

## **INTENCIÓN DE USO**

El antígeno de cáncer 125 (CA-125) inmunoensayo de Quimioluminiscencia (CLIA) está diseñado para la determinación cuantitativa de la concentración de CA-125 en suero humano.

## **RESUMEN Y APLICACIÓN**

Una de cada 70 Mujeres en los Estados Unidos desarrollara cáncer ovárico durante su vida. Hay aproximadamente 20,000 nuevos casos cada año de cáncer ovárico diagnosticado y más de 12,000 mujeres mueren cada año debido a este. El cáncer ovárico es el cáncer más maligno de los de tipo ginecológico, con una supervivencia mayor de 5 años solo en un 30% debido a que el diagnóstico es frecuentemente hecho hasta que este se encuentra en una etapa avanzada. El antígeno canceroso 125 (CA-125) es un antígeno superficial asociado con cáncer ovárico epitelial. En suero el CA-125 está asociado con una glicoproteína con alto peso molecular. Las concentraciones séricas de este marcador tumoral pueden ser detectadas y medidas por un anticuerpo monoclonal. Estudios publicados han demostrado que niveles elevados de CA-125 sérico pueden ser encontrados en pacientes con serio carcinoma ovárico no identificado. Niveles más elevados de lo normal de CA-125 sérico también pueden ser encontrados en pacientes con adenocarcinoma del endometrio de la trompa de Falopio, con algunas presencias malignas no ginecológicas y algunas condiciones no malignas.

La concentración de CA-125 sérico es mayor a 35 unidades por ml en un 60% de las mujeres con cáncer ovárico. Más del 80% de las mujeres con cáncer ovárico diseminado tienen concentraciones mayores por ml. El CA-125 sérico se encuentra elevado en el 1% de las mujeres sanas, 3% de mujeres sanas con enfermedades ováricas benignas, 6% de pacientes con condiciones no neoplastias (incluyendo pero no limitados al primer trimestre de embarazo, menstruación, endometriosis, fibrosis uterina, salpingitis aguda, enfermedades hepáticas e inflamación del peritoneo, pericardio o pleura). Niveles elevados de CA-125 arriba de 35 unidades por ml combinado con examinación pélvica incrementan lo específico del examen. Determinaciones periódicas de CA-125 sérica aumentan las posibilidades de la predicción positiva de cáncer ovárico. La concentración de CA-125 sérica puede ser útil en el monitoreo de pacientes con cáncer ovárico diagnosticado. Valores altos persistentes de CA-125 sérica pueden ser indicativos de una enfermedad maligna progresiva y poca respuesta a los tratamientos, por el otro lado niveles en descenso parecen ser indicativos de un pronóstico favorable y de una buena respuesta al tratamiento. La enfermedad residual se confirma en el 95% de los pacientes con niveles de CA-125 mayores a 35 unidades por ml. Sin embargo, los resultados negativos no necesariamente excluyen la enfermedad. A la fecha el CA-125 es el marcador más sensible para cáncer ovárico epitelial residual. El CA-125 también puede estar elevado en pacientes con cáncer de pulmón, trompas de Falopio y uterino y endometriosis.

## **PRINCIPIO DEL ENSAYO**

El kit de CA-125 CLIA se basa en un "sándwich" en fase sólida enzima-inmunoensayo. El sistema de ensayo utiliza un anticuerpo monoclonal CA-125 para la fase sólida (pocillos de microtitulación) inmovilizados y otro anticuerpo monoclonal anti-CA-125 como anticuerpo-enzima (rábano picante peroxidasa) reactivo de conjugado. CA-125 de los estándares o en las muestras del paciente se une a lucha contra el CA-125 MAB y el anti-CA-125 segundo anticuerpo se une a CA-125. Las proteínas no unidas de HRP se eliminan por lavado. Tras la adición del sustrato, peroxidasa en los pozos es entonces analizada por una reacción de Quimioluminiscencia. La Unidad de Luz Relacionada (RLU) de la reacción es proporcional a la concentración de CA-125 presente en la de la muestra.

## **MATERIALES SUMINISTRADOS**

1. Pozos recubiertos: microplaca recubiertas con anticuerpos monoclonales contra el antígeno del cáncer 125 (anti-CA-125)
2. MAB) (1 placa, 96 pozos)
3. Reactivo Enzima Conjugado: peroxidasa de rábano picante (HRP) anticuerpo anti-CA-125 MAB en la estabilización de
4. Buffer (1 vial, 6.0 ml)
5. Estándares de Referencia: 0, 15, 50, 100, 200 y 400 U/ml CA-125 (6 viales, 0.5ml/ea)
6. Sustrato A (1 vial, 6.0 ml)
7. Sustrato B (1 vial, 6.0 ml)

## **MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SUMINISTRADOS**

1. Agua destilada
2. Pipetas de precisión de 20-200 µl (se recomienda el uso de pipetas desechables)
3. Luminómetro
4. Vórtex mezclador o equivalente
5. Lavadora de microplaca
6. Muestras de control de calidad
7. Incubadora.
8. Papel absorbente.

## **ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES**

1. Para uso diagnóstico in vitro solamente.
2. 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 reaccionan para el antígeno de superficie de hepatitis B, así como para VIH. Todos los productos de origen animal y derivados han sido recogidos de animales sanos. Componentes de especie bovina originarios de países en los que la EEB no ha sido reportada. Sin embargo, los estándares 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 el área de trabajo. No pipetear con la boca. Use ropa protectora y guantes desechables.

## **RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA**

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

## **PREPARACIÓN DEL REACTIVO**

1. Todos los reactivos deben estar a temperatura ambiente (18 – 25°C) antes de su uso.

## **NOTAS IMPORTANTES**

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

## **PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO**

1. Asegure el número deseado de pozos cubiertos en el soporte. Dispense 50 µl de estándares, de CA-125 muestras y controles en los micropozos apropiados.
2. Dispense 50 µl de reactivo de enzima conjugada en cada pocillo. Mezclar suavemente durante 30 segundos.
3. Incubar a 37 ° C durante 60 minutos.
4. Al final de la incubación, elimine la mezcla de incubación deseche en un contenedor de residuos. Enjuague y vaciar la microplaca 5 veces con agua destilada. Golpee de los micropozos fuertemente sobre papel absorbente o toallas de papel para eliminar las gotas de agua residual
5. El volumen del pozo es de 300 µl.

- Dispense 50 µl del sustrato A, y 50 µl de sustrato B en cada pocillo. Mezclar suavemente durante 10 segundos.
- Ponga la microplaca en la cámara de detección del Luminómetro durante 5 minutos, a continuación, lea el RLU.

#### ALMACENAMIENTO DE EQUIPO E INSTRUMENTACION

- El equipo CLIA deben almacenarse a 2 – 8°C. El equipo de prueba 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 deben almacenarse de 2 - 8 °C. Los estándares una vez abiertos se deben utilizar dentro de 30 días y se congela a -20°C para el almacenamiento a largo plazo. Evitar la congelación y descongelación de los Estándares. La Microplaca después del primer uso debe guardarse en su bolsa sellada con desecantes para minimizar la exposición a la humedad del aire. Otros componentes abiertos se mantienen estables por lo menos 2 meses, siempre que se almacena en forma descrita anteriormente.

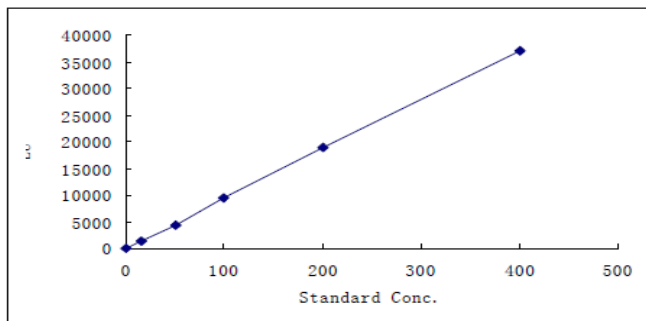
#### CÁLCULO DE RESULTADOS

- Calcule el valor medio de los reactivos duplicado. En su caso, los valores medios se deben utilizar para el trazado.
- El diagrama lineal papel cuadrado el RLU (ordenadas) obtenidos a partir de cada estándar de referencia contra él la correspondiente concentración de CA-125 en U / ml (eje de abscisas) y trazar 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 simplifica 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 debe ser corregida por el factor de dilución.

#### EJEMPLO DE CURVA ESTÁNDAR

Una curva típica estándar se muestra a continuación es para fines de ilustración solamente, y nunca debe ser en lugar de la curva de calibración de la hora real.

CA125 (U/ml)	RLU
0	36.0
15	1326.7
50	4341.4
100	9499.5
200	18964.1
400	36989.7



#### VALORES DE REFERENCIA

Se espera que las personas sanas tengan valores en el ensayo de CA125 por debajo de las 35 U/ml. El mínimo detectado de CA125 por esta prueba está estimado en **1.0 U/ml**.

#### PERFORMANCE

##### 1. Sensibilidad:

El límite de detección se calcula a partir de la curva estándar mediante la determinación del resultado concentración de la RLU media de diluyente estándar (basado en 10 análisis repetidos), además de SD 2. Por lo tanto, la sensibilidad de la autobiografía CA125 CLIA no es superior a 2,5 U/ ml.

#### 2. Especificidad:

No se detectó interferencia con el desempeño de CA-125 CLIA con la adición de cantidades masivas de las siguientes sustancias a un pool de suero humano.

Interferents	Concentration
Human Albumin	100mg/ml
AFP	500ng/ml
CEA	500ng/ml

#### 3. Precisión:

La precisión Intra-ensayo se determinó analizando 20 repeticiones de cada uno de los sueros de control.

Suero	Número	Media	SD	CV (%)
Titulo bajo	20	34.26	2.21	6.45
Titulo alto	20	130.59	5.26	4.03

Inter-ensayo de precisión se determinó analizando duplicados de cada uno de los sueros de control en 10 carreras por separado.

Suero	Número	Media	SD	CV (%)
Titulo bajo	20	34.14	2.32	6.42
Titulo alto	20	133.75	6.67	4.99

#### 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 que 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.

#### REFERENCIAS

- Kenemans P, Yedema CA, Bon GG, von Mensdorff-Pouilly S. Ca125 in gynecological pathology a review. Eur J Obstet Gynecol 1993; 49:115-124.3.Saksela F.
- Prognostic markers in epithelial ovarian cancer. Intl J Gynecol Pathol 1993; 12:156-161. 3. Farghaly SA. Tumor markers in gynecologic cancer. Gynecol & Obstet Invest 1992; 34:65-72. Welander CE. What do CA 125 and other antigens tell us about ovarian cancer biology.
- Acta Obstet Gynecol Scand Sup 1992; 155:85-93. McGowan L. Pathology of the ovary. Curr Opin on Obstet Gynecol 1991; 3:580-586. Niloff JM. Ovarian malignancy. Curr Opin on Obstet Gynecol 1991; 3:66-72. Olt G, Berchuck A, Bast RC.
- The role of tumor markers in gynecologic oncology. Obstet Gynecol Survey 1990; 45:570-577 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.
- Cancer 1991; 67:150-154. Niloff JM, Klug TL, Schaetzel E. Elevation of serum CA-125 in carcinomas of the fallopian tube, endometrium, and endocervix. AM J. Obstet Gynecol 1984; 148:1057