

**INDICACIONES DE USO**

Para la detección cualitativa del antígeno de cáncer ovárico en suero humano.

Agente de diagnóstico in vitro, para uso exclusivo de laboratorio clínico o de gabinete.

**RESUMEN Y APLICACIÓN**

El equipo de Inmunoensayo CA-125 ELISA tiene como finalidad primaria el monitoreo como una prueba de evaluación. En resultados anormales (por ejemplo, suero cubierto con niveles de CA-125) se puede indicar cáncer ovárico y sugiere la necesidad de un estudio más profundo. El suero CA-125 parece ser un buen marcador tumoral en pacientes con remisión clínica siguiendo un tratamiento. Los valores post-operarios del suero CA-125 que fallan y no regresan a valores normales, sugieren fuertemente la presencia de tumor residual. Los tumores recurrentes son frecuentemente acompañados por un incremento en niveles de CA-125 antes que una enfermedad progresiva sea clínicamente evidente.

Una de cada 70 mujeres americanas desarrolla cáncer ovárico en su vida. Se estima que hay aproximadamente 20,000 nuevos casos en cáncer ovárico diagnosticada cada año y más de 12,000 mujeres mueren cada año por esa causa. El cáncer ovárico es el más maligno de los cánceres ginecológicos con una tasa de supervivencia de tan solo 30% a lo largo de 5 años. Lo anterior es debido a que no es diagnosticado hasta una fase muy avanzada. El cáncer antígeno CA-125 es un antígeno superficie asociado con cáncer ovárico epitelial. En suero, el CA-125 está asociado con un peso molecular mayor a la glicoproteína. Las concentraciones de suero de este marcador tumoral pueden ser detectadas y medidas con un anticuerpo monoclonal. Estudios publicados han indicado que niveles elevados de CA-125 pueden ser encontrados en individuos con problemas serios endometroidales, ciertos males no ginecólogos y algunas condiciones no malignas. La concentración del suero CA-125 es mayor a 35 unidades por ml en aproximadamente el 60% de mujeres con cáncer ovárico.

Más del 80% de los pacientes que tienen cáncer ovárico diseminado tienen concentraciones de suero CA-125 mayores a 35 unidades por ml. El suero CA-125 es elevado en 1% por arriba de las mujeres normales, 3% de las mujeres sanas con indicios de problemas ováricos, 6% de pacientes con condiciones No neoplásticas (incluido pero no limitado para el primer trimestre de embarazo, menstruación, endometriosis, fibrosis uterinas, salpingitis aguda, enfermedades hepáticas e inflamación del peritoneo pericardio o pleura). Niveles de suero de CA-125 mayores a 35 unidades por ml combinado con un examen pélvico incrementan la especificidad. Determinaciones seriales de suero CA-125 incrementan la posibilidad de predicción del problema. Las concentraciones de suero CA-125 pueden ser asociadas con aumento progresivo del problema y pobre respuesta terapéutica. Por otra parte una disminución de los niveles puede ser interpretada como un aspecto favorable al tratamiento. En el 95% de los casos se confirma reincidencia de los pacientes con niveles por arriba de 35 unidades por ml. Sin embargo, los resultados negativos no necesariamente excluyen el problema. Actualmente CA-125 es el marcador residual más sensible de cáncer ovárico epitelial. CA-125 puede ser también elevado en pacientes con cáncer cervical, uterino en el tubo falopiano o con endometriosis.

**DESCRIPCION**

La prueba cuantitativa de CA-125 está basada en un ensayo Inmunoabsorbente vinculado a las enzimas de fase sólida. (ELISA)

El sistema de ensayo utiliza un anticuerpo anti-CA-125 para la inmovilización de la fase sólida (pozos de micro valoración) y otro anticuerpo anti-CA-125 monoclonal de ratón en la solución de conjugado (peroxidasa de rábano picante) de enzima anticuerpo.

La muestra de prueba es permitida reaccionar simultáneamente con anticuerpos causando que las moléculas de CA-125 se encuentren entre la fase sólida y los anticuerpos vinculados a las enzimas

Después de una incubación de 180 minutos a 37° C, los pozos son lavados con agua para remover los anticuerpos etiquetados no adheridos. Una solución de TMB es agregada e incubada a temperatura ambiente por 20 minutos, provocando el desarrollo de un color azul. El desarrollo del color es frenado con la adición de 2N HCl, y el color es cambiado a amarillo y medido espectrofotométricamente a 450nm. La concentración de CA-125 es directamente proporcional a la intensidad del color de la muestra de prueba.

**ALMACENAMIENTO Y SUSTENTABILIDAD**

Almacene el equipo a una temperatura de entre 2°C - 8°C, mantenga las tiras de pocillos selladas en la bolsa de aluminio. Todos los compuestos son estables hasta su fecha de expiración siempre y cuando las condiciones de almacenaje sean estrictamente llevadas a cabo como aquí se indica.

**MATERIALES SUMINISTRADOS**

Material	96 pruebas
1. Placa con 96 pozos.	1
2. 6 Viales estandares (0, 15, 50, 100, 200, 400 U/ml)	0.5 ml.
3. Enzima conjugada	12 ml.
4. Solucion TMB 1 vial	12 ml.
5. Solucion de frenado 1 vial	12 ml.
6. Solucion de lavado concentrado 20X, 1 vial	25 ml.

**MATERIALES ADICIONALES NO SUMINISTRADOS**

1. Pipetas de precisión.
2. Agua destilada.
3. Puntas de pipeta desechables.
4. Mezclador Vórtex o equivalente.
5. Papel absorbente o toalla de papel.
6. Lector Microelisas con lente a 450 nm de longitud de onda con banda de amplitud de 10nm o menor y un rango de densidad óptica de 0-2 OD o mayor.
7. Papel cuadriculado.

**ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES**

1. La sangre deberá ser extraída utilizando técnicas de venopunción estándares y el suero deberá ser separado de las células rojas lo antes posible. Evite el uso de muestras hemolíticas, lipémicas o turbias.
2. Las muestras de plasma recolectadas en tubos conteniendo EDTA, heparina u oxalato pueden interferir con los procedimientos de la prueba y deberán ser evitados.
3. Las muestras deberán ser tapadas y almacenadas hasta por 48 horas entre 2-8°C antes de su uso. En caso de que dicho lapso se prolongue, deberán ser congeladas a -20°C. Mezcle las muestras reconstituidas antes de su uso.

**PREPARACIÓN DEL REACTIVO**

Preparar e buffer de lavado a 1x adicionando los reactivos siguientes a la botella: (25 ml, 20x) a 475 ml de agua destilada o desionizada. Almacenar a temperatura ambiente.

## PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

1. Asegure el número deseado de pozos cubiertos en el soporte. Vierta 50 µl de estándar, especímenes y controles en los pozos apropiados. Mezcle por 10 seg.
2. Vierta 100 µl de Enzima Conjugada en cada pozo. Mezcle ligeramente por 30 segundos. Es muy importante tener un mezclado completo en este paso.
3. Incube a temperatura ambiente por 60 minutos
4. Retire la mezcla de incubación con un movimiento repentino los contenidos de la placa en el fregadero.
5. Enjuague y sacuda con movimientos repentinos los pozos de micro valoración 3 veces con solución de lavado (300 µl a 1x). Golpéelos pozos sobre el papel absorbente o toallas de papel para remover todas las gotas de agua residuales.
6. Vierta 100 µl de solución TMB en cada pozo. Mezcle suavemente por 10 segundos. Incube a temperatura ambiente en la oscuridad por 15 minutos.
7. Frene la reacción al agregar 50 µl de solución de frenado a cada pozo.
8. Mezcle ligeramente por 10 segundos. **Es importante asegurarse que todo el color azul cambie a color amarillo totalmente.**
9. Lea la densidad óptica a 450nm con un lector Micro Elisa dentro de un plazo menor a 15 minutos.

EL PUNTO DE LAVADO DE MICROPOZOS ES CRÍTICO YA QUE UN POBRE LAVADO DARA COMO RESULTADO IMPRECISIÓN O LECTURA ELEVADA FALSA DE LA PRUEBA.

Se recomienda que no se utilicen más de 32 micropozos en cada corrida ya que el pipeteado manual debe completarse en tan solo 5 minutos. Utilice la placa completa solo si hace pipeteado automático.

## CÁLCULO DE RESULTADOS

Calcule los valores de absorbancia promedio (A450) para cada juego de estándares de referencia, control y muestras.

Elabore una curva estándar al trazar la absorbancia media obtenida de cada estándar de referencia comparada con su concentración en unidades/ml sobre papel cuadrícula, con valores de absorbancia sobre el eje Y o vertical y las concentraciones sobre el eje X u horizontal.

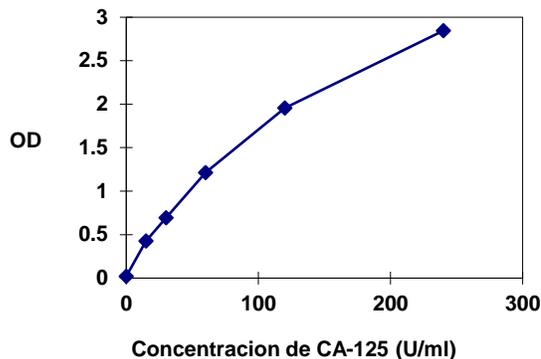
Utilizando el valor de absorbancia media para cada muestra, determine la concentración correspondiente de CA-125 en unidades por ml, desde la curva estándar.

## EJEMPLO DE CURVA ESTÁNDAR

Los resultados de una corrida estándar típica con lecturas de densidad óptica a 450nm mostradas en el eje Y contra las concentraciones de prolactina mostradas en el eje X. Esta curva estándar es con el propósito de ilustrar solamente, y no debe ser utilizada para hacer cálculos desconocidos. Cada usuario debe obtener sus propios datos y curva estándar en cada experimento.

CA-125 (U/ml)	Absorbancia (450nm)
0	0.010
15	0.105
50	0.347
100	0.703
200	1.411
400	2.437

El propósito de la presente curva estándar es únicamente con fines ilustrativos y no deberá utilizarse para cálculos de datos desconocidos. Cada usuario deberá obtener sus propias curvas estándar y sus datos.



## EXPECTATIVA EVALUADA Y SENSIBILIDAD

Se espera que mujeres sanas tengan valores de CA-125 por debajo de 35 U/ml. La concentración mínima detectable de CA-125 se estima que sea 5 U/ml.

## REFERENCIAS

1. Kenemans P, Yedema CA, Bon GG, von Mensdorff-Pouilly S. CA 125 in Gynecological pathology a review. Eur Obstet Gynecol.
2. Sakesla F. Prognostic markers in epithelial ovarian cancer. Intl J. Gynecol Pathol 1993; 12; 156-161.
3. Farghaly SA. Tumor markers in Gynecologic cancer. Gynecol and Obstet Invest 1992; 34:65-72
4. Welander CE. What do CA 125 and other antigens tell us about ovarian cancer biology. Acta Obstet Gynecol scand Sup. 1992; 155:86-93
5. Mc Gozan L. Pathology of the ovary. Curr Opin on Obstet Gynecol 1991; 3:580-586
6. Niloff JM. Ovarian Pathology of the Ovary. Curr Opin on Obstet Gynecol 1991; 3:580-586
7. Olt G, Berchuck A, Bast RC. The role of tumor markers in gynecologic oncology. Obstet Gynecol Survey 1990; 45:570-577
8. Diez M, Cerdan FJ, Ortega MD, Torres A, Picardo A, Balibrea JL. Evaluation of serum CA-125 as a tumor marker in non-small cell lung cancer. 1991; 67: 150-154.
9. Niloff JM, Klug TL, Schatzel E. Elevation of serum CA-125 in carcinomas of the fallopian tube, endometrium, and endocervix. AM J. Obstet Gynecol 1984; 148: 1057