 лет, когда доброкачественная гиперплазия наблюдается практически у каждого пациента данной группы, уровень обПСА до 10,0 нг/мл целесообразно рассматривать как нормальный, и соотношение свПСА/обПСА определять, **начиная с 10,0 нг/мл**.

Величина соотношения свПСА/обПСА дает дополнительную диагностическую информацию по сравнению с определением уровня обПСА.

Это соотношение выше в случаях доброкачественной гиперплазии и ниже – при злокачественных заболеваниях простаты.

У мужчин с уровнем обПСА в диапазоне 4,0-10,0 нг/мл определение соотношения свПСА/обПСА позволяет получить важную дополнительную информацию для дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных заболеваний простаты.

Аналитические характеристики Набора

Вид биологического материала для исследований	Сыворотка или плазма крови
Диапазон измеряемых концентраций	0,25-5,0 нг/мл
Чувствительность	Минимальная достоверно определяемая Набором концентрация свПСА в сыворотке (плазме) крови не превышает 0,07 нг/мл . Диагностическая чувствительность определения составляет 100%.
Специфичность	Оба мышинных моноклональных антитела, использованные в Наборе, демонстрируют эквимольное взаимодействие, как со свободным ПСА так и с ПСА-АХТ комплексом. Пара мышинных моноклональных антител, используемых в данном Наборе (PS2-PS6), равномерно (эквимольно) распознает обе формы ПСА – свободную и связанную. Диагностическая специфичность определения составляет 100%.
Воспроизводимость	Коэффициент вариации результатов определения содержания ПСА в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «обПСА-ИФА» не превышает 8,0%.
Линейность	Зависимость концентрации обПСА в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей ПСА, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 0,25 – 5,0нг/мл и составляет $\pm 10,0\%$.
Точность	Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации обПСА предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 0,75 нг/мл. Процент «открытия» составляет 90-110%.

Состав Набора

Наименование	Количество, шт.	Описание
Планшет 96-луночный, полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	–
Калибровочные пробы на основе фосфатного буфера (рН 7,2-7,4), содержащие известные количества свПСА – 0; 0,25; 0,75; 2,5; 5 нг/мл , готовы к использованию (по 0,8 мл каждая)	5	прозрачные жидкости синего цвета (калибровочная проба 0 нг/мл не содержит красителя)
Контрольная сыворотка, на основе сыворотки крови человека с известным содержанием свПСА, готова к использованию (0,8 мл)	1	прозрачная бесцветная жидкость
Конъюгат, готов к использованию (11 мл)	1	прозрачная жидкость пурпурного цвета
ИФА-Буфер, готов к использованию (11 мл)		прозрачная жидкость синего цвета
Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), готов к использованию (11 мл)	1	прозрачная бесцветная жидкость
Концентрат отмывочного раствора, 21-кратный (22 мл)	1	прозрачная бесцветная жидкость
Стоп-реагент, готов к использованию (11 мл)	1	прозрачная бесцветная жидкость
Бумага для заклеивания планшета	1	–
Инструкция по применению Набора реагентов «свПСА-ИФА»	1	–
Паспорт контроля качества Набора реагентов «свПСА-ИФА»	1	–

Набор поставляется либо в полиэтиленовом пакете с защелкой (зипперный механизм), либо в картонной коробке с вкладышем из вспененного полиэтилена, в зависимости от пожеланий Клиента.

Все реагенты разлиты в пластиковые герметичные флаконы с цветовой кодировкой крышек.

Все компоненты Набора готовы к использованию, в составе Набора отсутствуют лиофилизированные компоненты.

Раствор хромогена (раствор субстрата тетраметилбензидина, ТМБ) поставляется в виде однокомпонентного реагента и не требует дополнительного приготовления.

Калибровочные пробы окрашены в цвета различной интенсивности и имеют условные обозначения на крышках флаконов.

Концентрации ПСА в калибровочных пробах фиксированы для всех серий Набора, что не потребует от Вас внесения изменений в программу спектрофотометра.

Отмывочный раствор поставляется в виде 21-кратного концентрата. В случае, если Вам не хватило концентрата, мы предоставим Вам любое необходимое количество бесплатно. Отмывочный раствор и стоп-реагент являются универсальными для всех Наборов ООО «Хема-Медика» и являются полностью взаимозаменяемыми.

В Паспорте контроля качества содержатся все необходимые данные для контроля анализа, в т. ч. и диапазон концентраций ПСА в контрольной сыворотке,

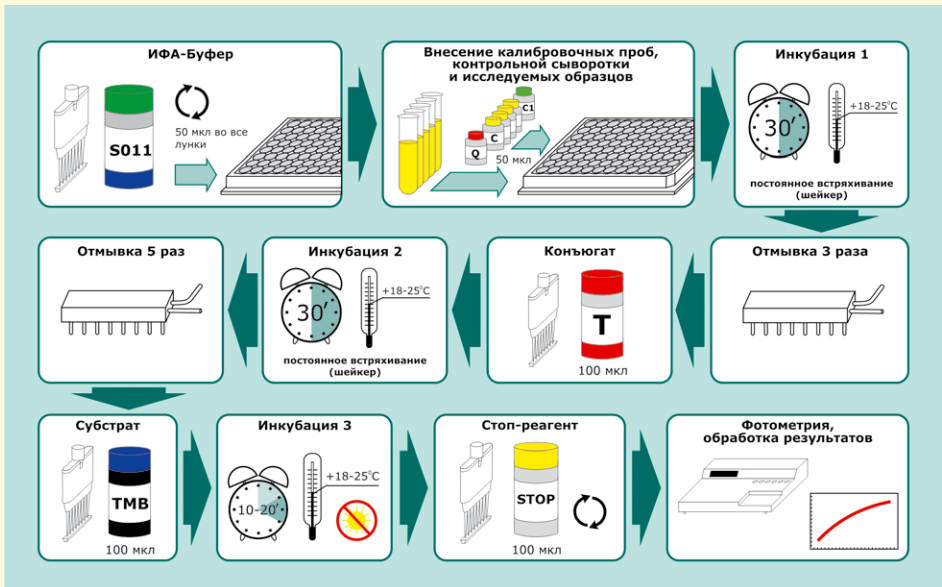
входящей в состав Набора. Это позволит Вам быть уверенными в полученных результатах. По Вашему желанию мы готовы поставить универсальные контрольные препараты для внутри- и межлабораторного контроля определений онкомаркеров иммунологическими методами «ОмаКон-Контроль» (ООО «Хема-Медика»).

Инструкция по применению Набора снабжена простой и понятной графической схемой проведения анализа.

Принцип определения. Определение свПСА основано на использовании «сэндвич»-варианта (прямого) твердофазного иммуферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы мышинные моноклональные антитела к ПСА человека. В лунках планшета, при добавлении исследуемого образца, во время инкубации происходит связывание свПСА, содержащегося в образце, с антителами на твердой фазе. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата мышинных моноклональных антител к свПСА с пероксидазой. В результате образуется связанный с пластиком «сэндвич», содержащий пероксидазу. Во время инкубации с раствором субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) происходит окрашивание растворов в лунках.

Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации свПСА в исследуемом образце. Концентрацию свПСА в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания свПСА в калибровочных пробках.

Схема проведения анализа. Формат проведения анализа-двустадийный. Общее время проведения анализа не превышает 1 ч.



Результаты и интерпретация. Нормальные значения.

Полученные результаты измерений уровня свПСА следует использовать для определения индекса свПСА/обПСА. Индекс свПСА/обПСА следует интерпретировать следующим образом:

Доброкачественные состояния	>10,0
Аденокарцинома простаты	<10,0

Наборы «обПСА-ИФА» и «свПСА-ИФА» должны быть строго одного производителя. Рекомендуется делать минимально возможный интервал между определением уровня обПСА и свПСА.

Данные по определению свПСА не имеют никакого диагностического значения без данных по уровню обПСА.

Образцы сывороток (плазм) крови с содержанием обПСА < 4,0 нг/мл нельзя исследовать на содержание свПСА.

Часть 3.

Набор реагентов для иммуноферментного определения антигена СА 125 в сыворотке и плазме крови «СА 125-ИФА»

Общая характеристика Набора

Полное наименование	Набор реагентов для иммуноферментного определения антигена СА 125 в сыворотке и плазме крови
Сокращенное наименование	«СА 125-ИФА»
Каталожный номер	К222
Номер регистрационного удостоверения	ФС 012а2002/0977-05 от 11 января 2005 г.
Номер Технических условий (ТУ)	ТУ 9398-320-18619450-2003
Срок годности Набора	1 год
Чувствительность	5,0 Ед/мл
Диапазон измеряемых концентраций	25-400 Ед/мл
Количество калибровочных проб	6
Контрольная сыворотка	1 (входит в состав Набора)
Общее время проведения анализа	Не более 1 часа
Схема проведения анализа	Одностадийный
Объем биологического материала для анализа	50 мкл
Количество определений	Набор рассчитан на 96 определений
Готовность компонентов Набора к использованию	Все компоненты Набора готовы к использованию
Цветовая индикация внесения реагентов в лунки	Калибровочные пробы и контрольная сыворотка имеют яркую окраску различной интенсивности, что предотвращает возможные ошибки при внесении компонентов в лунки планшета.
Адаптация Набора к работе на спектрофотометре «Bio-Rad 680»	Набор полностью адаптирован к работе на планшетном спектрофотометре «Bio-Rad 680». По запросу Клиента ему бесплатно высылается подробная схема программирования оборудования.
Упаковка	Набор упакован в прозрачный пакет из плотного полиэтилена с зипперным механизмом закрывания. Планшет упакован в цефленовый пакет под вакуумом.

Общие сведения о маркере. Онкомаркер СА125 представляет собой антиген, ассоциированный с аденокарциномами яичников и некоторыми другими опухолями.

Количественное определение антигена СА125 в сыворотке (плазме) крови используется для мониторинга больных с аденокарциномами яичников.

Эпитоп антигена СА125 обнаруживается среди гетерогенной группы гликопротеинов с высокой молекулярной массой (200-1000 кДа). В высоком проценте случаев содержание антигена СА125 повышается при аденокарциномах яичников, за исключением муцинозной и гранулезоклеточной гистологической

формы. Кроме того, антиген CA125 обнаруживается в эмбриональных тканях и тканях взрослого организма – в эпителии фаллопиевых труб, в апокриновых потовых железах, молочных железах, эндометрии.

Повышение концентрации антигена CA125 в сыворотке (плазме) крови также наблюдается у большинства больных с аденокарциномами яичников – в том числе, на первой стадии. Определение уровня антигена CA125 полезно для контроля эффективности лечения и слежения за течением аденокарцином яичников; вместе с тем, результаты измерения антигена CA125 всегда следует интерпретировать в комплексе с результатами других методов исследования и клиническими данными.

Данные, полученные ООО «Хема-Медика», свидетельствуют, что периодическое определение уровня антигена CA125 может быть полезно для диагностики развития аденокарциномы фиброзной ткани легких у больных с интерстициальными заболеваниями легких.

Определение уровня антигена CA125 не позволяет проводить раннюю диагностику злокачественных заболеваний, поскольку повышенное содержание антигена CA125 в сыворотке (плазме) крови может наблюдаться при карциноме матки, гепатоме, аденокарциноме поджелудочной железы, а также при заболеваниях неопухоловой природы – например, циррозе печени, интерстициальных заболеваниях легких.

Аналитические характеристики Набора

Вид биологического материала для исследований	Сыворотка или плазма крови
Диапазон измеряемых концентраций	25-400 Ед/мл
Чувствительность	Минимальная достоверно определяемая Набором концентрация CA 125 в сыворотке (плазме) крови не превышает 5,0 Ед/мл . Диагностическая чувствительность определения составляет 100%.
Специфичность	Не обнаружено перекрестной реакции мышиных моноклональных антител к CA125 с карциноэмбриональным антигеном (КЭА, РЭА), с антигенами CA19.9 и CA15.3. В Наборе реагентов «CA125-ИФА» используется пара мышиных моноклональных антител к эпитопным группам А и В, полученные ООО «Хема-Медика», высокая специфичность которых подтверждена международной экспертной группой (TD1 workshop 2000, International Society of Oncodevelopmental Biology and Medicine) (см. стр. 18) Диагностическая специфичность определения составляет 100%.
Воспроизводимость	Коэффициент вариации результатов определения содержания CA 125 в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «CA 125-ИФА» не превышает 8,0%.
Линейность	Зависимость концентрации CA 125 в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей CA 125, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 25-400 Ед/мл и составляет $\pm 10,0\%$.
Точность	Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации CA 125 предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 50 Ед/мл. Процент «открытия» составляет 90-110%.

Состав Набора

Наименование	Количество, шт.	Описание
Планшет 96-луночный, полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	-
Калибровочные пробы на основе фосфатного буфера (рН 7,2-7,4), содержащие известные количества свПСА – 0; 25; 50; 100; 200; 400 Ед/мл , готовы к использованию (калибровочная проба 0 Ед/мл-6,0 мл; остальные – по 0,8 мл каждая)	6	прозрачные жидкости красного цвета (калибровочная проба 0 Ед/мл не содержит красителя)
Контрольная сыворотка, на основе сыворотки крови человека с известным содержанием СА 125, готова к использованию (0,8 мл)	1	прозрачная бесцветная жидкость
Конъюгат, готов к использованию (5,2 мл)	1	прозрачная жидкость красного цвета
Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), готов к использованию (11 мл)	1	прозрачная бесцветная жидкость
Концентрат отмывочного раствора, 21-кратный (22 мл)	1	прозрачная бесцветная жидкость
Стоп-реагент, готов к использованию (11 мл)	1	прозрачная бесцветная жидкость
Бумага для заклеивания планшета	1	-
Инструкция по применению Набора реагентов «СА 125-ИФА»	1	-
Паспорт контроля качества Набора реагентов «СА 125-ИФА»	1	-

Набор поставляется либо в полиэтиленовом пакете с защелкой (зипперный механизм), либо в картонной коробке с вкладышем из вспененного полиэтилена, в зависимости от пожеланий Клиента.

Все реагенты разлиты в пластиковые герметичные флаконы с цветовой кодировкой крышек.

Все компоненты Набора готовы к использованию, в составе Набора отсутствуют лиофилизованные компоненты.

Раствор хромогена (раствор субстрата тетраметилбензидина, ТМБ) поставляется в виде однокомпонентного реагента и не требует дополнительного приготовления.

Калибровочные пробы окрашены в цвета различной интенсивности и имеют условные обозначения на крышках флаконов.

Концентрации ПСА в калибровочных пробах фиксированы для всех серий Набора, что не потребует от Вас внесения изменений в программу спектрофотометра.

Отмывочный раствор поставляется в виде 21-кратного концентрата. В случае, если Вам не хватило концентрата, мы предоставим Вам любое необходимое количество бесплатно. Отмывочный раствор и стоп-реагент являются универсальными для всех наборов ООО «Хема-Медика» и являются полностью взаимозаменяемыми.

В Паспорте контроля качества содержатся все необходимые данные для контроля анализа, в т. ч. и диапазон концентраций ПСА в контрольной сыворотке, входящей в состав Набора. Это позволит Вам быть уверенными в полученных результатах. По Вашему желанию мы готовы поставить универсальные контрольные

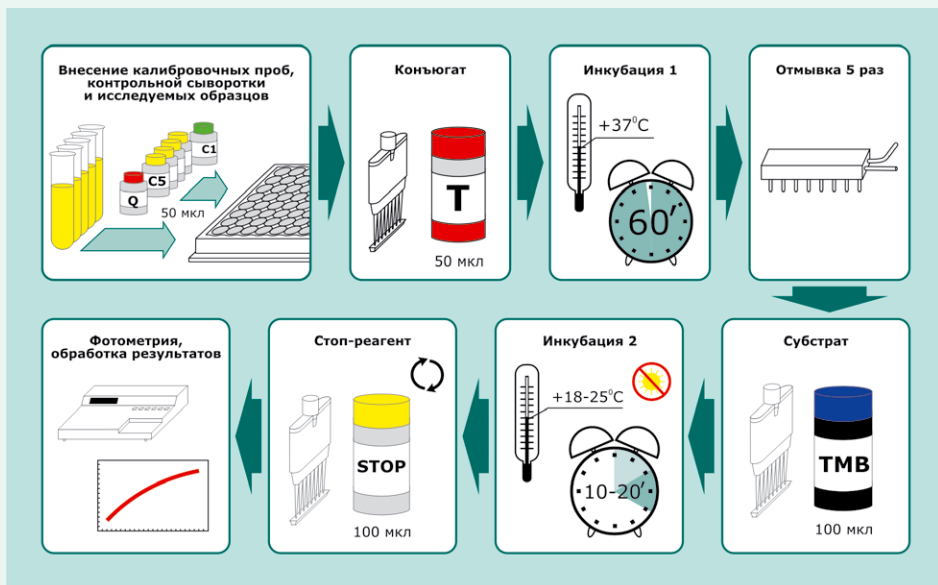
препараты для внутри- и межлабораторного контроля определений онкомаркеров иммунологическими методами «ОмаКон-Контроль» (ООО «Хема-Медика»).

Инструкция по применению Набора снабжена простой и понятной графической схемой проведения анализа.

Принцип определения. Определение СА 125 основано на использовании «сэндвич»-варианта (прямого) твердофазного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы мышинные моноклональные антитела к СА 125. В лунках планшета, при добавлении исследуемого образца, во время инкубации происходит связывание СА 125, содержащегося в образце, с антителами на твердой фазе. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата мышинных моноклональных антител к СА 125 с пероксидазой. В результате образуется связанный с пластиком «сэндвич», содержащий пероксидазу. Во время инкубации с раствором субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) происходит окрашивание растворов в лунках.

Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации СА 125 в исследуемом образце. Концентрацию СА 125 в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания СА 125 в калибровочных пробах.

Схема проведения анализа. Формат проведения анализа-однотайпный. Общее время проведения анализа не превышает 1 ч.



В случае, если концентрация СА 125 в исследуемом образце сыворотки (плазмы) крови превышает 400 Ед/мл, его следует предразвести, используя калибровочную пробу 0 Ед/мл в качестве дилуэнта.

При первичном обследовании пациентов рекомендуется использовать несколько независимых нелинейных разведений, например, 1:2; 1:5; 1:20.

Если Вам не хватило объема калибровочной пробы 0 Ед/мл (например, при дробном использовании Набора), мы предоставим по Вашему запросу необходимое дополнительное количество бесплатно.

Результаты и интерпретация. Нормальные значения.

Значения концентрации СА 125 в исследуемых образцах сыворотки (плазмы) крови, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (5,0 Ед/мл), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (400 Ед/мл), если исследуемый образец не предразводили, следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце **X** концентрация СА 125 ниже 5,0 Ед/мл или выше 400 Ед/мл.

Исследуемая группа	Единицы: Ед/мл	
	Нижний предел	Верхний предел
Мужчины	-	35
Женщины	-	35
1-й триместр	-	60
2-й триместр	-	150
3-й триместр	-	200
В период лактации	-	80

Epitopes on CA 125 from Cervical Mucus and Ascites Fluid and Characterization of Six New Antibodies

Third Report from the ISOBM TD-1 Workshop

K. Nustad^a Y. Lebedin^b K.O. Lloyd^c K. Shigemasa^d H.W.A. de Bruijn^e
B. Jansson^f O. Nilsson^g K.H. Olsen^a T.J. O'Brien^h

^aCentral Laboratory, Norwegian Radium Hospital, Oslo, Norway; ^bXema-Medica Co. Ltd., Moscow, Russia;

^cMemorial Sloan-Kettering Cancer Center, New York, N.Y., USA; ^dDepartment of Obstetrics and Gynecology, Hiroshima University School of Medicine, Hiroshima, Japan; ^eLaboratory of Obstetrics and Gynecology, University Hospital, Groningen, The Netherlands; ^fBiolinvent Therapeutic AB, Lund, ^gCanAg Diagnostics AB, Göteborg, Sweden; ^hUniversity of Arkansas for Medical Sciences, Little Rock, Ark., USA

Key Words

CA 125 antigen · Antibodies, monoclonal · Antibody specificity · Epitope mapping · Tumor marker

Abstract

CA 125 is found in body fluids in a variety of molecular weight forms. The largest species are found in normal abdominal fluid and cervical mucus. The present study therefore incorporated CA 125 derived from these sources as well as ascites fluid to investigate if the source of CA 125 influenced epitope characterization. Ascites-derived CA 125 varied in size from about 190 to about 2,700 kD. Cervical mucus-derived CA 125 treated with ultrasound changed its apparent size from more than 20,000 to 700 kD. Epitope mapping of antibodies was not grossly influenced by the size or source of CA 125 used as target. However, low-molecular-weight CA 125, i.e. ascites fractions CA 17/E, CA 17/F and CA 10/7, did show differences in certain assay combinations and cross-inhibition patterns which probably can be explained by steric effects due to the smaller size compared with the most abundant forms of CA 125 present in serum and other

body fluids. The specificity of six new monoclonal antibodies to CA 125 was tested by cross-inhibition and immunometric assay combinations and compared to reference antibodies. One antibody, X306, belonged to the OC125-like antibodies. Four antibodies, X52, X75, X325 and VK8, were M11-like. The sixth antibody, 7C12, reacted with an epitope which was difficult to define. This antibody was inhibited by M11-like antibodies and OV197. However, used as an inhibitor, 7C12 inhibited only itself. We grouped it as an OV197-like antibody, but clearly different from OV197. The topography of epitopes was studied by analyzing all antibody pairs in immunoradiometric assays. These results confirmed the grouping of antibodies described above and are in accordance with previous findings that the highest signal is obtained using an OC125-like antibody or OV197 on the solid phase and an M11-like antibody as tracer. The composition of the sample in terms of high- and low-molecular-weight species of CA 125 was measured, with different responses depending on the antibody pair used. This might be one reason for discrepancies between assay results for CA 125 using different assays.

Copyright © 2002 S. Karger AG, Basel

KARGER

Fax + 41 61 306 12 34
E-Mail karger@karger.ch
www.karger.com

© 2002 S. Karger AG, Basel
1010-4283/02/235-0303\$18.50/0

Accessible online at:
www.karger.com/ibi

Kjell Nustad
Central Laboratory, Norwegian Radium Hospital
N-0310 Oslo (Norway)
Tel. +47 22 93 59 07, Fax +47 22 73 07 25
E-Mail kjell.nustad@ibmed.uio.no

