

PATHOZYME[®] OVARIAN CANCER ANTIGEN 125 Ref OD287

Enzimski imunotest za kvantitativno određivanje

CA125 u humanom serumu

Čuvati na temperaturi od 2-8 °C.

NE ZAMRZAVATI. Samo za in vitro upotrebu.

Po učestalosti, karcinom ovarijuma nalazi se na šestom mestu (isključujući karcinome kože koji nisu melanomi) i petom mestu uzroka smrtnosti usled oboljevanja od karcinoma. Jedan od ključnih markera ove bolesti je kancer antigen 125.

CA 125 je glikoprotein sa molekularnom masom od 200000-100000 Da. Proizvodi ga samo ćelije epitelnog karcinoma ovarijuma. CA 125 je pronađen kod više od 80% žena oboljelih od karcinoma ovarijuma. 6% slučajeva sa povišenim vrednostima CA 125 mogu se povezati sa neinekološkim karcinomima, kao što su karcinom pankreasa ili pluća. Pojedina stanja koja nisu vezana za pojavu neoplazmi takođe mogu dovesti do povećanja vrednosti CA 125, a to su: menstruacija, endometriozis i trudnoća (prvi trimestar). Povećana vrednost CA 125 se može naći kod samo 1% zdravih žena.

Određivanje koncentracije CA 125 značajno je za praćenje efekta primenjene terapije. Povećana vrednost CA 125 označava progresiju bolesti i slab odgovor na terapiju. Smanjenje CA 125 znak je dobrog odgovora na terapiju i dobre prognoze.

NAMENA TESTA

PATHOZYME OVARIAN CANCER ANTIGEN 125 je enzimski imunotest za kvantitativno određivanje ovarijumskog karcinoma antigena 125 u humanom serumu. Samo za profesionalnu upotrebu.

PRINCIP TESTA

Mikrotitracione čašice obložene su specifičnim monoklonskim anti-kancer antigen 125 antitelima. Ispitivani serum prenose se u čašice. Anti-kancer antigen 125 antitelo obeleženo peroksidazom (HRPO) dodaje se svakoj čašici i termostatira na 37 °C. Molekuli CA 125 se na taj način smeštaju u sendviču između čvrste faze i antitela za koji je vezan enzim.

Posle inkubacije, čašice se ispiraju vodom radi uklanjanja nevezanih, obeleženih antitela. Nakon dodatka supstrata (TMB), boja se razvija samo u onim čašicama u kojima je prisutan enzim, označavajući prisustvo CA 125. Enzimski reakcija se zaustavlja dodatkom razblažene hlorovodonične kiseline, nakon čega se meri apsorbanca na 450 nm. Koncentracija CA 125 je direktno proporcionalna intenzitetu boje uzorka.

Test je kalibrisan u odnosu na interni standard. Internacionalni standard za ovaj test ne postoji.

SADRŽAJ

Ref
OD287



Microtitre Plate	12 x 8 wells x 1
Referentni standard: humani serum bez CA 125. Spreman za upotrebu. (Bezbojan).	
Cal A	0 U/ml 1ml
Referentni standard: humani serum bez CA 125. Spreman za upotrebu. (Bezbojan).	
Cal B	15 U/ml 1ml
Referentni standard: CA 125 u humanom serumu. Spreman za upotrebu. (Bezbojan).	
Cal C	50 U/ml 1ml
Referentni standard: CA 125 u humanom serumu. Spreman za upotrebu. (Bezbojan).	
Cal D	100 U/ml 1ml
Referentni standard: CA 125 u humanom serumu. Spreman za upotrebu. (Bezbojan).	
Cal E	200 U/ml 1ml
Referentni standard: CA 125 u humanom serumu. Spreman za upotrebu. (Bezbojan).	
Cal F	400 U/ml 1ml
Referentni standard: CA 125 u humanom serumu. Spreman za upotrebu. (Bezbojan).	
Conj	11 ml
Anti-kancer antigen 125 HRP konjugat: anti-kancer antigen 125 konjugovan HRP-om. Spreman za upotrebu. (Purpurn).	
Subs	TMB 11 ml
Rastvor supstrata: 3,3',5,5'-tetrametil benzidin u citratnom puferu. (bezbojan).	
Soln	Stop HCl 1M 11 ml
Rastvor za zaustavljanje reakcije: razblažena HCl u prečišćenju 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
apsorbirajući papir
čitač mikrotitarskih ploča
grafički papir
čisto laboratorijsko posuđe.

OPREZ

PATHOZYME OVARIAN CANCER ANTIGEN 125 reagensi sadrže materijal humanog porekla, za koji je nakon testiranja utvrđeno da je negativan na HCV, HIV 1 i HIV 2 antitela i HbsAg, FDA odobrenim metodama. Kako nijedan test ne pruža potpunu sigurnost da materijal humanog porekla nije infektivan, preporučljivo je oprez pri rukovanju reagensima iz kompleta (upotrebe i bacanja). Sve reagensne treba smatrati biohazardnim materijalom. Ne gutati.

PATHOZYME OVARIAN CANCER ANTIGEN 125 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 OVARIAN CANCER ANTIGEN 125 rastvor za zaustavljanje reakcije sadrži HCl, te je korozivan.

Rukovati sa oprezom. U slučaju kontakta, dobro isprati vodom.

PATHOZYME ovarijumski CA 125 reagensi 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 direktno 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.

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, upotrebite set standarda. U držač postavite potreban broj čašica. Na priložen obrazac za upisivanje podataka obeležiti pozicije standarda i ispitivanog seruma.
3. Nepotrebne čašice vratite u kesicu sa desikantom i zatvorite zip-lock pre vraćanja na propisanu temperaturu.
4. Preneti 100µl standarda i ispitivanog seruma u obeležene čašice i nežno mučkati 10 sekundi.
5. Preneti 100µl anti-CA 125 Ag HRP konjugata u svaku čašicu.
6. Intenzivno mučkati 30 sekundi. Veoma je važno obezbediti adekvatno mučkanje u ovoj fazi rada.
7. Postaviti čašice u vlažan termostat sa vlažnim papirom i termostatirati 90 minuta na 37°C.
8. Na kraju inkubacionog perioda, odbaciti sadržaj čašica, brzim i ostrim lupkanjem šačica o kontejner za odbacivanje biohazardnog materijala. Snažno lupnuti na apsorbujući papir. U kontejneru za odbacivanje biohazardnog materijala mora biti dovoljno dezinfekcionog sredstva.
9. Ručno ispiranje: ispuniti čašice sa po najmanje 300µl destilovane vode po čašici. Odbaciti sadržaj čašica, brzim i ostrim lupkanjem šačica o kontejner za odbacivanje biohazardnog materijala. Snažno lupnuti na apsorbujući papir.
10. Da bi se uklonile zaostale kapi vode, lupnuti čašice na apsorbujući papir.
11. Mašinsko pranje: u svaku čašicu se mora preneti 300µl destilovane vode, a u bocu za odbacivanje dodati odgovarajuću količinu dezinficijensa. Prazne čašice isprati 5 puta. Posle pranja ukloniti zaostalu tečnost lupkanjem šačica na apsorbujući papir.
12. Preneti 100µl rastvora supstrata u svaku čašicu i nežno mučkati 10 sekundi.
13. Inkubirati na tamnom mestu 20 minuta na sobnoj temperaturi (20 °C to 25 °C).
14. Zaustaviti reakciju dodavanjem 100µl rastvora za zaustavljanje reakcije u svaku čašicu.
15. Nežno mučkati 30 sekundi dok plava boja ne pređe u žutu.
16. 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 ručno, 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 naokn završetka testiranja, zatvoriti sve bočice.

Izbegavati ponovljeno pipetiranje radnih rastvora, jer može doći do njihove kontaminacije.

Ne mešati reagense 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 to 25 °C). Nežno promućkati sve reagense blagim obrtnjem naopake ili mučkanjem.

Tokom ispitivanja čašice ne smeju postati suve.

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 uzoraka izračunati srednju vrednost apsorbanije na 450nm. Konstruisati standardnu krivu spajanjem vrednosti srednje apsorbanije svakog standarda i pripadajuće koncentracije izražene u jedinicama/ml. Preko srednje vrednosti apsorbanije sa standardne krive odrediti vrednost koncentracije CA 125 u U/ml. Ako kontrole ili uzorci sa poznatim vrednostima ne daju očekivane rezultate, rezultate ispitivanja smatrati nevažećim. 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 0,2, a kalibratora F mora biti veća od 1,5, da bi se dobijeni rezultati smatrali važećim. Kod zdravih žena očekivane CA 125 vrednosti iznose ispod 35 U/ml. Najmanja koncentracija koja se može detektovati PATHOZYME OVARIAN CANCER ANTIGEN 125 je 5 U/ml.

EVALUACIJA

Kalibracija je izvršena u odnosu na značajne konkurentne kuće i interni standard. Koeficijent varijacije PATHOZYME OVARIAN CANCER ANTIGEN 125 je manji ili veći od 10%. Ispitivanjem uzoraka sa poznatim vrednostima CA 125 koja su se kretala u intervalu od 2,0-1344 U/ml PATHOZYME OVARIAN CANCER ANTIGEN 125 i AxSym CA 125, proizvođača Abbott, dobijeni su sledeći rezultati:

Broj uzoraka	153
Koeficijent korelacije	0,94
Nagib	0,97
Intercept	- 0,372
Srednja vrednost dobijena testiranjem sa Omega testom	114,9 U/ml
Srednja vrednost dobijena testiranjem sa Abbott testom	119,2 U/ml

Oba testa daju dobru korelaciju.

REFERENCE

1. Kenemans P, Yedema CA, Bon GG, von Mensdorff-Pouilly S. CA125 in gynaecological pathology a review. Eur. J. Obstet. Gynaecol. 1993;49:115-124.
2. Saksela F. Prognostic markers in epithelial ovarian cancer. Intl. J. Gynaecol. Pathol. 1993;12:156-161.
3. Farghaly S. A. Tumour markers in gynaecologic cancer. Gynaecol. & Obstet. Invest. 192;34:65-72.
4. Welander C. E. What do CA125 and the antigens tell us about ovarian cancer biology. Acta Obstet. Gynaecol. Scand. Sup. 1992;155:85-93.
5. McGowan, L. Pathology of the ovary. Curr. Opin. on Obstet. Gynaecol. 1991;3:66-72.
6. Olt G, Berchuck A, Bast R. C. The role of tumour markers in gynaecologic oncology. Obstet. Gynaecol. Survey 1990;45:570-577.
7. Nilof, J. M. Ovarian malignancy. Curr. Opin. on Obstet. Gynaecol. 1991;3:66-72.
8. Diez M, Cerdan F.-J., Ortega, M.D., Torres, A., Picardo, A., Balibrea, J. L. Evaluation of serum Cancer Antigen 125 as a tumour marker in non-small cell lung cancer. Cancer 1991;67:150-154.
9. Nilof, J. M., Klug T. L., Schatzel, E. Elevation of serum Cancer Antigen 125 in carcinomas of the fallopian tube, endometrium and endocervix. A. M. J. Obstet. Gynaecol. 1984;148:1057.

BRZI POSTUPAK ISPITIVANJA

1. Preneti 100µl uzorka ili standarda i 100µl enzimskog konjugata u svaku čašicu i nežno mučkati 30 sekundi.
2. Inkubirati 90 minuta na 37 °C.
3. Odbaciti sadržaj čašica i isprati 5 puta destilovanom vodom.
4. Dodati 100µl rastvora supstrata u svaku čašicu. Nežno mučkati 5 sekundi.
5. Inkubirati na tamnom mestu 20 minuta na sobnoj temperaturi (20 °C to 25 °C).
6. Dodati 100µl rastvora za zaustavljanje reakcije i nežno mučkati 30 sekundi.
7. Odmah očitati optičku gustinu (ne nakon isteka 10 minuta) na 450nm.

8078 ISSUE 6 Revised September 2004 SERBIAN
© Omega Diagnostics Ltd 2004.



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