

PATHOZYME[®] OVARIAN CANCER ANTIGEN 125 Ref OD287

Immunoanálisis de enzima (EIA) para la determinación cuantitativa del cáncer de ovario 125 en suero humano.

Almacene entre los 2°C y los 8°C. NO CONGELE

Para diagnóstico IN VITRO únicamente

INTRODUCCIÓN

El cáncer de ovario es la sexta forma de cáncer más frecuente (excluyendo los cánceres de piel no-melanoma) entre mujeres y la quinta causa más común de muertes por cáncer. Uno de los marcadores clave de esta enfermedad es el antígeno de cáncer 125.

La CA 125 es una glicoproteína con un peso molecular de 200000 – 1000000 Da. Sólo es producida por las células epiteliales de carcinoma de ovario. No es producido por células normales. La CA 125 se encuentra en un número mayor al 80% de todos los casos de cáncer de ovario. Un 6% de los casos con suero CA 125 elevado, puede atribuirse a enfermedades malignas no ginecológicas tales como el páncreas o los pulmones. Una selección de enfermedades no malignas pueden resultar en un aumento del CA125; estas condiciones incluyen la menstruación, la endometriosis y el embarazo (durante el primer trimestre). Sólo se encuentra un CA 125 elevado en el 1% de los controles saludables.

Cuando se monitorean los niveles de CA125 en un paciente que posea un nivel elevado de CA125, esto indica la presencia de una enfermedad maligna progresiva y una respuesta terapéutica pobre. Una disminución del CA125, indica una prognosis favorable y una buena respuesta terapéutica.

USO PREVISTO

PATHOZYME OVARIAN CANCER ANTIGEN 125 es un inmuno análisis de enzima (EIA) para la determinación cuantitativa del antígeno 125 de cáncer de ovario en suero humano. Es para uso profesional únicamente.

EL PRINCIPIO DE LA PRUEBA

Se los pozos de microtitulos con anticuerpos monoclonales específicos anti cáncer 125. Luego se añade el suero de prueba a cada pozo. El antígeno anti-cáncer 125 etiquetado con enzima de peroxidasa de rábano (conjugada) es añadido a cada pozo y luego incubado a 37°C. Esto da como resultado que las moléculas del antígeno de cáncer 125 se coloquen en "sándwich" entre la fase sólida y los anticuerpos ligados a enzima.

Después de la incubación los pozos se lavan para retirar los anticuerpos etiquetados no ligados. Al añadir el sustrato (TMB) se desarrollará un color pero únicamente en los pozos en los cuales esté presente la enzima indicando con esto, la presencia del antígeno de cáncer 125. Seguidamente, se detiene la reacción añadiendo ácido clorhídrico diluido para proceder a medir la absorción a 450 nm. La concentración del antígeno de cáncer 125 es directamente proporcional a la intensidad del color en las muestras de prueba. Esta prueba ha sido calibrada con los estándares de la casa. No existe un estándar internacional para esta prueba.

CONTENIDO

Ref
OD287



Microtitre Plate	12 x 8 pozos x 1
Pozos rompibles cubiertos con anticuerpo específico dentro de una bolsa de hojilla de aluminio resellable y con desecante.	
Cal A	0 U/ml 1ml
Estándar de referencia: Suero humano libre de antígeno de cáncer 125. Listo para su uso. (Incoloro)	
Cal B	15 U/ml 1ml
Estándar de referencia: Antígeno de cáncer 125 diluido en suero humano. Listo para su uso. (Incoloro)	
Cal C	50 U/ml 1ml
Estándar de referencia: Antígeno de cáncer 125 diluido en suero humano. Listo para su uso. (Incoloro)	
Cal D	100 U/ml 1ml
Estándar de referencia: Antígeno de cáncer 125 diluido en suero humano. Listo para su uso. (Incoloro)	
Cal E	200 U/ml 1ml
Estándar de referencia: Antígeno de cáncer 125 diluido en suero humano. Listo para su uso. (Incoloro)	
Cal F	400 U/ml 1ml
Estándar de referencia: Antígeno de cáncer 125 diluido en suero humano. Listo para su uso. (Incoloro)	
Conj	11 ml
Conjugado HRP antígeno anti cáncer 125; Antígeno anti cáncer 125 conjugado a HRP. Listo para su uso. (Púrpura)	
Subs	TMB 11ml
Solución de sustrato: 3,3', 5,5' Tetrametil bencidina en buffer de citrato. Listo para su uso. (Incoloro)	
Soln	Stop HCl 1M 11ml
Solución de paro: Ácido clorhídrico diluido en agua purificada. Listo para su uso. (Incoloro)	
	Hojilla de instrucciones y hoja de registro de datos EIA. 1 +1

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SUMINISTRADOS

Micropipetas: 100µl, 200µl and 1000µl
Punchas de pipetas desechables
Incubadora: Temperatura de 37°C +/- 1°C papel absorbente
Lector de microplaca con filtro de 450nm.
Papel gráfico
Cristalería de laboratorio totalmente limpia

PRECAUCIONES

PATHOZYME OVARIAN CANCER ANTIGEN 125 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 OVARIAN CANCER ANTIGEN 125 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 OVARIAN CANCER ANTIGEN 125 es ácido clorhídrico diluido, por consiguiente, es altamente corrosivo. Manéjelo con cuidado. En caso de contacto, lave totalmente con agua abundante.

Los reactivos del PATHOZYME OVARIAN CANCER ANTIGEN 125 contienen 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 que va desde 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 CONGELE 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° 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° a 25°C) deben mezclarse totalmente antes de usarlos. No induzca la formación de espuma.

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.

ROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

1. 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.
2. 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.
3. Las tiras no usadas deben introducirse en la bolsa de aluminio con desecante y sellarse con la cremallera zip-lock antes de colocarse dentro de la temperatura de 2°C a 8°C.
4. Distribuya 100µl de los estándares y el suero de prueba a los pozos asignados Y mezcle durante 10 segundos.
5. Distribuya 100µl de Conjugado HRP de antígeno anti cáncer 125 a cada pozo.
6. Mezcle completamente por 30 segundos. Este paso de mezcla es extremadamente importante.
7. Coloque la placa en una caja húmeda con algo de papel húmedo a incubela durante 90 minutos a 37°C.
8. 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.
9. 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.
10. Golpee los pozos firmemente contra papel absorbente o contra una toalla de papel para retirar todo residuo de agua en gotitas.
11. 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.
12. Distribuya 100µl de solución de sustrato a cada pozo y agite suavemente por 10 segundos.
13. Incube en la oscuridad por 90 minutos a temperatura ambiente (20°C a 25°C).
14. Detenga la reacción añadiendo 100 µl de solución de paro a cada pozo.
15. Agite suavemente por 30 segundos para asegurar que el color azul cambia completamente a amarillo.
16. Lea de forma inmediata la densidad óptica (no más 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 más 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 que 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 inició, no se debe permitir que los pozos se sequen durante el análisis.

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 reintroducirse en la bolsa resellable de hoja 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 125 en U/ml de la curva estándar. Si los niveles de control o de las muestras conocidas de los usuarios 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 0.2 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 125 por debajo de 35 U/ml. La concentración mínima detectable de concentración del antígeno de cáncer 125 por el PATHOZYME OVARIAN CANCER ANTIGEN 125 se estima en 5U/ml.

DATOS EVALUATIVOS

Están calibrados con los competidores mas importantes y con los estándares de la casa. El coeficiente de variación del PATHOZYME OVARIAN CANCER ANTIGEN 125 es menor o igual a un 10%.

En una evaluación hecha entre el kit Omega PATHOZYME OVARIAN CANCER ANTIGEN 125 y el kit de Abbott AxSym CA 125 para muestras con niveles entre 2.0 U/ml y 1344 U/ml, se generaron los siguientes datos:

Número de muestras	153
Coefficiente de correlación	0.94
Pendiente	0.97
Intercepción	- 0.372
Medio Omega	114.9 U/ml
Medio Abbott	119.2 U/ml

Los kits mostraron una buena correlación

REFERENCIAS

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. Sakseia 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. Niloff, J. M., Klug T. L., Schaezel, E. Elevation of serum Cancer Antigen 125 in carcinomas of the fallopian tube, endometrium and endocervix. *A. M. J. Obstet. Gynaecol.* 1984;148:1057.

REFERENCIA RÁPIDA DEL PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

1. Distribuya 100µl de muestras o estándares a cada pozo y mezcle durante 10 segundos
2. Distribuya 100µl de conjugado de enzima a cada pozo y agite suavemente por 30 segundos.
3. Incube por 90 minutos a 37°C.
4. Elimine el contenido de los pozos y lave 5 veces con agua destilada
5. Añada 100µl de solución de sustrato a cada pozo. Agite suavemente por 5 segundos.
6. Incube en la oscuridad por 20 minutos a temperatura ambiente (20°C a 25°C).
7. Añada 100µl de solución de paro a cada pozo y agite suavemente por 30 segundos.
8. Inmediatamente y no mas tarde de 10 minutos, lea las densidades ópticas usando un lector de micro placa con un filtro de 450nm.

8078 ISSUE 6 Revised August 2004 SPANISH

© 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