

PATHOZYME® PANCREATIC/GUT CANCER ANTIGEN 19-9 Ref OD277 Enzimski imunotest za kvantitativno određivanje gastrointestinalnog CA19-9 u humanom serumu Čuvati na temperaturi od 2-8 °C. NE ZAMRZAVATI. Samo za in vitro upotrebu.

OPREZ

Karcinom pankreasa čini oko 2-3% svih karcinoma i četvrti je najčešći opšti uzročnik smrti usled kancera. Bolest je češća kod muškaraca nego kod žena, sa pikom pojavljivanja u 60-im godinama života. CA 19-9 je ključni marker ove bolesti.

CA 19-9 je glikoprotein molekularne težine od 100000 Da. To je derivat Le^a antigena, prisutnog na normalnom mezenteričnom epitelijumu. Pacijenti koji su Lewis a-b- ne sintetisaju CA 19-9. Novi izveštaji ukazuju da su nivoi CA 19-9 u serumu često povišeni kod pacijenata sa različitim gastrointestinalnim malignitetima, kao što su: pankreasni, kolorektalni, želudačni i hepatični karcinomi.

Nivo CA 19-9 takođe može biti povišen i kod nemalighnih stanja kao što su: hronični pankreatitis, holangitis, holecistitis i ciroza. Iz tih razloga, nivo CA 19-9 ne treba koristiti u cilju screeninga pankreasnog karcinoma, jer je od najveće koristi za praćenje toka bolesti i odgovora na terapiju.

NAMENA TESTA

PATHOZYME PANCREATIC/GUT CANCER ANTIGEN 19-9 je enzimski imunotest za kvantitativno određivanje gastrointestinalnog karcinoma antigena 19-9 u humanom serumu. Samo za profesionalnu upotrebu.

PRINCIP TESTA

Mikrotitratske čašice obložene su specifičnim monoklonskim anti-kancer antigen 19-9 antitelima. Ispitivani serum i puffer se dodaju u čašice koje se zatim inkubiraju. Čašice se ispiraju vodom. Dodaje se anti-kancer antigen 19-9 obeležen HRP-om (konjugat). Ako je humani CA 19-9 prisutan u uzorku, dolazi do vezivanja sa antitelom u čašici i konjugatom enzima, zbog čega se CA 19-9 molekuli smeštaju između čvrste faze i enzimski vezanih antitela. Nakon inkubacije, čašice se ispiraju destilovanom vodom da bi se uklonila nevezana antitela. Nakon dodatka supstrata (TMB) boja se razvija samo u onim čašicama u kojima je prisutan enzim, indikujući prisustvo CA 19-9. Enzimska reakcija se zaustavlja dodatkom rastvora za zaustavljanje reakcije i meri se apsorbancija na 450nm. Koncentracija CA 19-9 je direktno proporcionalna intenzitetu boje ispitivanog uzorka. Test je kalibrisan u odnosu na interni standard. Internacionalni standard za ovaj test ne postoji.

SAHRŽAJ

Ref
OD277



Microtitre Plate	12 x 8 wells x 1
Čašice obložene specifičnim antitelom, u specijalnoj kesici koja se može više puta zatvoriti, sa desikantom.	
BUF AS	11 ml
Diluent za uzorke: puffer na bazi fosfata koji sadrži stabilizujuće proteine. Spreman za upotrebu (Zelen).	
Cal A	0 U/ml
Referentni standard: humani serum bez CA 19-9. Spreman za upotrebu. (Bezbojan).	
Cal B	25 U/ml
Referentni standard: CA 19-9 u humanom serumu. Spreman za upotrebu. (Bezbojan).	
Cal C	75 U/ml
Referentni standard: CA 19-9 u humanom serumu. Spreman za upotrebu. (Bezbojan).	
Cal D	150 U/ml
Referentni standard: CA 19-9 u humanom serumu. Spreman za upotrebu. (Bezbojan).	
Cal E	300 U/ml
Referentni standard: CA 19-9 u humanom serumu. Spreman za upotrebu. (Bezbojan).	
Cal F	600 U/ml
Referentni standard: CA 19-9 u humanom serumu. Spreman za upotrebu. (Bezbojan).	
Conj	12 X
Anti-kancer antigen 19-9 HRP konjugat: anti-kancer antigen 19-9 konjugovan HRP-om. (Žut).	
DIL Conj	11 ml
Diluent konjugata: puffer na bazi fosfata koji sadrži stabilizujuće proteine. Spreman za upotrebu. (Crven).	
Subs TMB	11 ml
Rastvor supstrata: 3,3,5,5 tetrametil benzidin u citratnom pufferu. (Bezbojan).	
Soln Stop HCl 1M	11 ml
Rastvor za zaustavljanje reakcije: razblažena HCl u prečišćenoj vodi. Spreman za upotrebu. (Bezbojna).	
Uputstvo za upotrebu i obrazac za upisivanje podataka	1 +1

PRIBOR I UREĐAJI KOJI SU POTREBNI, ALI SE NE NALAZI U OKVIRU KOMPLETA

mikropipete za prenošenje: 100 µl, 200 µl i 1000 µl
nastavci za pipete za jednokratnu upotrebu
termostat na 37 °C +/- 1°C
apsorbujući papir
čitač mikrotitratskih ploča
logaritamski papir
čisto laboratorijsko posuđe.

PATHOZYME PANCREATIC/GUT CANCER ANTIGEN 19-9 reagensi sadrže materijal humanog porekla, za koji je nakon testiranja utvrđeno da je negativan na HCV, HIV 1 i HIV 2 antitela i HbsAg, odobrenim metodama za testiranje na nivou pojedinačnog davaoca. Kako nijedan test ne pruža potpunu sigurnost da materijal humanog porekla nije infektivan, preporučljivo je oprez prilikom rukovanja reagensima iz kompleta (upotrebe i bacanja). Sve reagense treba smatrati biohazardnim materijalom. Ne gatai.

PATHOZYME PANCREATIC/GUT CANCER ANTIGEN 19-9 reagensi ne sadrže opasne supstance definisane važećim propisima UK Chemicals (Obaveštenja i način pakovanja opasnih materija), ali se ipak moraju smatrati biohazardnim materijalom. Bacanje upotrebljenog materijala mora biti u skladu sa lokalnim zakonom.

PATHOZYME PANCREATIC/GUT CANCER ANTIGEN 19-9 rastvor za zaustavljanje reakcije sadrži HCl, te je korozivan. Rukovati sa oprezom. U slučaju kontakta, dobro isprati vodom.

PATHOZYME PANCREATIC/GUT CANCER ANTIGEN 19-9 sadrže 1% Proclin™ 300 kao konzervans koji može biti toksičan ako se unese per os. U slučaju kontakta, dobro isprati vodom i potražiti medicinsku pomoć.

Proclin™ 300 je zaštićeni proizvod ROHM&HAAS Ltd.

ČUVANJE

Čuvati na temperaturi od 2-8 °C.

Datum isteka roka je poslednji dan meseca koji je označen na bočici i ambalaži kompleta. Reagensi unutar kompleta ponašaću se odgovarajuće do isteka roka trajanja, koji je određen u odnosu na datum proizvodnje. Ne koristiti nakon isteka roka trajanja.

Izbegavati izlaganje reagensa temperaturama izvan ovog opsega. Ne izlagati direktnoj sunčevoj svetlosti.

NE ZAMRZAVATI NIJEDAN REAGENS, jer može doći do ireverzibilnih promena..

UZIMANJE UZORKA

Uzeti uzorak venske krvi i ostaviti da dođe do koagulacije i retrakcije. Centrifugirati koagulisanu krv, radi dobijanja bistrog seruma. Preporučljivo je koristiti sveže uzorke seruma.

Ne koristiti hemolizovane, kontaminirane ili lipemične serume, jer ove pojave mogu uticati na rezultate testiranja.

Serum se može čuvati na temperaturi od 2-8 °C do 48 h pre testiranja. Ako je potrebno produžiti vreme čuvanja, čuvati na -20 °C do 1 godine. Otopljeni uzorci moraju se pre ispitivanja promešati.

Ne koristiti natrijum azid kao konzervans, jer može inhibirati peroksidazu.

Jednom otopljeni uzorak ne zamrzavati i otapati ponovo, jer može doći do pojave netačnih rezultata.

PRIPREMA REAGENSA

Pre upotrebe svi reagensi moraju dostići sobnu temperaturu (20 °C - 25 °C), i moraju se pažljivo promućkati. Ne stvarati penu.

Radni rastvor: razblažiti koncentrovani konjugat upotrebom 1 dela konjugata i 11 delova diluenta za konjugat (razblaženje 1/12). Preporučljivo je koristiti 100µl po čašici. Za svako ispitivanje koristiti sveže pripremljen rastvor

OGRANIČENJA

Upotreba drugih uzoraka osim seruma, nije validna.

Proizvod je samo za jednokratnu upotrebu.

Dijagnoza ne sme biti zasnovana samo na nalazu jednog testiranja. Prilikom interpretacije testa, preporučljivo je uzeti u obzir sve kliničke nalaze.

POSTUPAK ISPITIVANJA

1. Pre upotrebe svi reagensi moraju dostići sobnu temperaturu (20 °C – 25 °C).
2. Sa svakom serijom seruma koji se ispituju, upotrebiti set standarda. U držač postaviti potreban broj čašica. Na priložen obrazac za upisivanje podataka obeležiti pozicije standarda i ispitivanog seruma.
3. Nepotrebne čašice vratiti u kesicu sa desikantom i zatvoriti zip-lock pre vraćanja na propisanu temperaturu.
4. Preneti 10 μ l standarda ili ispitivanog seruma u obeležene čašice.
5. Preneti 100 μ l pufera u svaku čašicu.
6. Intenzivno mućkati 30 sekundi. Veoma je važno obezbediti potpuno mešanje u ovoj fazi rada.
7. Inkubirati 90 minuta na 37 °C.
8. Nakon inkubiranja odbaciti sadržaj čašica, brzim i ostrim lupkanjem čašica o kontejner za odbacivanje biohazardnog materijala. Snažno lupnuti na apsorbirajući papir. U kontejneru za odbacivanje biohazardnog materijala mora biti dovoljno dezinfekcionog sredstva.
9. Ručno ispiranje: ispuniti čašice sa po najmanje 300 μ l destilovane vode po čašici. Odbaciti sadržaj čašica brzim i ostrim lupkanjem čašica o kontejner za odbacivanje biohazardnog materijala. Snažno lupnuti na apsorbirajući papir. Prazne čašice ispirati 5 puta.
10. Da bi se uklonile zaostale kapi vode, lupnuti čašice na apsorbirajući papir.
11. Mašinsko ispiranje: u svaku čašicu mora se preneti 300 μ l destilovane vode, a u bocu za odbacivanje dodati odgovarajuću količinu dezinficijensa. Prazne čašice ispirati 5 puta. Posle ispiranja ukloniti zaostalu tečnost lupkanjem čašica na apsorbirajući papir.
12. Preneti 100 μ l radnog rastvora konjugata u svaku čašicu i blago mućkati 10 sekundi.
13. Inkubirati 90 minuta na 37 °C.
14. Ispirati po gore opisanom postupku.
15. Preneti 100 μ l rastvora supstrata u svaku čašicu i blago mućkati 10 sekundi.
16. Inkubirati na 20 minuta na tamnom mestu i sobnoj temperaturi (20-25°C).
17. Zaustaviti reakciju dodavanjem 100 μ l rastvora za zaustavljanje reakcije u svaku čašicu.
18. Blago mućkati 30 sekundi dok plava boja ne pređe potpuno u žutu.
19. Odmah očitati optičku gustinu (ne nakon 10 minuta) na 450nm.

PROBLEMI U RADU

Testiranje može obaviti samo obučeno osoblje.

Ne koristiti oštećene ili kontaminirane komponente kompleta.

Da bi se izbegla unakrsna kontaminacija za svaki uzorak koristiti poseban nastavak za jednokratnu upotrebu.

Preporučljivo je dvostruko ispitivanje uzoraka, kao i dvostruko korišćenje standarda.

Uzorke i standarde ispitati u isto vreme, kako bi uslovi testiranja bili isti.

Ako se pipetira rukom, nije preporučljivo koristiti više od 32 čašice tokom ispitivanja, jer pipetiranje standarda i uzoraka mora biti obavljeno u roku od 3 minuta. Cela ploča od 96 čašica može se koristiti ako se pipetiranje vrši automatski.

Odmah nakon završetka testiranja, zatvoriti sve bočice.

Izbegavati ponavljanje pipetiranja rastvora, jer može doći do njihove kontaminacije.

Ne mešati reagensne ili čašice iz različitih kompleta. Prilikom prenošenja, ne dodirivati ivice čašica.

Reagens ne sme cureti duž ivica čašica. Pre početka, svi reagensi moraju dostići sobnu temperaturu (20 °C - 25 °C). Nežno promućkati sve reagensne blagim obrtanjem naopake ili mućkanjem.

Tokom ispitivanja čašice ne smeju postati suve.

Postupak ispiranja je odlučujući korak koji utiče na ishod testa. Nedovoljno ispiranje dovodi do dobijanja lažno povišenih vrednosti apsorbancija i slabe preciznosti.

Rastvor supstrata ne sme se kontaminirati, jer ova pojava čini komplet neaktivnim.

Kako bi se obezbedilo dobijanje pouzdanih rezultata, preporučljivo je proveravati preciznost i tačnost laboratorijske opreme koja se koristi tokom ispitivanja.

Čašice koje nisu potrebne za ispitivanje, vratiti u foliju sa desikantom, zatvoriti zip-lock i vratiti na temperaturu od 2-8 °C.

IZRAČUNAVANJE REZULTATA

Za svaki set standarda i uzorke izračunati srednju vrednost apsorbancije na 450nm. Konstruisati standardnu krivu spajanjem vrednosti srednje apsorbancije svakog standarda i pripadajuće koncentracije izražene u U/ml. Preko srednje vrednosti apsorbancije za svaki uzorak, sa standardne krive odrediti vrednost koncentracije CA 19-9 U/ml. Ako kontrole ili uzorci sa poznatim vrednostima ne daju očekivane rezultate, rezultate ispitivanja smatrati nevažnim. Ako se koristi softverski program, odabrati opciju "Quadratic regression curve fit".

OČEKIVANI REZULTATI I OSETLJIVOST

Kriva koja se dobija merenjem optičke gustine kalibratora na 450nm i spajanjem dobijenih vrednosti sa vrednostima njihovih koncentracija mora biti hiperbola. Optička gustina kalibratora A mora biti manja od 0.75, a kalibratora F mora biti veća od 1.5, da bi se dobijeni rezultati smatrali važećim.

Kod zdravih osoba očekivane CA 19-9 vrednosti iznose manje od 35 U/ml. Najmanja koncentracija koja se može detektovati testom **PATHOZYME PANCREATIC/GUT CANCER ANTIGEN 19-9** je 10 U/ml.

EVALUACIJA

Kalibracija je izvršena u odnosu na značajne konkurentne kuće i interni standard. Koefficient varijacije **PATHOZYME PANCREATIC/GUT CANCER ANTIGEN 19-9** je manji ili veći od 10%.

Ispitivanjem uzoraka sa vrednostima CA 19-9 koja su se kretala u intervalu od 33.4-297.6 U/ml, pomoću **PATHOZYME PANCREATIC/GUT CANCER ANTIGEN 19-9** testa i Abbott IMX testa dobijeni su sledeći rezultati:

Broj uzoraka	44
Koefficient korelacije	0.9738
Slope	0.94
Intercept	6.77
Srednja vrednost dobijena testiranjem sa Omega testom	100.38 U/ml
Srednja vrednost dobijena testiranjem sa Abbott testom	99.33 U/ml

Testovi daju dobru korelaciju.

REFERENCE

1. Glenn, J., Steinberg, W.M., Kurtzman, S.H., et al. Evaluation of the utility of a radioimmunoassay for serum Cancer Antigen 19-9 level in patients before and after treatment of carcinoma of the pancreas. J. Clin. Oncol. 1988;6:462-8.
2. Hayakawa, T., Kondo, T., Shibata, T. et al. Sensitive serum markers for detecting pancreatic cancer. Cancer 1988;61:1827-31.
3. Koprowski, H., Herly, Steplewski, Z., et al. Specific antigen in serum of patients with colon carcinoma. Science 1981;212:53-55.
4. Malesci, A., Tommasini, M.A., Bonato, C. et al. Determination of Cancer Antigen 19-9 antigen in serum and pancreatic juice for differential diagnosis of pancreatic adenocarcinoma from chronic pancreatitis. Gastroenterology 1987;92:60-7.
5. Safi, F., Roscher, R., Bittner, R., et al. High sensitivity and specificity of CA 19-9 for pancreatic carcinoma in comparison to chronic pancreatitis. Serological and immunohistochemical findings. Pancreas 1987;2:398-403.
6. Steinberg, W. The clinical utility of CA 19-9 tumour associated antigen. American J. of Gastroenterology 1990;85:350-355.
7. Steinberg, W.M., Gelfand, R., Anderson, K.K., et al. Comparison of the sensitivity and specificity of the CA 19-9 and Carcinoembryonic antigen assays in detecting cancer of the pancreas. Gastroenterology 1986;90:343-9.
8. Takasaki, H., Uchida, E., Tempero, M.A., et al. Correlative study on expression of CA 19-9 and DU-Pan-2 in tumour tissue and in serum of pancreatic cancer patients. Cancer Res. 1988;48:1435-8.
9. Tetsuta, M., Yamamura, H., Iishi H., et al. Values of Cancer Antigen 19-9 in the serum, pure pancreatic juice and aspirated pancreatic material in the diagnosis of malignant pancreatic tumour. Cancer 1985;56:2669-73.
10. Wang, T.H., In Chen, J.W., et al. Non-invasive diagnosis of advanced pancreatic cancer by real-time ultra sonography. Carcinoembryonic antigen and carbohydrate antigen 19-9. Pancreas 1986;1:1219-23.
11. Strom B.L., Maislin, G., West, S. I. et al. Serum CEA and Cancer Antigen 19-9; potential future diagnostic or screening tests for gallbladder cancer? Int. J. Cancer 1990;45:821.

BRZI POSTUPAK ISPITIVANJA

1. Preneti 10 μ l uzorka ili standarda i 100 μ l pufera za ispitivanje u svaku čašicu i blago mućkati 30 sekundi.
2. Inkubirati 90 minuta na 37 °C.
3. Odbaciti sadržaj čašica i ispirati 5 puta destilovanom vodom.
4. Dodati 100 μ l radnog rastvora konjugata u svaku čašicu. Blago mućkati 10 sekundi.
5. Inkubirati 90 minuta na 37 °C.
6. Odbaciti sadržaj čašica i ispirati 5 puta destilovanom vodom.
7. Dodati 100 μ l rastvora supstrata u svaku čašicu. Blago mućkati 10 sekundi.
8. Inkubirati na tamnom mestu 20 minuta na sobnoj temperaturi (20 °C to 25°C).
9. Dodati 100 μ l rastvora za zaustavljanje reakcije i blago mućkati 30 sekundi.
10. Odmah očitati optičku gustinu (ne nakon isteka 10 minuta) na 450nm.

8077 ISSUE 8 Revised February 2010. **SERBIAN**
©Omega Diagnostics Ltd 2010.



OMEGA DIAGNOSTICS LTD.
Omega House, Hillfoots Business Village
Alva FK12 5DQ, Scotland, United Kingdom
odl@omegadiagnostics.co.uk
www.omegadiagnostics.com
AN ISO 9001 and ISO 13485 CERTIFIED COMPANY