

PATHOZYME® CARCINOEMBRYONIC ANTIGEN Ref OD317

Test ImunoEnzimatic (EIA) pentru determinarea cantitativă a Antigenului Carcinoembrionic (CEA) în serul uman

Depozitați la 2°C - 8°C . NU CONGELAȚI.

Doar pentru diagnostic in-vitro.

INTRODUCERE

Antigenul Carcinoembrionic este un antigen onco-fetal. Este o glicoproteină și are o greutate moleculară de 200.000 Da. Nivelurile crescute de CEA seric pot fi asociate cu multe cancere, inclusiv cancerul de plămîni, ficat, pancreas, sîn, colon, prostată, stomac și ovar. În unele din aceste afecțiuni se recomandă măsurarea CEA seric în asociere cu markeri tumorali mai tradiționali.

În cazurile de cancer de colon, 80% din pacienți au niveluri serice crescute ale CEA. Acest test trebuie realizat însă în conjuncție cu alte date clinice deoarece afecțiuni benigne pot de asemenea determina creșterea ușoară a CEA, afecțiuni precum boli hepatice. În cancerul pulmonar, nivelurile de CEA sunt crescute la 57% din cazurile de cancer pulmonar cu celule non-mici și la 33% din cazurile de cancer pulmonar cu celule mici.

În cazul unei afecțiuni maligne nivelurile serice de CEEA sunt direct proporționale cu stadiul și extinderea bolii. Cu alte cuvinte CEA este folositor pentru monitorizarea evoluției tratamentului la bolnavii cu cancer. Recent s-a stabilit că nivelul de CEA are o bună valoare prognostică în cancerul de sîn și de colon; dacă nivelul pre-operativ de CEA este mare, prognosticul va fi slab.

UTILIZARE

PATHOZYME CEA este un test Imunoenzimatic (EIA) pentru determinarea cantitativă a Antigenului Carcinoembrionic (CEA) în serul uman.

A fi folosit doar de personalul medical.

PRINCIPIUL TESTULUI

Anticorpii specifici monoclonali, anti-CEA sunt legați de godeurile de microtitrare. Se aplică serul de testat. Apoi se adaugă anticorpii monoclonali anti-CEA marcați cu peroxidază din hrepan (Conjugat). Dacă în probă este prezent CEA uman, se va combina cu anticorpii de pe peretele godeului și cu Conjugatul enzimatic, ceea ce va face ca moleculele de CEA să aibă o structură de "sandwich" între faza solidă și anticorpii legați de enzimă. După incubare, godeurile sunt spălate cu apă pentru a îndepărta anticorpii marcați și care nu sunt legați. La adăugarea Substratului (TMB), se vor colora doar godeurile în care este prezentă enzima, ceea ce indică prezența CEA. Reacția enzimatică este oprită prin adăugarea de acid clorhidric diluat, după care absorbanta se măsoară la 450nm. Concentrația de CEA este direct proporțională cu intensitatea culorii probei.

Acest test a fost calibrat cu standarde interne.

Nu există un standard internațional pentru acest test.

CONȚINUT

Ref
OD317



Microtitre Plate	12 x 8 wells x 1
Codeuri detașabile "căptușite" cu anticorpi specifici conținuți într-o pungă de folie resigilabilă și care conține un desiccant.	
Cal A 0 ng/ml	1 ml
Standard Referință: Ser uman fără CEA. Gata de lucru. (Incolor)	
Cal B 3 ng/ml	1 ml
Standard Referință: CEA diluat în ser uman. Gata de lucru. (Incolor)	
Cal C 12 ng/ml	1 ml
Standard Referință: CEA diluat în ser uman. Gata de lucru. (Incolor)	
Cal D 30 ng/ml	1 ml
Standard Referință: CEA diluat în ser uman. Gata de lucru. (Incolor)	
Cal E 60 ng/ml	1 ml
Standard Referință: CEA diluat în ser uman. Gata de lucru. (Incolor)	
Cal F 120 ng/ml	1 ml
Standard Referință: CEA diluat în ser uman. Gata de lucru. (Incolor)	
Conj	11 ml
Conjugat Anti-CEA cu HRP. Gata de lucru (Roz)	
Subs TMB	11ml
Soluție Substrat: 3,3', 5,5' Tetrametil Benzidină în tampon citrat. Gata de lucru. (Incolor)	
Soln Stop HCl 1M	11ml
Soluție de Stopare: Acid Clorhidric diluat în apă purificată. Gata de lucru. (Incolor)	
Broșură instrucțiuni și fișă de înregistrare a datelor EIA	1 + 1

MATERIALE NECESARE DAR CARE NU SUNT PREZENTE ÎN KIT

Micropipete: 100µl, 200µl, 1000µl și 5000µl
Virfuri de pipetă de unică folosință
Hîrtie absorbantă
Cititor microplăci cu filtru de 450nm.
Hîrtie pentru grafic (milimetrică)
Sticlărie de laborator foarte curată

PRECAUȚIUNI

PATHOZYME CEA conține materiale de origine umană care au fost testate și confirmate negative prin proceduri aprobate pentru anticorpi HCV, HIV I și II și pentru HbsAg, la nivel de donator unic. Deoarece nici un test nu poate oferi o garanție completă că produsele derivate din surse umane nu vor transmite agenți infecțioși, se recomandă ca reactivii din acest kit să fie manipulați cu grijă și atenția corespunzătoare atît în timpul utilizării cît și sunt deșeurii. Nu ingerați.

Reactivii **CEA** nu conțin substanțe periculoase așa cum sunt definite de legislația Chimică a Marii Britanii (Informații și Ambalare substanțe periculoase pentru Furnizare). Rezolvarea finală a deșeurilor trebuie făcută în conformitate cu legislația locală.

Soluția de Stopare pentru **PATHOZYME CEA** este acid clorhidric diluat și deci este corozivă. Manipulați cu atenție. În cazul în care vine în contact cu organismul uman, clătiți bine cu apă.

PATHOZYME CEA conține ca și conservant 1% Proclin™ 300* care poate fi toxic dacă este ingerat. În cazul în care vine în contact cu organismul uman, clătiți bine cu apă și consultați un medic.

* Proclin™ 300 este o marcă înregistrată ROHM & HAAS Limited.

DEPOZITARE

Reactivii trebuie depozitați la temperaturi de 2°C - 8°C.

Data expirării este ultima zi a lunii menționate pe eticheta recipientului și pe ambalajul kit-ului. Performanța kit-ului va fi cea specificată pînă la data expirării menționată așa cum este determinată de la data producerii și după cum este menționat pe kit și componentele acestuia. Nu folosiți reactivii după data expirării.

Evitați expunerea reactivilor la temperatură excesivă. Nu expuneți reactivii la lumina directă a soarelui.

NU CONGELAȚI NICI UN REACTIV, deoarece acesta va fi iremediabil alterat.

RECOLTAREA ȘI PREGĂTIREA PROBEI

Recoltați o probă de sînge venos de la pacient și lăsați să se formeze și retracte cheagul. Centrifugați proba de sînge coagulat și colectați serul limpede. Este nevoie de ser proaspăt.

Nu folosiți ser hemolizat, contaminat sau lipemic pentru testare deoarece aceasta va influența nedorit rezultatele.

Serul poate fi depozitat la 2°C - 8°C timp de 48 de ore înainte de testare. Dacă este nevoie de o depozitare pe durată mai lungă, puteți păstra serul la -20°C pe o durată de pînă la un an. Probele decongelate trebuie amestecate înainte de testare.

Nu folosiți Azidă Sodică ca și conservant deoarece poate inhiba sistemul enzimă peroxidază.

Nu congelați-decongelați repetat probele deoarece veți obține rezultate false.

PREGĂTIREA REACTIVILOR

Toți reactivii trebuie lăsați să ajungă la temperatura camerei (20°C-25°C) și amestecați ușor înainte de a fi folosiți. Evitați formarea spumei.

LIMITELE UTILIZĂRII

Folosirea altor probe decît serul nu a fost validată pentru acest test. Nu există un protocol de re-utilizare pentru acest produs.

Atunci cînd faceți interpretarea acestui test este recomandat să luați în considerare toate datele clinice. Diagnosticul nu trebuie făcut pornind doar de la rezultatele unui singur test.

PROCEDURA DE TESTARE

- Înainte de utilizare, toate componentele kit-ului și serul de testat trebuie aduse la temperatura camerei (20°C - 25°C).
- Se recomandă rularea unui set de standarde pentru fiecare lot de probe ce trebuie procesate. Fixați în suport numărul dorit de stripuri. Notați poziția standardelor și a serului de testat pe fișa de date de înregistrare a datelor EIA din kit.
- Stripurile nefolosite trebuie re-sigilate din nou în punga de folie cu desicant înainte de a fi depozitate din nou la 2°C - 8°C.
- Pipetați 50μl de Standarde și ser de testat în godeurile stabilite.
- Pipetați 100μl de Conjugat Anti-CEA HRP în fiecare godeu.
- Amestecați bine timp de 30 de secunde. Este foarte important ca în acest stadiu să se realizeze un amestec complet.
- Incubați placa de titrare timp de 60 de minute la temperatura camerei (20°C - 25°C).
- La terminarea perioadei de incubare, aruncați conținutul godeurilor răsturnând placa deasupra unui recipient de deșuri biologice. Laviți apoi godeurile de hirtie absorbantă. Asigurați prezența în recipientul de deșuri a unui dezinfectant potrivit.
- Spălare manuală: umpleți godeurile cu minimum 300μl de apă distilată pentru fiecare godeu. Aruncați conținutul plăcii în recipientul de deșuri biologice. Laviți godeurile (inversate) de hirtie absorbantă. Spălați godeurile goale de 5 ori.
- Laviți apoi godeurile (răsturnate) de hirtie absorbantă pentru a îndepărta toate picăturile reziduale de lichid.
- Spălare Automată: Asigurați-vă ca în fiecare godeu să fie dispensați 300μl de apă distilată și ca în recipientul de deșuri să fie adăugat un dezinfectant potrivit. Spălați godeurile goale de 5 ori. După spălare, îndepărtați lichidul restant prin lovirea godeurilor (inversate) de hirtie absorbantă pentru a îndepărta picăturile de apă reziduale.
- Pipetați 100μl de Soluție Substrat în fiecare godeu și amestecați ușor timp de 5 secunde.
- Incubați la întuneric 20 de minute la temperatura camerei (20°C - 25°C).
- Opriti reacția adăugând 100μl de Soluție de Stopare în fiecare godeu.
- Amestecați ușor timp de 30 de secunde pentru a asigura virarea completă a culorii albastre în galben.
- Citiți imediat densitatea optică (până în 10 minute) folosind un cititor de microplăci cu un filtru de 450nm.

EVITAREA ERORILOR

Poate fi folosit de personalul cu minimă pregătire bazică de laborator.

Nu folosiți componente ale kit-ului care sunt deteriorate sau contaminate.

Folosiți un vîrf de pipetă de unică folosință pentru fiecare probă pentru a preveni contaminarea încrucișată.

Deși nu este necesară se recomandă rularea probelor și standardelor în duplicat.

Probele și standardele trebuie rulate simultan pentru a avea condiții de testare similare.

Se recomandă să nu folosiți mai mult de 32 de godeuri odată atunci cînd pipetați manual, deoarece pipetarea Standardelor și probelor trebuie să fie completă în decurs de 3 minute. Se poate folosi o placă completă de 96 de godeuri doar dacă este disponibilă pipetarea automată.

Puneți la loc capacul pe recipientele cu reactivi imediat după utilizare.

Evitați pipetarea repetată din reactivii de stoc, deoarece pot fi contaminați.

Nu amestecați reactivii sau stripurile provenind de la kit-uri diferite. Atunci cînd pipetați aveți grijă să nu atingeți suprafața godeului. Nu pipetați reactivul pe partea laterală a godeului. Înainte de începutul testării, lăsați reactivii să ajungă la temperatura camerei (20° - 25°C). Amestecați ușor toți reactivii cu mișcări blînde de rotație.

Odată testarea pornită, godeurile nu trebuie să se usuce în cursul derulării testului.

Nu contaminați Soluția Substrat deoarece kit-ul va deveni nefuncțional.

Controlați precizia și acuratețea echipamentului de laborator folosit în timpul procedurii pentru a asigura rezultate reproductibile.

Strip-urile nefolosite ar trebui re-sigilate în punga de folie care conține desicant și apoi depozitate la 2°C - 8°C.

CALCULAREA REZULTATELOR

Graficul produs de calibratori ar trebuie să aibă o formă hiperbolică cu DO450 (densitatea optică citită la 450nm) a calibratorilor proporțională cu concentrația lor. DO a calibratorului A trebuie să fie mai mică de 0,75 iar DO a calibratorului F mai mare de 1,5 pentru ca rezultatele testului să fie valide. Calculați valoarea absorbânței medii (A_{med}) pentru fiecare set de standarde și probe. Creați o curbă standard făcînd un grafic cu absorbânța medie pentru fiecare standard în funcție de concentrația în ng/ml pe hirtie milimetrică. Folosiți valorile absorbânței medii pentru fiecare probă pentru a determina concentrația corespunzătoare de CEA în ng/ml plecînd de la curba standard. Dacă nivelurile controalelor sau probelor cu valori cunoscute de utilizator nu dau rezultatele așteptate, rezultatele testelor trebuie considerate a fi invalide.

Dacă folosiți un pachet software alegeți o curbă de regresie quadratică care să se potrivească.

VALORI PREDICȚIONATE ȘI SENSIBILITATE

Studiul cel mai complet al CEA este o compilație a unor studii de colaborare în care au fost analizate valorile CEA a 35.000 de probe obținute de la mai mult de 10.000 de pacienți și controale. Din 1.425 de persoane normale, nefumătoare, 98,7% au avut valori mai mici de 5,0ng/ml. Este recomandat ca fiecare laborator să stabilească domeniul de valori normale. Concentrația minim detetabilă de CEA determinată cu **PATHOZYME CEA** este estimată a fi 1,0ng/ml.

DATE DE EVALUARE

Testul este calibrat față de competiții majori și față de Standarde Interne. Coeficientul de variație a **PATHOZYME CEA** este mai mic sau egal cu 10%. S-a obținut o bună corelație a kit-urilor într-o evaluare dintre **PATHOZYME CEA** produs de Omega și kit-ul AXSym Abbot pentru probe cu niveluri cuprinse între 0,2 și 50.400 ng/ml.

BIBLIOGRAFIE

- Gold, P., Freedman, S. O.** Demonstration of tumour specific antigen in human colonic carcinoma by immunologic tolerance and absorption techniques. *J. Exp. Med.* 1965;127:439-462.
- Thompson, D. P. M., Krupey, J., Freedman, S. O. et al.** The radioimmunoassay of circulating Carcinoembryonic antigen of the human digestive system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1969;64:161-167.
- Schwartz, M. K.** Tumour Markers in diagnosis and screening. In Ting, S. W., Chen, J. S., Schwartz, M. K. (eds.), *Human Tumour Markers*. Amsterdam: Elsevier Science, 1987;3-16.
- Zamcheck, N. and Martin, E. W.** Sequential Carcinoembryonic Antigen levels in Pancreatic Cancer: Some Clinical Correlations. *Cancer*, 1981;47:1620-1627.
- Mughal, A. W., Hortobagyi, G. N., Fritsche, H. A., Buzzdar, A. U., Yap, H.-Y. and Blumenschein, G. R.** Serial Plasma Carcinoembryonic Antigen Measurements During Treatment of Metastatic Breast Cancer. *JAMA*, 1983;259:1881-1886.

GHID RAPID AL PROCEDURII DE TESTARE

- Pipetați 50μl de Standard sau probe și 100μl de Conjugat Anti-CEA HRP în fiecare godeu și apoi amestecați bine timp de 30 de secunde.
- Incubați timp de 60 de minute la temperatura camerei (20°C-25°C)
- Aruncați conținutul godeurilor și spălați de cinci ori cu apă distilată.
- Adăugați 100μl de Soluție Substrat în fiecare godeu și amestecați bine timp de 5 secunde.
- Incubați la întuneric timp de 20 de minute la temperatura camerei (20°C-25°C)
- Adăugați 100μl de Soluție de Stopare în fiecare godeu și amestecați ușor timp de 30 de secunde.
- Citiți imediat (nu mai tîrziu de 10 minute) densitatea optică folosind un cititor de microplăci cu un filtru de 450nm.

8081 ISSUE 5 Revised April 2010 ROMANIAN
© 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