

Inmunoensayo enzimático por quimioluminiscencia para la cuantificación de Antígeno Gastrointestinal (CA19-9) en suero.

INTENCION DE USO

El Antígeno de carbohidrato 19-9 (CA19-9) de inmunoensayo de quimioluminiscencia (CLIA) kit para la determinación cuantitativa de CA19-9 en suero humano.

RESUMEN Y APLICACION

El CA19-9 es un antígeno de carbohidrato predominante asociado con trastornos gastrointestinales (GI) tumores malignos, carcinomas de páncreas, colorectal, gástrico y hepático. La principal aplicación de CA19-9 es en la gestión de páncreas diagnosticados de cáncer colorectal e Inmunoquímicos, Antígeno CA 19-9 es la forma del antígeno de grupo sanguíneo Lewis. Los estudios clínicos indican que los niveles de CA 19-9 ensayo se han encontrado elevada en el suero con los carcinomas de exocrinas páncreas, el colon y el recto, el estómago y el cáncer de pulmón. Se ha demostrado que un aumento persistente de CA19-9 puede ser indicativo de lo oculto metastásicos y / o enfermedad residual. Un valor de forma persistente, el aumento de CA19-9 puede estar asociada con progresión de la enfermedad maligna y la respuesta terapéutica pobre. A la disminución de CA19-9 del ensayo de valor puede ser indicativo de un pronóstico favorable y una buena respuesta al tratamiento. El aumento de suero CA19-9 también se han observado en pacientes con condiciones no malignas tales como la hepatitis, cirrosis, pancreatitis, y otros trastornos gastrointestinales. CA 19-9 concentración siempre deben interpretarse teniendo en cuenta los datos clínicos y otros no debe utilizarse como una prueba de detección del cáncer.

Un grupo de glicoproteínas Antígenos Sialosyl Lewis (SLA) como CA19-9 y CA19-s, han llegado a ser reconocidos como antígenos cancerígenos circulantes de cáncer gastrointestinal.

PRINCIPIO DEL ENSAYO

La prueba CA19-9 CLIA es un inmunoensayo sólido de dos posiciones. Un anticuerpo monoclonal cubre las superficie de los pocillos y otro anticuerpo monoclonal es etiquetado con peroxidada de equino el cual es usado como rastreador. Las moléculas de CA19-9 presentes en el estándar o el suero son emparejadas entre los dos anticuerpos. Siguiendo la formación del complejo anticuerpo recubierto-antígeno-anticuerpo-enzima. Las etiquetas desadheridas anticuerpo- enzima son removidas mediante el lavado. La peroxidada de equino adherido en los pocillos es analizado por reacciones quimioluminiscentes. La Unidad de Luz Relacionada (RLU) es proporcional a la concentración de CA19-9 presente en la muestra.

MATERIALES PROVISTOS

1. Microplaca recubierta con anticuerpos monoclonales para el antígeno carbohidrato 19-9 (anti-CA19-9 MAB) (1 placa, 96 pozos).
2. Diluyente de la muestra: (1 vial, 6.0 ml).
3. Reactivo conjugado enzima: (HRP) anticuerpo anti-CA19-9 en el MAB Buffer estabilización (1 vial, 11.0ml).
4. Estándares de Referencia: 0, 15, 30, 60, 120, y 240U/ml CA19-9 en el tampón de estabilización (6 viales) liofilizado.
5. Sustrato A: (1 vial, 6.0ml).
6. sustrato B: (1 vial, 6.0ml).

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO PROVISTOS

1. Agua destilada.
2. Pipetas de precisión 20µl-200 µl , 100µl-1000 µl (se recomienda el uso de puntillas desechables).
3. Luminómetro.
4. Mezclador Vórtex o Equivalente.
5. Lavador de Micropozos.
6. Papel absorbente o una toalla de papel.
7. Sueros para el control de calidad.
8. Incubadora.

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

1. Para uso diagnóstico in vitro solamente.
2. Para el manejo de reactivos, las muestras de suero deben estar de acuerdo con los procedimientos de seguridad local.
3. Los estándares contienen componentes de origen humano, que se han probado y no reaccionaron para el antígeno de superficie de hepatitis B, así como VIH. Todos los productos de origen animal y derivados han sido recogidos de animales sanos. Componentes de la especie bovina originarios de países en los que la EEB no ha sido reportada. Sin embargo, las normas y los componentes que contienen sustancias animales deben ser tratados como potencialmente infecciosos.
4. Evitar cualquier contacto de los reactivos con la piel.
5. No fumar, comer, beber o aplicar cosméticos en la zona de trabajo.
6. No pipetear con la boca. Se recomienda el uso de ropa protectora y guantes desechables.

RECOLECCION Y PREPARACION DE LA MUESTRA

1. El suero es el tipo de muestra recomendado para este ensayo. Las muestras de plasma recogidas en tubos que contienen EDTA, heparina u oxalato pueden interferir con los procedimientos de prueba y deben ser evitados.
2. Al tomar las muestras de sangre observar las precauciones universales para la venopunción.
3. Permita que las muestras se coagule durante 1 hora antes de la centrifugación.
4. Evite muestras excesivamente hemolíticas, lipémicas o turbias.
5. Antes de su utilización, las muestras deben ser protegidas y se almacenan hasta 48 horas a 2 ~ 8 °C. Durante más tiempo de almacenamiento, se recomienda la congelación de las muestras a -20 °C. Las muestras descongeladas deben mezclarse antes de la prueba

PREPARACION DEL REACTIVO

1. Todos los reactivos deben estar a temperatura ambiente (18 ~ 25 °C) antes de su uso.
2. Reconstituir cada estándar liofilizado con 0,5 ml de agua destilada. Deje el material reconstituido en reposo durante al menos 10 minutos. Los estándares reconstituidos deben ser almacenados sellado de 2 ~ 8 °C.

NOTAS IMPORTANTES

1. No utilizar los reactivos después de la fecha de caducidad. No mezclar o usar componentes de kits con diferentes números de lote.
2. Se recomienda que no más de 32 pozos se utilicen para cada ensayo, si es manual el pipeteado, ya que pipeteo de todas los estándares, muestras y controles deben ser completados dentro de los 5 minutos. Un plato lleno de 96 pozos puede ser utilizado si la pipeta es automática.
3. Vuelva a colocar las tapas de los reactivos inmediatamente. No cambie las tapas.
4. El procedimiento de lavado es crítico. Un lavado insuficiente producirá una mala precisión y resultados inválidos

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

1. Identifique el número de pozos. Dispense 50µl de diluyente de muestra en cada pocillo.
2. Dispense 50µl de CA19-9 estándares, muestras y controles en los pozos apropiados. Mezclar suavemente durante 30 segundos.
3. Se incuba a 37 °C durante 60 minutos.
4. Retire la mezcla de incubación al vaciar el contenido de la placa en un recipiente de residuos. Enjuagar y vaciar la microplaca 5 veces con Buffer de lavado. Golpee la placa fuertemente en papel absorbente para eliminar todas las gotas de agua residual.

- Dispense 100µl del reactivo de enzima conjugada en cada pocillo. Mezclar bien.
- Se incuba a 37 °C durante 60 minutos.
- Al final de la incubación, retirar el líquido y lavar los pocillos como se describe en el paso 4.
- Dispense 50µl del sustrato A, y 50µl de sustrato B en cada pocillo. Mezclar suavemente durante 10 segundos.
- Ponga la microplaca en la cámara de detección de Luminómetro durante 5 minutos, a continuación, lea el RLU.

ALMACENAMIENTO DE EQUIPO E INSTRUMENTACION

- Los Kits de prueba deben almacenarse a 2 ~ 8 °C. El equipo se puede utilizar a lo largo de la fecha de caducidad (12 meses a partir de la fecha de fabricación). Ver en la etiqueta del envase la fecha de vencimiento.
- Los Estándares reconstituidos deben ser usados dentro de 14 días y congelarse a -20 °C para el largo plazo de almacenamiento. Evitar su congelación y descongelación repetida. La microplaca después del primer uso debe mantenerse en una bolsa sellada con desecantes para minimizar la exposición a la humedad del aire. Otros componentes abiertos se mantendrán estables durante al menos dos meses, siempre que se almacena en la forma descrita anteriormente.

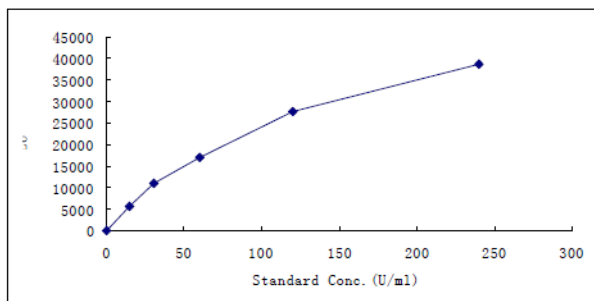
CALCULO DE RESULTADOS

- Calcule el valor medio de los reactivos duplicado. En su caso, los valores medios se deben utilizar para el trazado.
- El diagrama lineal papel cuadrículado el RLU (ordenadas) obtenidos a partir de cada estándar de referencia contra la concentración correspondiente de CA19-9 en U / ml (eje de abscisas) y dibujar una curva de calibración a través de los puntos de referencia estándar mediante la conexión de los puntos trazados con líneas rectas.
- Lea la concentración de cada control y la muestra por interpolación en la curva de calibración.
- La asistencia de la computadora simplifican y reducen los datos de estos cálculos. Si el proceso de resultado automático se utiliza un punto de ajuste de la curva de puntos de función se recomienda.
- Cualquier muestra diluida deben ser corregidos por el factor de dilución.

EJEMPLO DE CURVA ESTÁNDAR

Una curva típica estándar se muestra a continuación, es para fines de ilustración solamente.

CA19-9 (U/ml)	RLU
0	87.231
15	5827.615
30	10944.8
60	16983.9
120	27584.2
240	38732.65



VALORES DE REFERENCIA

Cada laboratorio debe establecer su propio rango normal. La siguiente información se da sólo para orientación. Aproximadamente el 95% de la población sana normal tiene CA19-9 niveles de menos de 35U/ml.

PERFORMANCE

1. Sensibilidad

El límite de detección se calcula a partir de la curva estándar mediante la identificación de la concentración correspondiente a la media de RLU diluyente estándar (basado en 10 análisis repetidos), además de SD 2. Por lo tanto, la sensibilidad de CA19-9 CLIA no es superior a 2,5 U / ml.

2. Especificidad

No se detectó interferencia con el desempeño de autobiografía CA19-9 con la adición de CLIA cantidades masivas de las siguientes sustancias a un pool de suero humano.

Interferents	Concentration
human albumin	100mg/ml
CEA	500ng/ml
CA125	400U/ml
CA15-3	500U/ml

LIMITACIONES

- Resultados confiables y reproducibles serán obtenidos cuando el procedimiento de ensayo se lleva a cabo con una comprensión completa del prospecto y con el cumplimiento de laboratorio la práctica.
- Anticuerpos heterófilos en el suero humano pueden reaccionar con el reactivo de inmunoglobulinas, lo que interfiere con ensayos de inmunidad in vitro. Los pacientes expuestos rutinariamente a los animales o productos de origen animal suero pueden ser propensos a esta interferencia por lo tanto los valores anómalos pueden ser observadas. Adicional información puede ser necesaria para el diagnóstico.
- Muestras de suero con lipemia, hemolisis o turbidez no debe ser utilizado con esta prueba.
- Para el diagnóstico, los resultados obtenidos con esta prueba se debe utilizar siempre en junto con el examen clínico, la historia médica del paciente, y otros hallazgos.

CONTROL DE CALIDAD

Buenas prácticas de laboratorio requiere que las muestras de control de calidad deben procesarse con cada curva de calibración para verificar el rendimiento del ensayo. Para asegurar el funcionamiento adecuado, un número estadísticamente significativo de los controles deben ser analizados para establecer los valores medios y rangos aceptables. Controles que contengan ácido de sodio no debe ser utilizado.

REFERENCIAS

- Glenn, J., Steinberg, W.M., Kurtzman, S.H., et al. Evaluation of the utility of a radioimmunoassay for serum CA 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, M., Steplewski, Z., et al. Specific antigen in serum of patients with colon carcinoma. Science 1981; 212:53-5.
- Malesci, A., Tommasini, M.A., Bonato, C. et al. Determination of CA19-9 antigen in serum and pancreatic juice for differential diagnosis of pancreatic adenocarcinoma from chronic pancreatitis. Gastroenterology 1987; 92:60-

Distribuido por:
Grupo Industrial MexLab S.A. de C.V.
01800-111-4343
www.grupomexlab.com

Rev. 03-2018