

# PATHOZYME® PANCREATIC/GUT CANCER ANTIGEN 19-9

Ref OD277

**Test ImunoEnzimatic (EIA) pentru determinarea cantitativă a Antigenului 19-9 Cancer Gastrointestinal în serul uman.**  
**Depozitați la 2°C - 8°C . NU CONGELAȚI.**  
**Doar pentru diagnostic in-vitro.**

## INTRODUCERE

Cancerul pancreatic este responsabil pentru aproximativ 2-3% din toate cancerurile și cea de-a patra cauză frecventă de deces prin cancer. Boala este mai frecventă la bărbați în comparație cu femeile cu o incidență maximă la vârsta de 60 de ani. CA 19-9 este markerul cel mai important pentru această boală.

CA 19-9 este o glicoproteină cu greutate moleculară de 1.000.000 Da. Este derivată din antigenul de grup sanguin Le<sup>a</sup> prezent în epiteliul mezenteric normal. Pacienții care sunt Lewis a-/b- nu sintetizează CA19-9. Studii recente indică că nivelul seric de CA 19-9 este frecvent crescut în serul pacienților cu variate afecțiuni maligne gastrointestinale, precum carcinoamele pancreatice, colorectale, gastrice și hepatice. Împreună cu CEA, nivelul crescut de CA 19-9 este sugestiv pentru neoplasmul de colon în contextul bolii inflamatorii veziculare.

CA 19-9 poate fi de asemenea crescut în afecțiuni non-maligne precum pancreatita cronică, colangita, colecistita și ciroza. Din acest motiv, nivelurile serice de CA 19-9 nu trebuie folosite în screening-ul pentru cancerul pancreatic însă este foarte folositor pentru monitorizarea evoluției bolii și răspunsului la tratament.

## UTILIZARE

**PATHOZYME PANCREATIC/GUT CANCER ANTIGEN 19-9** este un test ImunoEnzimatic (EIA) pentru determinarea cantitativă a Antigenului Cancer Gastrointestinal 19-9 în serul uman.

Doar pentru uzul personalului medical.

## PRINCIPIUL TESTULUI

Anticorpii monoclonali specifici anti- Antigen Cancer 19-9 sunt fixați de godeurile de microtitrare. Serurile de testat și Tamponul Test sunt adăugate în godeuri și incubate. Godeurile sunt apoi spălate cu apă. Se adaugă apoi anticorpii anti-Antigen Cancer 19-9 marcați cu enzima peroxidază din hrean (HRP) – Conjugat. Dacă în probă este prezent Antigen Cancer 19-9 uman, acesta se va combina cu anticorpii de pe godeuri și cu Conjugatul, ceea ce va determina moleculele de Antigen Cancer 19-9 să formeze un complex tip sandwich cu fața solidă și cu anticorpii legați de enzimă. După incubare, godeurile sunt spălate cu apă distilată pentru a îndepărta anticorpii marcați dar nelegați. După adăugarea Substratului (TMB) va apărea o culoare doar în godeurile în care este prezentă enzima, ceea ce indică prezența Antigen Cancer 19-9. Reacția enzimatică este oprită prin adăugarea Soluției de Stopare după care absorbanta este citită la 450nm. Concentrația de Antigen Cancer 19-9 este direct proporțională cu intensitatea culorii probei.

Acest test a fost calibrat cu standarde interne. Pentru acest test nu există standarde internaționale.

## CONȚINUT

Ref  
OD277



Microtitre Plate		12 x 8 godeuri x 1		
Godeuri detașabile, "căptușite" cu anticorpi specifici și conținute într-o pungă de folie care conține și un desiccant.				
BUF	AS	11 ml		
Diluent Probă: Tampon bazat de fosfat și conținând proteine de stabilizare. Gata de lucru. (Verde)				
Cal	A	0 U/ml		
Standard Referință: Antigen cancer 19-9 diluat în ser uman. Gata de lucru. (incolor)				
Cal	B	25 U/ml		
Standard Referință: Antigen cancer 19-9 diluat în ser uman. Gata de lucru. (incolor)				
Cal	C	75 U/ml		
Standard Referință: Antigen cancer 19-9 diluat în ser uman. Gata de lucru. (incolor)				
Cal	D	150 U/ml		
Standard Referință: Antigen cancer 19-9 diluat în ser uman. Gata de lucru. (incolor)				
Cal	E	300 U/ml		
Standard Referință: Antigen cancer 19-9 diluat în ser uman. Gata de lucru. (incolor)				
Cal	F	600 U/ml		
Standard Referință: Antigen cancer 19-9 diluat în ser uman. Gata de lucru. (incolor)				
Conj	12 X	1 ml		
Conjugat Anti- Antigen Cancer 19-9 HRP: Anti- Antigen Cancer 19-9 conjugat de HRP. (Galben)				
DIL	Conj	11 ml		
Diluent Conjugat: Tampon fosfat conținând proteine de stabilizare. Gata de lucru (Roșu)				
Subs	TMB	11 ml		
Soluție Substrat: 3,3', 5,5' Tetrametil Benzidine în tampon citrat. Gata de lucru. (incolor)				
Soln	Stop	HCl	1M	11 ml
Soluție de Stopare: Acid clorhidric diluat în apă purificată. Gata de lucru. (incolor)				
Broșură cu instrucțiuni și Fișa de Înregistrare a datelor EIA		1 + 1		

## MATERIALE NECESARE DAR CARE NU SUNT PREZENTE ÎN KIT

Micropipete: 100µl, 200µl și 1000µl  
Virfuri de unică folosință pentru pipete  
Incubator: Temperatură: 37°C ± 1°C  
Hîrtie absorbantă  
Cititor microplăci cu filtru de 450nm.  
Hîrtie pentru grafic (milimetrică)  
Sticlărie de laborator foarte curată.

## PRECAUȚIUNI

**PATHOZYME PANCREATIC/GUT CANCER ANTIGEN 19-9** 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 donor 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 reacții din acest kit să fie manipulați cu grijă și atenția corespunzătoare atât în timpul utilizării cit și sunt deșeuri. Nu ingerați.

Reactivii **PATHOZYME PANCREATIC/GUT CANCER ANTIGEN 19-9** nu conțin substanțe periculoase așa cum sunt definite de legislația Chimică a Marii Britanii (Informații și Ambalare substanțe periculoase pentru Furnizare). Toți reactivii trebuie totuși tratați ca substanțe cu potențial risc biologic alt cînd sunt folosite cit și cînd sunt deșeuri. Rezolvarea finală a deșeurilor trebuie făcută în conformitate cu legislația locală.

Soluția de Stopare pentru **PATHOZYME PANCREATIC/GUT CANCER ANTIGEN 19-9** 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 PANCREATIC/GUT CANCER ANTIGEN 19-9** conține ca și conservant Proclin™ 300\* 1% 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 menționată 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 testare pe durată mai lungă, puteți depozita 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 aceasta 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.

Conjugatul Concentrat - Soluția de Lucru:  
Diluati conjugatul concentrat folosind o parte de conjugat la 11 părți de diluent conjugat (diluție 1/12). Pentru fiecare godeu este nevoie de 100µl. Pregătiți soluție de lucru proaspătă pentru fiecare testare.

## 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. Se recomandă rularea unui set de standarde la fiecare lot de probe 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 10μl de Standarde și probe în godeurile stabilite.
- Pipetați 100μl de Tampon Test în fiecare godeu.
- Amestecați bine timp de 30 de secunde. Este foarte important ca în acest stadiu să amestecați complet soluțiile din godeuri.
- Incubați 90 de minute la 37°C.
- După perioada de incubare, aruncați conținutul godeurilor răsturnând brusc conținutul plăcii cu partea superioară în jos deasupra unui container de deșeurii cu risc biologic și apoi loviți placa (cu partea superioară în jos) pe o bucată de hirtie absorbantă. Aveți grijă ca în recipientul pentru deșeurii să se afle un dezinfectant corespunzător.
- Spălare manuală: umpleți godeurile cu minimum 300μl de apă distilată pentru fiecare godeu. Aruncați conținutul plăcii în recipientul de deșeurii biologice. Loviți godeurile (inversate) de hirtie absorbantă. Spălați godeurile goale de 5 ori.
- Loviți 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 și că în recipientul de deșeurii este adăugat un dezinfectant potrivit. Spălați godeurile goale de 5 ori. După spălare, îndepărtați lichidul restant prin lovirea godeurilor (inversate) de hirtie absorbantă.
- Pipetați 100μl de Conjugat gata de lucru în fiecare godeu și amestecați bine timp de 10 secunde.
- Incubați placa 90 de minute la 37°C.
- Spălați placa cum este descris mai sus.
- Pipetați 100μl se Soluție Substrat în fiecare godeu și amestecați timp de 10 secunde.
- Incubați la întuneric 20 de minute la temperatura camerei (20° - 25°C).
- Oprți reacția prin adăugarea în fiecare godeu a 100μl de Soluție de Stopare.
- Amestecați ușor timp de 30 de secunde pentru a asigura virarea completă a culorii de la albastru la galben.
- Citiți Densitatea Optică (DO) imediat (nu mai târziu de 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 se poate produce contaminare.

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.

Procedura de spălare este critică pentru rezultatul final al acestui test. Spălarea insuficientă va determina o precizie slabă și rezultate fals crescute ale absorbantei.

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

Calculați valoarea absorbantei medii ( $A_{450}$ ) pentru fiecare set de standarde și probe. Creați o curbă standard făcînd un grafic cu absorbanta medie pentru fiecare standard în funcție de concentrația în U/ml pe hirtie milimetrică. Folosiți valorile absorbantei medii pentru fiecare probă pentru a determina concentrația corespunzătoare de Antigen Cancer Pancreatic/Intestinal 19-9 în U/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

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 0,5 iar DO a calibratorului F mai mare de 1,2 pentru ca rezultatele testului să fie valide.

Bărbații și femeile sănătoși ar trebui să aibă concentrații ale Antigenului Cancer 19-9 mai mici de 35 U/ml. Concentrația minimă detectabilă a Antigenului Cancer 19-9 pentru testul PATHOZYME PANCREATIC/GUT CANCER ANTIGEN 19-9 este estimată a fi de 10 U/ml.

## DATE DE EVALUARE

Test calibrat față de competitorii majori și standarde interne. Coeficientul de variație pentru PATHOZYME PANCREATIC/GUT CANCER ANTIGEN 19-9 este mai mic sau egal cu 10%.

În cursul unei evaluări dintre kit-ul Pathozyme CA 19-9 produs de Omega și kit-ul IMx produs de Abbot, folosind probe cu niveluri între 33,4 U/ml și 297,6 U/ml au fost generate următoarele date.

Număr de probe	44
Coeficient de corelație	0,9738
Pantă	0,94
Intercept	6,77
Medie Omega	100,38 U/ml
Medie Abbott	99,33 U/ml

S-a dovedit că aceste kit-uri au o bună corelație.

## BIBLIOGRAFIE

- 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 advanced 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.

## GHID RAPID AL PROCEDURII DE TESTARE

- Pipetați 10μl de probe sau Standarde și 100μl de Tampon Testare. În fiecare godeu și amestecați bine 30 de secunde.
- Incubați 90 de minute la 37°C
- Aruncați conținutul godeurilor și spălați de 5 ori cu apă distilată.
- Pipetați 100μl de soluție Conjugat gata de lucru în fiecare godeu și amestecați ușor 10 secunde.
- Incubați 90 de minute la 37°C.
- Aruncați conținutul godeurilor și spălați de 5 ori cu apă distilată.
- Adăugați 100μl de Soluție Substrat în fiecare godeu. Amestecați ușor 10 secunde.
- Incubați la întuneric 20 de minute la temperatura camerei (20°C - 25°C).
- Adăugați 100μl de Soluție de Stopare în fiecare godeu și amestecați ușor 30 de secunde.
- Citiți imediat Densitatea Optică (În decurs de 10 minute), folosind un cititor de microplăci cu un filtru de 450nm.

8077 ISSUE 8 Revised February 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