

PATHOZYME® PANCREATIC/GUT CANCER ANTIGEN 19-9 **Ref** OD277 Inmuno análisis de enzima para la determinación cuantitativa del CA19-9 Gastrointestinal en suero humano. Almacene entre los 2°C y los 8°C. NO CONGEELE. Únicamente para diagnóstico In Vitro

INTRODUCCIÓN

El cáncer pancreático equivale a un 2-3% de todos los cánceres y la cuarta causa más común de muertes por cáncer. La enfermedad es más común en hombres que en mujeres con una incidencia máxima a la edad de 60 años. El CA-19-9 es el marcador clave para esta enfermedad.

El CA 19-9 es una glicoproteína con un peso molecular de 100000 Da. Es un derivado del antígeno de grupo de sangre Le^a que se encuentra presente en el epitelio mesentérico. Los pacientes que son Lewis a-/b- no sintetizan el CA 19-9. Unos reportes recientes indican que el nivel de suero CA 19-9 está frecuentemente elevado en el suero de los sujetos con varios carcinomas malignos gastrointestinales tales como el pancreático, el colorectal, el gástrico y el hepático. Junto con el CEA los valores elevados del CA 19-9 son sugestivos de un neoplasma de la vejiga en una situación de enfermedad inflamatoria de la misma.

El CA 19-9 puede también elevarse en condiciones no malignas tales como pancreatitis crónica, colangitis, colelititis y cirrosis. Por esta razón los niveles de suero del CA19-9 no deben usarse para el tamizado del cáncer pancreático pero es muy usado en el monitoreo del curso de la enfermedad y su respuesta al tratamiento.

USO PREVISTO

PATHOZYME PANCREATIC/GUT CANCER ANTIGEN 19-9 es un inmuno análisis de enzima (EIA) para la determinación cuantitativa del Antígeno 19-9 de cáncer gastrointestinal en suero humano. Es para uso profesional únicamente.

EL PRINCIPIO DE LA PRUEBA

Se cubren los pozos de microtitre con anticuerpos específicos monoclonales de antígeno anti cáncer 19-9. Luego se añaden el suero de prueba y el buffer de análisis a los pozos y se procede a la incubación. Luego se lavan los pozos con agua. Se añade el antígeno anti-cáncer 19-9 etiquetado con enzima de peroxidasa de rábano (conjugado). Si el antígeno 19-9 de cáncer humano está presente en la muestra, se combinará con el anticuerpo en el pozo y el conjugado de enzima dando como resultado que las moléculas de antígeno de cáncer 19-9 estén en "sándwich" entre la fase sólida y los anticuerpos de enzima ligados. Después de la incubación, se lavan los pozos con agua destilada para retirar los anticuerpos etiquetados no ligados. Al añadir el sustrato (TMB) se desarrollará un color pero solamente en los pozos donde está presente la enzima indicando con esto, la presencia del antígeno cáncer 19-9. Luego se detiene la reacción de la enzima añadiendo solución de paro para enseguida medir la absorción a 450nm. La concentración del antígeno cáncer 19-9 es directamente proporcional a la intensidad del color en la muestra de prueba.

CONTENIDO

Ref
OD277



Microtitre Plate	12 x 8 pozos x 1
Pozos rompibles cubiertos con anticuerpo específico encapsados en bolsa re sellable de hojilla de aluminio con desecante	
BUF AS	11 ml
Diluyente de Muestra : Buffer basado en fosfato con proteínas estabilizadoras Fuerza de trabajo. (verde)	
Cal A 0 U/ml	0.5 ml
Estándar de referencia: Antígeno de cáncer 19-9 diluido en suero humano. Listo para su uso. (Incoloro)	
Cal B 25 U/ml	0.5 ml
Estándar de referencia: Antígeno de cáncer 19-9 diluido en suero humano. Listo para su uso. (Incoloro)	
Cal C 75 U/ml	0.5 ml
Estándar de referencia: Antígeno de cáncer 19-9 diluido en suero humano. Listo para su uso. (Incoloro)	
Cal D 150 U/ml	0.5 ml
Estándar de referencia: Antígeno de cáncer 19-9 diluido en suero humano. Listo para su uso. (Incoloro)	
Cal E 300 U/ml	0.5 ml
Estándar de referencia: Antígeno de cáncer 19-9 diluido en suero humano. Listo para su uso. (Incoloro)	
Cal F 600 U/ml	0.5 ml
Estándar de referencia: Antígeno de cáncer 19-9 diluido en suero humano. Listo para su uso. (Incoloro)	
Conj 12 X	1 ml
Conjugado HRP antígeno anti cáncer 19-9: Antígeno anti cáncer 19-9 conjugado a HRP. Listo para su uso. (Amarillo)	
DIL Conj	11 ml
Diluyente conjugado: Buffer basado en fosfato con proteínas estabilizadoras. Fuerza de trabajo. (Rosado)	
Subs TMB	11 ml
Solución de sustrato: 3,3', 5,5' Tetrametil bencidina en buffer de citrato. Listo para su uso. (Incoloro)	
Soln Stop HCl 1M	11 ml
Solución de paro: Ácido clorhídrico diluido en agua purificada. Listo para su uso. (Incoloro)	
Folleto de instrucciones y hoja de registro de datos EIA.	1 +1

MATERIAL REQUERIDO PERO NO SUMINISTRADO

Micropipetas: 100µl, 200µl y 1000µl
Puntas de pipeta desechables.
Incubadora: Temperatura de 37°C +/- 1°C
Papel absorbente
Lector de Micro placa con filtro de 450 nm
Papel gráfico
Cristalería de laboratorio totalmente limpia.

PRECAUCIONES

PATHOZYME PANCREATIC/GUT CANCER ANTIGEN 19-9 contiene materiales de origen humano los cuales han sido examinados y confirmados como negativo para los anticuerpos HCV, HIV I y II y para el HBsAg usando procedimientos de examen aprobados a nivel de donante sencillo. Ya que ninguna prueba puede ofrecer una seguridad total de que los productos derivados de fuente humana no puedan transmitir agentes infecciosos, se recomienda que los reactivos de este kit sean manejados con cuidado extremo y atención durante su uso y disposición. No los ingiera.

Los reactivos del **PATHOZYME PANCREATIC/GUT CANCER ANTIGEN 19-9** no contienen sustancias peligrosas según lo definen las regulaciones químicas británicas (Información de peligro y empaque para el suministro). Sin embargo, todos los reactivos deben tratarse como potencialmente bio peligrosos tanto en su uso como en su disposición. La eliminación final debe estar en concordancia con la legislación local.

La solución de paro del **PATHOZYME PANCREATIC/GUT CANCER ANTIGEN 19-9** es ácido clorhídrico diluido, por consiguiente, es altamente corrosivo. Manéjelo con cuidado. En caso de contacto, lave totalmente con agua abundante.

El antígeno **PATHOZYME PANCREATIC/GUT CANCER ANTIGEN 19-9** contiene un 1% de Proclin 300* como preservativo el cual puede ser tóxico si se ingiere. En caso de contacto, lave totalmente con agua corriente y busque atención médica.

*Proclin® 300 es una marca registrada de ROHM & HAAS Limited.

ALMACENAMIENTO

Los reactivos deben almacenarse dentro de un rango de temperatura entre los 2°C y los 8°C.

La fecha de vencimiento es el último día del mes y se encuentra marcado en la botella y en la etiqueta del kit. El kit se desempeñará según las especificaciones escritas hasta la fecha de vencimiento determinada, la cual es tomada teniendo en cuenta la fecha de fabricación del producto. No use los reactivos pasada la fecha de vencimiento.

Debe evitarse la exposición de los reactivos a temperaturas extremas ni a luz solar directa.

NO CONGEELE LOS REACTIVOS ya que esto los hará completamente inservibles.

RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DEL ESPECIMEN

Obtenga una muestra de sangre venosa del paciente y permita que se forme un coágulo y que se retraiga. Centrifugue la muestra de sangre coagulada y recolecte el suero claro. Se requieren muestras de suero frescas.

No use suero lipémico ni hemolizado ni contaminado para la prueba ya que estas circunstancias afectaran adversamente los resultados.

El suero puede almacenarse entre los 2°C y los 8°C hasta por 48 horas antes de efectuar la prueba. Si se requiere un almacenamiento más prolongado, almacene a -20°C hasta por 1 año. Las muestras derretidas, deben mezclarse completamente antes de efectuar las pruebas.

No use como preservativa la Asida de Sodio ya que este producto podrá inhibir el sistema de enzima de peroxidasa.

No haga ciclos de congelar-descongelar repetitivos pues esto causará resultados falsos.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Todos los reactivos deben llegar a temperatura ambiente (20°C a 25°C) deben mezclarse totalmente antes de usarlos. No induzca la formación de espuma.

Solución de trabajo
Diluya el conjugado concentrado usando 1 parte del conjugado por 11 partes del diluyente del conjugado (dilución 1/12). Se requieren 100 µl por pozo. Prepare una solución fresca para cada análisis elaborado.

LIMITACIONES DE USO

No se han validado para esta prueba el uso de muestras diferentes a suero. No existe un protocolo de re utilización para este producto. Al efectuar una interpretación de la prueba se recomienda con vehemencia tener en cuenta todos los datos clínicos. No se debe hacer un diagnóstico basado únicamente en los resultados de un solo análisis clínico.

PROCEDIMIENTO DEL ANÁLISIS

- Permita que los componentes del kit y el suero de prueba lleguen a temperatura ambiente (20°C a 25°C) antes de efectuar las pruebas.
- Debe correrse solo un juego de estándares para cada grupo de suero de prueba. Asegure el número deseado de pozos cubiertos en el recipiente. Registre la posición de los estándares y el suero de prueba en la hoja de registro de datos suministrada.
- Las tiras no usadas deben introducirse en la bolsa de hojilla de aluminio con desecante y sellarse con la cremallera zip-lock antes de colocarse dentro de la temperatura de 2°C a 8°C.
- Distribuya 10µl de los estándares y el suero de prueba a los pozos asignados
- Distribuya 100 µl del buffer de análisis a cada pozo.
- Mezcle completamente por 30 segundos. Este paso de mezcla es extremadamente importante.
- Incube durante 90 minutos a 37°C.
- Al terminar el periodo de incubación, elimine el contenido de los pozos sacudiéndolos hacia un contenedor bio peligroso. Enseguida golpee firmemente los pozos contra papel absorbente. Asegure un contenido adecuado de desinfectante presente en el contenedor bio peligroso.
- Lavado a mano: Llene los pozos con un mínimo de 300 µl de agua destilada por pozo. Sacuda el contenido de la placa hacia un contenedor bio peligroso. Luego golpee firmemente los pozos contra papel absorbente. Lave los pozos vacíos 5 veces.
- Golpee los pozos firmemente contra papel absorbente o contra una toalla de papel para retirar todo residuo de agua en gotitas.
- Lavado a máquina: Asegúrese de distribuir 300 µl de agua destilada por cada pozo y que se añada un desinfectante apropiado en la botella de recolección de desperdicio. Lave los pozos vacíos 5 veces. Después del lavado, retire el exceso de líquido golpeando los pozos firmemente contra papel absorbente o contra una toalla de papel para retirar toda agua residual en gotitas.
- Distribuya 100 µl de solución de conjugado en fuerza de trabajo a cada pozo y agite suavemente por 10 segundos.
- Incube 90 minutos a 37°C.
- Lave la placa según se indica arriba
- Distribuya 100 µl de solución de sustrato a cada pozo y agite suavemente por 10 segundos.
- Incube en la oscuridad por 20 minutos a temperatura ambiente (20°C a 25°C)
- Detenga la reacción añadiendo 100 µl de solución de paro a cada pozo.
- Agite suavemente por 30 segundos para asegurar que el color azul cambia completamente a amarillo.
- Lea de forma inmediata la densidad óptica (no mas tarde de 10 minutos). usando un lector de microplaca con un filtro de 450nm.

SOLUCIÓN DE PROBLEMAS

Para ser usado por operarios con un entrenamiento mínimo de laboratorio.

No use componentes kit dañados ni contaminados

Use una punta desechable por cada muestra para evitar contaminación cruzada.

Aunque no es indispensable, recomendamos duplicar todos los estándares y especímenes.

Deben correrse al mismo tiempo los especímenes y los estándares para mantener las condiciones de prueba iguales.

Se recomienda no usar mas de 32 pozos en cada análisis si se usa un pipeteo manual ya que el pipeteo de todos los estándares y especímenes debe completarse dentro de 3 minutos. Una placa completa de 96 pozos puede usarse si se usa un pipeteo automático.

Tape todos los reactivos inmediatamente después de usarse.

Evite el pipeteo repetido de los agentes almacenados ya que esto puede causar contaminación.

No mezcle los reactivos ni las tiras cubiertas de anticuerpo tomadas de diferentes kits. Al eliminarse, hay que tener mucho cuidado de no tocar la superficie del pozo.

No permita que el reactivo se escurra a los lados del pozo. Antes de empezar el análisis permita ue todos los reactivos lleguen a la temperatura ambiente que oscile entre los 20°C y los 25°C. Agite suavemente los reactivos ya sea invirtiéndolos con suavidad o por giro.

Una vez que el análisis se iniciado, no se debe permitir que los pozos se sequen durante el análisis.

El procedimiento de lavado es muy crítico para el resultado de la prueba. Un lavado insuficiente arrojará precisión pobre y elevará falsamente las lecturas de absorción.

No contamine la solución de sustrato ya que esto inutilizaría todo el kit.

Revise la precisión y exactitud del equipo de laboratorio usado durante el procedimiento para asegurar resultados reproducibles.

Las tiras no usadas deben re introducirse en la bolsa resellable de hojilla de aluminio con desecante y sellarse usando la cremallera zip-lock y almacenarse a 2°C a 8°C.

EL CÁLCULO DE LOS RESULTADOS

Calcule el valor de la absorción media (A450) por cada juego de estándares y especímenes. Construya una curva estándar dibujando en un papel gráfico la absorción media de cada estándar contra su concentración en U/ml. Use los valores de absorción media de cada espécimen para determinar la correspondiente concentración del antígeno de cáncer pancreático/intestinal 19-9 en U/ml de la curva estándar. Si los niveles de control o de las muestras conocidas de los usuarios do arrojan los resultados esperados, los resultados de las pruebas deben considerarse no válidos. Si usa el paquete de software, escoja una curva de regresión cuadrática.

VALORES ESPERADOS Y SENSIBILIDAD

La gráfica producida por los calibradores deberá ser de forma hiperbólica con el OD450 de los calibradores y proporcional a su concentración. El OD del calibrador A deberá ser menor que 0.75 y el OD del calibrador F deberá ser mayor que 1.5 para que los resultados del análisis sean válidos. Los hombres y mujeres saludables, tienen concentraciones normales esperadas del antígeno de cáncer 19-9 por debajo de 35 U/ml. La concentración mínima detectable de concentración del antígeno de cáncer 19-9 por el antígeno **PATHOZYME PANCREATIC/GUT CANCER ANTIGEN 19-9** se estima en 10U/ml.

DATOS EVALUATIVOS

Calibrados con los competidores mas importantes y con los estándares de la casa. El coeficiente de variación del antígeno **PATHOZYME PANCREATIC/GUT CANCER ANTIGEN 19-9** es menor o igual a un 10%.

En una evaluación hecha entre el kit Omega **PATHOZYME PANCREATIC/GUT CANCER ANTIGEN 19-9** y el kit de Abbott IMX para muestras con niveles entre 33.4 U/ml y 297.6 U/ml, se generaron los siguientes datos:

Número de muestras	44
Coefficiente de correlación	0.9738
Pendiente	0.94
Interceptación	6.77
Medio del Omega	100.38 U/ml
Medio del Abbott	99.33 U/ml

Estos kits demostraron buena correlación

REFERENCIAS

- 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.
- Hayakawa, T., Kondo, T., Shibata, T. et al. Sensitive serum markers for detecting pancreatic cancer. Cancer 1988;61:1827-31.
- Koprowski, H., Herly, Steplewski, Z., et al. Specific antigen in serum of patients with colon carcinoma. Science 1981;212:53-55.
- 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.
- 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.
- Steinberg, W. The clinical utility of CA 19-9 tumour associated antigen American J. of Gastroenterology 1990;85:350-355.
- 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.
- 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.
- 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.
- Wang, T.H. In Chen, J.W. et al. Non-Invasive diagnosis of advances pancreatic cancer by real-time ultra sonography, Carcinoembryonic antigen and carbohydrate antigen 19-9. Pancreas 1986;1:1219-23.
- 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.

REFERENCIA RÁPIDA DEL PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

- Distribuya 10µl de muestras o estándares y 100 µl de buffer de análisis a cada pozo y agite suavemente durante 30 segundos.
- Incube durante 90 minutos a 37°C.
- Elimine el contenido de los pozos y lave 5 veces con agua destilada.
- Distribuya 100 µl de solución de conjugado en fuerza de trabajo a cada pozo y agite suavemente por 10 segundos.
- Incube durante 90 minutos a 37°C.
- Elimine el contenido de los pozos y lave 5 veces con agua destilada.
- Añada 100 µl de solución de sustrato a cada pozo, Agite por 10 segundos.
- Incube en oscuridad durante 20 minutos a temperatura ambiente (20°C a 25°C).
- Añada 100 µl de solución de paro a cada pozo y agite suavemente por 30 segundos.
- Lea las densidades ópticas de forma inmediata no mas tarde de 10 minutos usando un lector de microplaca con un filtro de 450nm.

8077 ISSUE 8 Revised February 2010. SPANISH
©Omega Diagnostics Ltd 2010.

