



ES

EIA CanAg CA125

REF

400-10

IVD

CE

Instrucciones de uso. 2010-07

EN	EXPLANATION OF SYMBOLS
BG	ОБЯСНЕНИЕ НА СИМВОЛИТЕ
CS	VÝZNAM SYMBOLŮ
DA	SYMBOLFORKLARING
DE	ERKLÄRUNG DER SYMBOLE
EL	ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ ΤΩΝ ΣΥΜΒΟΛΩΝ
ES	SIGNIFICADO DE LOS SÍMBOLOS
ET	SÜMBOLITE SELGITUS
FR	EXPLICATION DES SYMBOLES
HR	OBJAŠNJENJE SIMBOLA
HU	JELMAGYARÁZAT
IT	SPIEGAZIONE DEI SIMBOLI
LT	SIMBOLIŲ PAAIŠKINIMAI
LV	SIMBOLU SKAIDROJUMS
NL	VERKLARING DER SYMBOLEN
NO	SYMBOLFORKLARING
PL	OBJAŚNIENIE SYMBOLI
PT	EXPLICAÇÃO DOS SÍMBOLOS
RO	SEMNIȚAȚIA SIMBOLURILOR
RU	ОБОЗНАЧЕНИЯ
SE	SYMBOLFÖRKLARING
SK	VÝZNAM SYMBOLOV
SL	RAZLAGA SIMBOLOV
SR	OBJAŠNJENJE SIMBOLA
TR	SEMBOLLERİN AÇIKLAMALARI



Use By/Годно до/Použitelné do/
Holdbar til/Verwendbar bis/
Ημερομηνία λήξης/Fecha
de caducidad/Kölblük kuni/
Utiliser jusque/Rok valjanosti/
Felhasználható/Utilizzare entro/
Sunautoti iki/Izlietot līdz/Houdbaar
tot/Brukes innen/Użyç przed/
Prazo de validade/Expirã la/
Использовать до/Använd före/
Použite né do/ Uporabno do/
Upotrebljivo do/Son Kullanna Tarihi

LOT

Batch code/Номер на партида/
Číslo šarže/Lotnummer/
Chargenbezeichnung/Αριθμός
Παρτίδας/Código de lote/Partii
kood/Code du lot/Kod serije/
Sarzsám/Codice del lotto/
Partijos kodus/Partijas kods/Lot
nummer/Partikode/Kod partii/
Código do lote/Număr de lot/
Номер лота/Lotnummer/Číslo
šarže/Številka serije/Kod partije/
Parti Kodu



Date of manufacture/Дата на производство/Datum výroby/
Produktionsdato/Herstellungsdatum/
Ημερομηνία παραγωγής/Fecha de fabricación/
Valmistamise kuupäev/
Date de fabrication/Datum proizvodnje/
Gyártási idő/Data di produzione/
Pagaminimo data/Ražošanas datums/
Productiedatum/Fremstillingsdato/
Data produkcji/Data de fabrico/Data fabricației/Дата производства/
Tillverkningsdatum/Dátum výroby/Datum izdelave/Datum proizvodnje/Úretim tarihi



Temperature limitation/
Температурни граници/
Teplotní omezení/
Temperaturbegrensning/
Temperaturbegrenzung/
Περιορισμοί θερμοκρασίας/
Limites de temperatura/
Temperatuuri piirang/
Limite de température/
Temperaturno ograničenje/
Hőmérsékletre vonatkozó korlátozás/
Limiti di temperatura/
Temperatūriņa ierobežojumi/
Temperatūras ierobežojums/
Temperaturbepërking/
Temperaturbegrensninger/
Temperatury graniczne/
Limite de temperatura/
Limite de temperatură/
Температурный режим/
Temperaturbegränsning/
Teplotné obmedzenie
Omejitve temperature/
Temperaturno ograničenje/
Sıcaklık sinirlaması/

IVD

In Vitro Diagnostic Medical Device/
Медицински уред за диагностика
ин витро/Лéкаřský přístroj pro
diagnostiku in vitro/Medicinsk udstyr til
in vitro-diagnostik/In-vitro-Diagnostikum/
Ιατροτεχνολογικό προϊόν για διάγνωση
In Vitro/Dispositivo médico para
diagnóstico in vitro/In vitro diagnostiline
meditsiiniseade/Dispositif médical
de diagnostic in vitro/Diagnostički
medicinski uređaj In Vitro/In vitro
orvosdiagnostikai eszköz/Dispositivo
medico per test diagnostici in vitro/In
Vitro Diagnostinė Medicinos Priemonė/
Medicinska ierīce in vitro diagnostikai/
In vitro-diagnostisch medisch instrument/
In vitro diagnostisk medisinsk utstyr/
Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro/
Dispositivo Médico de Diagnóstico In
Vitro/Dispozitiv medical pentru diagnostic
in vitro/Только для диагностики In
Vitro/Endast för in vitro-diagnostik/
Zdravotnicka pomôcka na diagnostiku in
vitro/In vitro diagnostični pripomoček/
Diagnostički medicinski uređaj In
Vitro/<96> testleri için yeterlilik içerir



Contains sufficient for <96> tests/Съдържа
достатъчно количество за тестове
<96>/Lze použít pro <96> testů/Ineholder
tilstrækkeligt/Inhalt ausreichend für <96>
Prüfungen/Περιεχόμενο επαρκές για
«96» εξετάσεις/Contenido suficiente para
<96> ensayos/Kogusest piisab <96> testi
läbiviimiseks/Contenu suffisant pour «96»
tests/Sadržaj dovoljno za <96> testova/A
doboz tartalma <96> vizsgálat elvégzéséhez
elegendő/Contenuto sufficiente per «96»
saggi/Turinys skirtas atlikti <96> tyrimus/
Saturis pietiekams <96> testiem/Inhoud
voldoende voor «96» testen/til «96» test/
Tilstrækkelig innhold for <96> prøver/
Wystarczy na wykonanie <96> testów/
Conteúdo suficiente para «96» ensaios/
Conținut suficient pentru 96 de teste/
Содержит достаточные количества для
«96» определений/Innehåller tillräckligt
till «96» antal tester/Obsah postačuje na
tento počet testov: <96>/Vsebinsa zadostuje
za <96> testov/Sadržina dovoljna za <96>
testova/<96> testleri için yeterlilik içerir

REF

Catalogue number/Каталожен номер/
Katalogové číslo/Katalognummer/
Bestellnummer/Αριθμός καταλόγου/
Número de catálogo/Katalogi number/
Numéro de catalogue/Katalogi broj/
Katalogusszám/Numero di catalogo/
Katalogo numeris/Numurs katalogā/
Catalogusnummer/Katalognummer/
Numer katalogowy/Número do catálogo/
Număr de catalog/Номер по катаноры/
Produktnummer/Katalogové číslo/
Kataloška številka/Kataloški broj/
Katalog numarası



Consult Instructions for Use/
Прочетете инструкцията за
употреба/Konzultujte s návodom
k použití/Se brugsanvisning/Siehe
Gebrauchsanweisung/Συμβουλευτείτε
τις Οδηγίες σχετικά με τη χρήση/
Consulte las instrucciones de uso/
Vt kasutusjuhendit/Consulte le mode
d'emploi/Pročítajte upute za uporabu/
Olvassa el a használati utasítást/
Consultare le istruzioni per l'uso/Dél
naudojimo žiūrėkite instrukcijas/Izlasiet
lietošanas instrukciju/Raadpleeg de
instructies voor gebruik/Les instruksene
før bruk/Sprawdźić w instrukcji użycia/
Consulte as Instruções de Utilização/
Consultați instrucțiunile de utilizare/
Обратитесь к инструкции по
применению/Se bruksanvisning/
Prečítajte si návod na používanie/
Pročitajte uputstvo za upotrebu/
Kullanım Talimatlarını Bakınız

CONT

Contents of kit/Съдържание на набора/
Obsah sady/Kittets indhold/Inhalt des
Kits/Περιεχόμενα του κιτ/Contenido
del kit/Komplekt sisaldab/Contenu du
kit/Sadržaj opreme/A készlet tartalma/
Contenido del kit/Rinkinio turinys/
Komplekta saturs/Inhoud van de set/
Settets innhold/Zawartość zestawu/
Conteúdo do kit/Conținutul setului/
Компоненты набора/Kit innehåll/
Obsah súpravy/Vsebina kompleta/Sadržaj
opreme/Kitin içindekiler



Biological risks/Биологическа
опасност/Biologická rizika/Biologisk
fare/Biologische Gefahren/Βιολογικοί
κίνδυνοι/Riesgos biológicos/
Bioloogilised ohud/Risques biologiques/
Biološkli rizici/Biológiai kockázatok/Rischi
biologici/Biologinis pavojus/Biološkiskais
risks/Biologische risico's/Biologiske
risikoer/Zagroženie biologické/Riscos
biológicos/ Biologisk risk/Pericole
biologice/Биологическая опасность/
Biologicky rizikové/Biologické riziká/
Biološkli rizici/Biyojok riskler

ORIG HUM

Human/C човешки произход/Lidské/
Human/Human/ἄνθρωπος αναφοράς/
Humano/Inimāritolu/Humaine/Ljudskog
porjekla/Human/Origine Umana/
Žmogaus kilmės/Cilvēku izcelsmes/
Human/Menneske/Ludzka/Humano/
Origine umână/Человеческого
происхождения/Human/Ludské/
Humanega izvora/Ljudskog porekla/İnsan

ORIG MOU

From mouse/C миши произход/Myši/
Fra mus/der Maus/απο ποντίκι/de ratón/
Hiirtelt/De souris/Mišijeg porjekla/
Egérbóli/Murino/Pelės kilmės/No peles/
Van muizen/Fra mus/Mysia/Do rato/De
la șoareci/Мышиного происхождения/
Från mus/Myšie/Mišjega izvora/Mišijeg
porekla/Fareden

ORIG BOV

Bovine/C говежди произход/Hovézi/
Bovin/Rind/από βοειδής/Bovino/
Veistelt/Bovine/Rogate stoke/Szarvas-
marha/Bovino/Jaučio/No liellopa/
Bovien/Bovin/Wołowy/Bovino/Origine
boviná/kрупного рогатого скота/Från
ko/Hovädzie/Govejega izvora/Rogate
krupne stoke/Bovin



Reconstitute with/Разтваряне с/
Rozfedte pomocí/Rekonstitueres med/
Rekonstituieren mit/Ανασύσταση με/
Reconstituir con/Lahjendamine/
Reconstituer avec/Rekonstituiraite s/
Feloldáshoz/Ricostituire con/Atkurti,
ištirpdant su/Atšķaidīt ar/Reconstitutie
met/Rekonstitueres med/Odtworzyć
za pomocą/Reconstituir com/A
se reconstitui cu/Разтворит в/
Rekonstituera med/Rozfedte pomocou/
Rekonstituiraite z/s/Ponovno formiranje
sa/Yeniden oluşturalur



Manufacturer/Производител/Výrobce/
Producent/Hersteller/Κτασκευαστής/
Fabricante/Tootja/Fabricant/Proizvođač/
Gyártó/Fabricante/Gamintojas/
Ražotājs/Fabrikant/Produsent/
Producent/Fabricante/Producător/
Производитель/Tilverkare/ Výrobca/
Izdelovalec/Proizvođač/Üretici

CanAg CA125 EIA

Instrucciones de uso

Kit de ensayo inmunométrico enzimático
Para 96 determinaciones

USO PREVISTO

El kit EIA CanAg CA125 está destinado a la determinación cuantitativa del antígeno asociado al cáncer CA125 en suero.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DEL ENSAYO

El antígeno CA125 es una glucoproteína mucinoide de alto peso molecular, definida originalmente por el anticuerpo monoclonal (MAb) Oc125 establecido por Bast y cols. (1). Se han empleado diferentes epitopos, coexpresados con el epitopo Oc125 en el antígeno CA125, para el desarrollo de ensayos heterólogos para la determinación del antígeno CA125 (2). El EIA CanAg CA125 se basa en dos anticuerpos monoclonales de ratón, Ov197 y Ov185, dirigidos contra dos epitopos independientes del núcleo proteico del antígeno CA125 (3, 4).

La determinación de CA125 se emplea con frecuencia en el seguimiento de pacientes con neoplasias malignas ginecológicas, como el cáncer ovárico epidermoide (5).

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El EIA CanAg CA125 es un inmunoensayo en fase sólida, no competitivo, basado en la técnica de sándwich directa. Los calibradores, los controles y las muestras del paciente se incuban junto con el anticuerpo monoclonal (MAb) Ov197 anti-CA125 biotinilado (derivado de ratón) en microtiras revestidas con estreptavidina. El CA125 presente en los calibradores o muestras es adsorbido en las microtiras revestidas con estreptavidina por el MAb anti-CA125 biotinilado durante la incubación. A continuación, las tiras se lavan e incuban con el MAb Ov185 anti-CA125 marcado con HRP. Después del lavado, se añade reactivo tamponado sustrato/cromógeno (peróxido de hidrógeno y 3, 3', 5, 5'-tetrametilbenzidina) a cada pocillo y se deja que se produzca la reacción enzimática. Si hay antígeno, durante la reacción enzimática se desarrollará un color azul. La intensidad del color es proporcional a la cantidad de CA125 presente en las muestras.

La intensidad del color se determina en un espectrofotómetro de microplacas a 620 nm (o bien a 405 nm tras la adición de solución de parada).

Se construyen curvas de calibración para cada ensayo representando el valor de absorbancia frente a la concentración de cada calibrador. Finalmente, se leen las concentraciones de CA125 de las muestras de los pacientes a partir de la curva de calibración.

REACTIVOS

- Cada kit EIA CanAg CA125 contiene reactivos para 96 determinaciones.
- La fecha de caducidad del kit viene indicada en la etiqueta de la parte externa de la caja.
- No use el kit después de la fecha de caducidad.
- No mezcle reactivos de diferentes lotes de kits.
- Conserve el kit a una temperatura de 2 °C a 8 °C. No lo congele.
- La estabilidad de los reactivos abiertos se resume en la tabla siguiente, siempre que no estén contaminados, que se conserven en los recipientes originales nuevamente cerrados y que se manipulen como se indica. Vuelva a dejarlos a una temperatura de 2 °C a 8 °C inmediatamente después de su uso.

Componente	Cantidad	Conservación y estabilidad después de la primera apertura
------------	----------	---

MICROPLA

Microplaca	1 placa	2–8 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la placa
-------------------	---------	---

12 x 8 pocillos separables recubiertos con estreptavidina. Después de abrir el envase, devuelva inmediatamente las tiras no utilizadas a la bolsa de aluminio con desecante. Vuelva a cerrarla cuidadosamente para mantenerlas secas.

Calibradores de CA125	5 viales	2–8 °C hasta la fecha de caducidad indicada en los viales
------------------------------	----------	---

CAL	CA125	0	0 U/mL	1 x 8 mL
CAL	CA125	10	10 U/mL	1 x 0,75 mL
CAL	CA125	40	40 U/mL	1 x 0,75 mL
CAL	CA125	200	200 U/mL	1 x 0,75 mL
CAL	CA125	500	500 U/mL	1 x 0,75 mL

El antígeno CA125 en una solución salina tamponada con Tris-HCl, que contiene albúmina sérica bovina, detergente, un colorante amarillo inerte y azida de sodio al 0,05% como conservante. Listo para su uso.

CAL	CA125	0
-----	-------	---

 debe utilizarse también para la dilución de las muestras.

Componente	Cantidad	Conservación y estabilidad después de la primera apertura
------------	----------	---

Controles de CA125 2 viales 2–8 °C hasta la fecha de caducidad indicada en los viales

CONTROL	CA125	1	1 x 0,75 mL
---------	-------	---	-------------

CONTROL	CA125	2	1 x 0,75 mL
---------	-------	---	-------------

Antígeno CA125 en una solución salina tamponada con Tris-HCl, que contiene albúmina sérica bovina, detergente y azida de sodio al 0,05% como conservante. Listo para su uso.

BIOTIN	Anti-CA125
--------	------------

Anti-CA125 con biotina 1 x 15 mL 2–8 °C hasta la fecha de caducidad indicada en el vial

Anticuerpo monoclonal anti-CA125 de ratón con biotina, aproximadamente 2 µg/mL. Contiene solución salina tamponada con Tris-HCl (pH 7,75), albúmina sérica bovina, agentes bloqueantes, detergentes, un colorante rojo inerte y azida de sodio al 0,05% como conservante. Listo para su uso.

CONJ	Anti-CA125
------	------------

Marcador, anti-CA125 con HRP 1 x 0,75 mL 2–8 °C hasta la fecha de caducidad indicada en el vial

Solución de reserva de anticuerpo monoclonal anti-CA125 de ratón con HRP, aproximadamente 30 µg/mL. Contiene conservantes. Para diluir con diluyente marcador antes de usar.

DIL	CONJ
-----	------

Diluyente marcador 1 x 15 mL 2–8 °C hasta la fecha de caducidad indicada en el vial

Contiene solución salina tamponada con fosfato (pH 7,2) con albúmina sérica bovina, agentes bloqueantes, detergentes, un colorante azul inerte y metilisotiazolona (MIT) al 0,01% como conservante. Listo para su uso.

Componente	Cantidad	Conservación y estabilidad después de la primera apertura
------------	----------	---

SUBS	TMB
------	-----

Sustrato TMB de HRP	1 x 12 mL	2–8 °C hasta la fecha de caducidad indicada en el vial
----------------------------	-----------	--

Contiene peróxido de hidrógeno tamponado y 3, 3', 5, 5'-tetrametilbenzidina (TMB). Listo para su uso.

STOP

Solución de parada	1 x 15 mL	2–8 °C hasta la fecha de caducidad indicada en el vial
---------------------------	-----------	--

Contiene ácido clorhídrico 0,12 M. Listo para su uso.

WASHBUF	25X
---------	-----

Concentrado de lavado	1 x 50 mL	2–8 °C hasta la fecha de caducidad indicada en el frasco
------------------------------	-----------	--

Solución salina tamponada con Tris-HCl y estabilizada con Tween 20. Contiene Germall II como conservante. Para diluir con agua 25 veces antes de usar.

Indicaciones de inestabilidad

La solución de sustrato TMB de HRP debe ser incolora o ligeramente azulada. Un color azul indica que el reactivo se ha contaminado y debe desecharse.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Para uso diagnóstico in vitro

- Consulte la publicación número 88-8395 (CDC) del U.S. Department of Health and Human Services (Bethesda, Md., EEUU) sobre procedimientos de seguridad en el laboratorio, o la correspondiente normativa local o nacional.
- Manipule todas las muestras de pacientes como potencialmente infecciosas.
- Los reactivos contienen azida de sodio (NaN_3) como conservante. La azida de sodio puede reaccionar con las cañerías de plomo y cobre para formar azidas metálicas altamente explosivas.
Al desecharla, enjuague con abundante agua para impedir la acumulación de azidas.
- Siga las directrices locales para la eliminación de todos los materiales de desecho.

Advertencia

Los materiales usados en la preparación del reactivo original humano han sido analizados y se ha comprobado que no reaccionan con los anticuerpos anti-VIH 1/2, el anticuerpo anti-VCH y el antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg). Puesto que ningún método puede descartar completamente la presencia de enfermedades transmitidas por la sangre, la manipulación y la eliminación de los reactivos originales humanos de este producto deben realizarse como si fueran potencialmente infecciosos.

RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

El kit EIA CanAg CA125 está diseñado para utilizarse con suero. Recoja la sangre mediante venopunción y separe el suero según los procedimientos habituales. Las muestras se pueden conservar entre 2 °C y 8 °C durante 24 horas. Para periodos más largos, guarde las muestras a -70 °C o menos. Las muestras no se guardarán en un congelador con sistema antiescarcha, y no se descongelarán y re congelarán antes del análisis. Deje que las muestras congeladas se descongelen lentamente, entre 2 °C y 8 °C, durante una noche, y lleve las muestras a temperatura ambiente antes del análisis.

PROCEDIMIENTO

Materiales necesarios pero no suministrados con el kit

1. Agitador de microplacas

La agitación debe ser entre moderada y vigorosa. Agitación longitudinal de aproximadamente 200 golpes/min; 700-900 oscilaciones/min.

2. Lavador de microplacas

Lavador automático de placas, capaz de realizar 1 y 6 ciclos de lavado, o dispositivo semimanual de lavado de microplacas conectado a bomba de vacío o vacío con chorro de agua y una trampa de líquidos para retener el líquido aspirado. Se recomienda el lavador manual de tiras Nunc Immuno-8, si no se usa un lavador automático de microplacas.

3. Espectrofotómetro de microplacas

Con una longitud de onda de 620 nm y/o 405 nm y un rango de absorbancia de 0 a 3,0.

4. Pipetas de precisión

Con puntas de plástico desechables para administrar volúmenes en microlitros. Una pipeta de 8 canales o una pipeta dispensadora con puntas de plástico desechables para la administración de 100 µL son útiles, pero no esenciales. Pipetas para administrar volúmenes en mililitros.

5. Agua destilada o desionizada

Para la preparación de la solución de lavado.

Notas del procedimiento

1. Es necesaria la total comprensión de las instrucciones que figuran en este prospecto para garantizar un uso adecuado del kit EIA CanAg CA125. Los reactivos suministrados con el kit están pensados para su uso como una unidad integral. No mezcle reactivos idénticos de kits con números de lote diferentes. No use los reactivos del kit después de la fecha de caducidad impresa en la parte exterior de la caja.
2. Debe dejarse que los reactivos alcancen la temperatura ambiente (20 °C a 25 °C) antes de su uso. El ensayo sólo debe realizarse a temperaturas comprendidas entre 20 °C y 25 °C para obtener resultados precisos. Las muestras deben mezclarse suave pero completamente tras la descongelación.
3. Antes de comenzar a pipetear los calibradores y las muestras de los pacientes, es aconsejable marcar las tiras para poder identificar claramente las muestras durante y después del ensayo.
4. El requisito de un lavado eficaz y profundo para la separación del antígeno unido y no unido y los reactivos de los complejos anticuerpo-antígeno unidos a la fase sólida es uno de los pasos más importantes en un EIA. A fin de garantizar un lavado eficaz, compruebe que todos los pocillos estén totalmente llenos con solución de lavado hasta el borde superior durante cada ciclo de lavado, que la solución de lavado se administre con una velocidad de dispensación adecuada, que la aspiración de los pocillos entre y después de los ciclos de lavado sea completa y que los pocillos estén vacíos. Si queda líquido en los pocillos, invierta la placa y déle golpes suaves contra papel absorbente.
 - Lavador automático de tiras: Siga las instrucciones del fabricante para efectuar una limpieza y un mantenimiento apropiados y realice el número necesario de ciclos de lavado antes y después de cada paso de la incubación. Es muy recomendable utilizar el modo de procesamiento *strip* (tira) y el modo de lavado *overflow* (desbordamiento) con un volumen de dispensación de 800 µL. El dispositivo de aspiración/lavado no debe dejarse de pie con la solución de lavado durante periodos prolongados, ya que las agujas podrían obstruirse, lo que provocaría una mala dispensación y aspiración de líquido.
5. La solución de sustrato TMB de HRP es muy sensible a la contaminación. Para una estabilidad óptima de la solución de sustrato TMB de HRP, vierta la cantidad necesaria del vial en un reservorio limpiado cuidadosamente o, mejor, a en bandeja de plástico desechable, para evitar la contaminación del reactivo. Utilice siempre puntas de pipeta de plástico desechables limpias (o puntas de pipeta dispensadora).
6. Utilice siempre puntas de pipeta de plástico desechables limpias, así como una técnica de pipeteado adecuada, al manipular muestras y reactivos. Evite la contaminación sujetando la punta de la pipeta ligeramente por encima de la parte superior del pocillo y evitando tocar la tira de plástico o la superficie del líquido. Usar una técnica de pipeteado adecuada es especialmente importante al manipular la solución de sustrato TMB de HRP.

Preparación de los reactivos	Estabilidad del reactivo preparado
Solución de lavado	2 semanas a 2–25 °C en un recipiente cerrado
<p>Vierta los 50 mL del concentrado de lavado en un recipiente limpio y diluya 25 veces añadiendo 1.200 mL de agua destilada o desionizada para conseguir una solución de lavado tamponada.</p>	
Solución de trabajo de marcador	3 semanas a 2-8 °C en un recipiente cerrado

Prepare la cantidad necesaria de solución de trabajo de marcador mezclando 50 µL de marcador, anti-CA125 con HRP, con 1 mL de diluyente marcador por tira (véase la tabla siguiente):

Número de tiras	Marcador, anti-CA125 con HRP (µL)	Diluyente marcador (mL)
1	50	1
2	100	2
3	150	3
4	200	4
5	250	5
6	300	6
7	350	7
8	400	8
9	450	9
10	500	10
11	550	11
12	600	12

Asegúrese de usar un frasco limpio de plástico o vidrio para preparar la solución de trabajo de marcador.

Alternativa: vierta el contenido del marcador, anti-CA125 con HRP, en el vial de diluyente marcador y mezcle suavemente. Compruebe que todo el contenido del vial del marcador, anti-CA125 con HRP, se transfiera al vial de diluyente marcador.

NOTA: la solución de trabajo de marcador es estable durante 3 semanas a una temperatura de 2 °C a 8 °C. No prepare más solución de trabajo de marcador de la que vaya a utilizar en este periodo y asegúrese de almacenarla correctamente.

Procedimiento del ensayo

Realice cada determinación por duplicado para los calibradores y las muestras de los pacientes. Debe elaborarse una curva de calibración con cada ensayo. Todos los reactivos y muestras deben llevarse a temperatura ambiente (20 °C a 25 °C) antes de su uso.

1. Comience por prepare la solución de lavado y la solución de trabajo del marcador. Es importante usar recipientes limpios. Siga las instrucciones cuidadosamente.
2. Transfiera el número necesario de tiras de microplacas a un soporte de tiras. (Devuelva inmediatamente las tiras no utilizadas a la bolsa de aluminio con desecante y vuelva a cerrarla cuidadosamente.) Lave cada tira una vez con la solución de lavado. No lave más tiras de las que puedan manejarse en 30 minutos.
3. Pipetee 25 µL de los calibradores de CA125 (CAL 0, 10, 40, 200, 500), los controles de CA125 (C 1, C 2) y las muestras de los pacientes (desconocidas o "desc.") en los pocillos de las tiras, de acuerdo con el esquema siguiente:

	1	2	3	4	5	6	7 etc.
A	Cal 0	Cal 500	2° Desc.				
B	Cal 0	Cal 500	2° Desc.				
C	Cal 10	C1	etc.				
D	Cal 10	C1					
E	Cal 40	C2					
F	Cal 40	C2					
G	Cal 200	1° Desc.					
H	Cal 200	1° Desc.					

4. Añada 100 µL de anti-CA125 con biotina a cada pocillo, usando una pipeta de precisión de 100 µL (o una pipeta de precisión de 100 µL de 8 canales). Evite la contaminación sujetando la punta de la pipeta ligeramente por encima de la parte superior del pocillo y evitando tocar la tira de plástico o la superficie del líquido.
5. Incube la placa durante 2 horas (\pm 10 min.) a temperatura ambiente (20 °C a 25 °C) agitándola constantemente usando un agitador de microplacas.

Hoja de protocolo

EIA CanAg CA125 REF 400-10

Prepare los componentes directamente antes de utilizarlos. Use las condiciones de agitación indicadas en las instrucciones.

Paso	Frasco/Placa	Procedimiento																																							
1. Prepare la solución de lavado	WASHBUF 25X	Diluya 50 mL de concentrado de lavado con 1.200 mL de agua destilada o desionizada.																																							
Prepare la solución de trabajo del marcador	CONJ Anti-CA125 DIL CONJ	Mezcle 50 µL del marcador, anti-CA125 con HRP, con 1 mL de diluyente marcador por tira:																																							
		<table border="1"><thead><tr><th data-bbox="641 895 668 1070">Número de tiras</th><th data-bbox="641 895 668 1070">Marcador, anti-CA125 con HRP (µL)</th><th data-bbox="641 895 668 1070">Diluyente marcador (mL)</th></tr></thead><tbody><tr><td>1</td><td>50</td><td>1</td></tr><tr><td>2</td><td>100</td><td>2</td></tr><tr><td>3</td><td>150</td><td>3</td></tr><tr><td>4</td><td>200</td><td>4</td></tr><tr><td>5</td><td>250</td><td>5</td></tr><tr><td>6</td><td>300</td><td>6</td></tr><tr><td>7</td><td>350</td><td>7</td></tr><tr><td>8</td><td>400</td><td>8</td></tr><tr><td>9</td><td>450</td><td>9</td></tr><tr><td>10</td><td>500</td><td>10</td></tr><tr><td>11</td><td>550</td><td>11</td></tr><tr><td>12</td><td>600</td><td>12</td></tr></tbody></table>	Número de tiras	Marcador, anti-CA125 con HRP (µL)	Diluyente marcador (mL)	1	50	1	2	100	2	3	150	3	4	200	4	5	250	5	6	300	6	7	350	7	8	400	8	9	450	9	10	500	10	11	550	11	12	600	12
Número de tiras	Marcador, anti-CA125 con HRP (µL)	Diluyente marcador (mL)																																							
1	50	1																																							
2	100	2																																							
3	150	3																																							
4	200	4																																							
5	250	5																																							
6	300	6																																							
7	350	7																																							
8	400	8																																							
9	450	9																																							
10	500	10																																							
11	550	11																																							
12	600	12																																							
2. Lave	MICROPLA	Lave cada pocillo una vez con la solución de lavado. Use lavador manual o automático.																																							

3. Añada los calibradores, controles y muestras	<table border="1"> <tr> <td data-bbox="10 720 46 924">CAL</td> <td data-bbox="46 720 82 924">CA125</td> </tr> <tr> <td colspan="2" data-bbox="82 720 165 924">0, 10, 40, 200, 500</td> </tr> <tr> <td data-bbox="82 735 119 924">CONTROL</td> <td data-bbox="119 735 165 924">CA125</td> </tr> </table>	CAL	CA125	0, 10, 40, 200, 500		CONTROL	CA125	25 µL en cada pocillo
CAL	CA125							
0, 10, 40, 200, 500								
CONTROL	CA125							
1,2								
4. Añada anti-CA125 con biotina	<table border="1"> <tr> <td data-bbox="186 720 222 924">BIOTIN</td> <td data-bbox="222 720 227 924">Anti-CA125</td> </tr> </table>	BIOTIN	Anti-CA125	100 µL en cada pocillo				
BIOTIN	Anti-CA125							
5. Incube	MICROPLA	Agitación durante 2 horas a temperatura ambiente						
6. Lave	MICROPLA	Lave cada pocillo tres veces con la solución de lavado. Use lavador manual o automático.						
7. Añada solución de trabajo de marcador	SOLUCIÓN DE TRABAJO DE MARCADOR	100 µL en cada pocillo						
8. Incube	MICROPLA	Agitación durante 1 hora a temperatura ambiente						
9. Lave	MICROPLA	Lave cada pocillo seis veces con la solución de lavado. Use lavador manual o automático.						
10. Añada sustrato TMB de HRP	<table border="1"> <tr> <td data-bbox="600 720 637 924">SUBS</td> <td data-bbox="637 720 663 924">TMB</td> </tr> </table>	SUBS	TMB	100 µL en cada pocillo				
SUBS	TMB							
11. Incube	MICROPLA	Agitación durante 30 min a temperatura ambiente						
12. Lea la absorbancia	MICROPLA	620 nm						
12 (alternativo). Añada la solución de parada	STOP	100 µL en cada pocillo						
13 (alternativo). Incube	MICROPLA	Agitación durante 1 min a temperatura ambiente						
14 (alternativo). Lea la absorbancia	MICROPLA	Lea el resultado a 405 nm antes de 15 min.						

6. Tras la primera incubación, aspire y lave cada tira 3 veces usando el procedimiento de lavado descrito en las notas del procedimiento (punto 4).
7. Añada 100 μL de solución de trabajo de marcador a cada pocillo. Use el mismo procedimiento de pipeteado que en el punto 4 anterior.
8. Incube el marco durante 1 hora (± 5 min.) a temperatura ambiente (20°C a 25°C) agitando constantemente.
9. Tras la segunda incubación, aspire y lave cada tira 6 veces usando el procedimiento de lavado descrito en las notas del procedimiento (punto 4).
10. Añada 100 μL de sustrato TMB de HRP a cada pocillo usando el mismo procedimiento de pipeteado que en el punto 4. La solución de sustrato TMB de HRP debe añadirse a los pocillos con la mayor rapidez posible y el tiempo entre la adición al primer pocillo y al último no debe superar los 5 minutos.
11. Incube durante 30 min (± 5 min) a temperatura ambiente, agitando constantemente. Evite la exposición a la luz solar directa.
12. Lea inmediatamente la absorbancia a 620 nm en un espectrofotómetro de microplacas.

Opción

Si el laboratorio no tiene acceso a un lector de microplacas capaz de leer a 620 nm, la absorbancia puede determinarse tal como se indica en el punto 12 alternativo siguiente:

- 12 (alternativo). Añada 100 μL de solución de parada, mezcle y lea la absorbancia a 405 nm en un espectrofotómetro de microplacas dentro de los 15 minutos siguientes a la adición de la solución de parada.

Rango de medición

El EIA CanAg CA125 mide concentraciones entre 1,5 y 500 U/mL. Si se espera obtener concentraciones de CA125 superiores al rango de medición, se recomienda diluir las muestras con calibrador 0 de CA125 antes del análisis.

Control de calidad

Los controles 1 y 2 de CA125 deben utilizarse para la validación de cada serie de ensayos. Los rangos de los resultados esperados están indicados en las etiquetas de los viales. Si se obtienen valores fuera del rango especificado, deberán revisarse completamente los reactivos y el funcionamiento del lector y repetirse el análisis. Cada laboratorio puede asimismo preparar sus propios grupos de suero con diferentes niveles, que pueden utilizarse como controles internos para garantizar la precisión del ensayo.

Materiales de referencia

Como no se dispone de material de referencia común para el antígeno CA125, los valores de calibrador de EIA CanAg CA125 se asignan de acuerdo con una serie de estándares de referencia internos.

CÁLCULO DE LOS RESULTADOS

Si se utiliza un espectrofotómetro de microplacas con programa de cálculo incorporado, consulte el manual del espectrofotómetro y cree un programa usando la concentración indicada en la etiqueta de cada uno de los calibradores de CA125.

Para el cálculo automático de los resultados de CA125, se recomienda usar cualquiera de los métodos siguientes:

- Método de ajuste de la curva spline cúbica. El calibrador 0 debe estar incluido en la curva con el valor 0 U/mL.
- Método de ajuste de la curva spline suavizada. El calibrador 0 debe usarse como blanco de la placa.
- Interpolación con evaluación punto a punto. El calibrador 0 debe estar incluido en la curva con el valor 0 U/mL.
- Método de ajuste de la curva cuadrática. El calibrador 0 debe estar incluido en la curva con el valor 0 U/mL.

NOTA: no deben usarse métodos de evaluación por regresión lineal ni paramétricos de grado 4.

Para la evaluación manual, se construye una curva de calibración representando los valores de absorbancia (A) para cada calibrador de CA125 frente a la concentración de CA125 correspondiente (en U/mL) (véase la figura más abajo). Las concentraciones de CA125 desconocidas pueden leerse después a partir de la curva de calibración usando el valor de absorbancia medio de cada muestra de paciente.

Si las muestras en un análisis inicial dan valores de CA125 superiores a 500 U/mL, deben diluirse a 1/10 y 1/100 con calibrador 0 de CA125 para obtener la concentración de CA125 precisa de las muestras.

Dilución a 1/10 = 50 µL de muestra + 450 µL de calibrador 0 de CA125

Dilución a 1/100 = 50 µL de dilución a 1/10 + 450 µL de calibrador 0 de CA125

La concentración de CA125 de la muestra no diluida se calcula entonces de la manera siguiente:

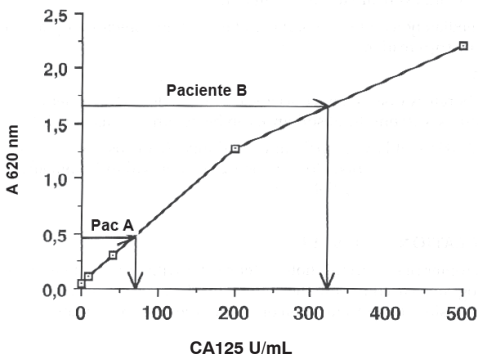
Dilución a 1/10: 10 x valor medido

Dilución a 1/100: 100 x valor medido

Ejemplo de resultados

Muestra			Valores decalibrador	Valor de abs. media (A)	CA125 U/mL
CAL	CA125	0	0 U/mL	0,047	
CAL	CA125	10	10 U/mL	0,116	
CAL	CA125	40	40 U/mL	0,298	
CAL	CA125	200	200 U/mL	1,269	
CAL	CA125	500	500 U/mL	2,218	

Muestra A	0,490	69,8
Muestra B	1,650	325



Ejemplo, no use esta curva para determinar los resultados del ensayo.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

El nivel de CA125 no puede usarse como prueba absoluta de la presencia o ausencia de enfermedad maligna, y no debe utilizarse la prueba de CA125 en el cribado del cáncer. Los resultados de la prueba sólo deben interpretarse conjuntamente con los resultados de otras investigaciones y procedimientos en el diagnóstico de las enfermedades y la asistencia a los pacientes, y la prueba de CA125 no debe sustituir a ninguna exploración clínica establecida.

Los anticuerpos anti-reactivo (anticuerpos humanos anti-ratón (HAMA) o anticuerpos heterófilos) de la muestra del paciente pueden interferir ocasionalmente con el ensayo, aunque se incluyan agentes bloqueantes específicos en los tampones.

VALORES ESPERADOS

Se determinó el nivel de CanAg CA125 en 100 donantes de sangre femeninas sanas. El valor medio obtenido fue de 14,7 U/mL con una desviación estándar de 7,7. El valor mediano fue de 13,1 U/mL y el rango, 5,06– 47,9 U/mL. Se examinaron los extremos inferior y superior del rango normal aplicando el tratamiento estadístico no paramétrico recomendado por el IFCC. El intervalo de referencia contiene la fracción del 95% central de la distribución de referencia. Los límites de referencia pueden estimarse por consiguiente como los fractiles 2,5% (inferior) y 97,5% (superior). Estos límites acotan una fracción del 2,5% de los valores en cada cola de la distribución de referencia.

Estimaciones no paramétricas:

N = 100

Fracción	Límite de referencia (U/mL)
2,5% (inferior)	5
97,5% (superior)	39

El 96% de las mujeres sanas presentaron valores del análisis inferiores a 35 U/mL. Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango normal para tener en cuenta factores ambientales locales tales como la dieta, el clima, las condiciones de vida, la selección de pacientes, etc. Debe tenerse en cuenta también que los propios resultados basales del paciente aportan el punto de referencia más importante para la interpretación de los resultados de los marcadores (6).

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Precisión

La precisión total se determinó según la directriz EP5-A2 (7) del NCCLS utilizando cuatro niveles de suero humano agrupado y congelado que contenía líquido de ascitis añadido. Cada muestra se pipeteó aleatoriamente ($n = 2/\text{análisis}$) y se analizó dos veces cada día durante 10 días. Los análisis se realizaron durante un periodo de 8 meses, por \geq dos técnicos distintos y utilizando 10 lotes diferentes de EIA CanAg CA125.

Muestra	Duplicados	Media U/mL	Intraensayo DE (U/mL)	Intraensayo CV (%)	Interdía DE (U/mL)	Interdía CV %
CA125 1	40	16,8	0,74	4,4	0,53	3,1
CA125 2	40	75,7	3,26	4,3	2,42	3,2
CA125 3	40	201	8,55	4,3	7,58	3,8
CA125 4	40	392	11,4	2,9	15,5	4,0

Límite de detección

El límite de detección del kit EIA CanAg CA125 es $< 1,5$ U/mL, definido como la concentración correspondiente a la media de los valores de absorbancia del calibrador 0 de CA125 más 2 desviaciones estándar, según la fórmula:

$$\frac{2 \times \text{DE CAL 0}}{\text{DO CAL 10} - \text{DO CAL 0}} \times 10 \text{ U/mL}$$

Recuperación

Se prepararon muestras de suero enriquecidas añadiendo antígeno CA125 humano a muestras de suero normales. La recuperación del antígeno fue del $100 \pm 15\%$.

Efecto de gancho

No se ha observado efecto de gancho con muestras de hasta $50.000 \mu\text{g/L}$.

NOTA: en muestras muy altas, el color del sustrato cambiará de azul a verdoso (y finalmente a amarillo en muestras extremadamente altas). Esto conducirá a una absorbancia falsamente baja a 620 nm y, en casos extremos, la absorbancia puede caer dentro del rango de la curva de calibración y observarse como un gancho.

Linealidad

Las muestras de los pacientes se diluyeron seriadamente con calibrador 0 de CA125 y se analizaron. Los valores obtenidos estuvieron dentro del $100 \pm 15\%$ de los valores esperados.

Especificidad

El EIA CanAg CA125 se basa en dos anticuerpos monoclonales de ratón, Ov197 y Ov185, dirigidos contra dos epítopos independientes del núcleo proteico del antígeno CA125 (4)). Se siguió la directriz EP7-P (8) del NCCLS para determinar posibles fuentes de interferencia. Se estudiaron las siguientes sustancias y concentraciones y se observó que no interfieren con la prueba.

	Concentración sin interferencia significativa (\pm 10%)
Lipemia (Intralipid®)	4 mg/mL
Bilirrubina no conjugada	0,6 mg/mL
Hemoglobina	5 mg/mL

GARANTÍA

Los datos de rendimiento aquí presentados se obtuvieron usando el procedimiento de ensayo indicado. Cualquier cambio o modificación del procedimiento no recomendado por Fujirebio Diagnostics puede afectar a los resultados, en cuyo caso Fujirebio Diagnostics rechaza todas las garantías expresas, implícitas u obligatorias, incluida la garantía implícita de comerciabilidad e idoneidad para el uso.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bast R., Feeney M., Lazarus H., Nadler L., Colvin R., Knapp R., (1981). Reactivity of a monoclonal antibody with human ovarian carcinoma. *J Clin Invest* 68: 1331 - 1337.
2. O'Brien T, Raymond L, Bannon G, Ford D, Hardardottir H, Miller F, Quirk J (1991). New monoclonal antibodies identify the glycoprotein carrying the CA125 epitope. *Am J Obstet Gynecol* 165: 1857 - 1864.
3. Nilsson O, Jansson E-L, Dahlen U, Nilsson K, Nustad K, Högberg T, Lindholm L (1994). In: *Current Tumor Diagnosis: Applications, Clinical Relevance, Research, Trends*. Ed R. Klapdor. Zuckschwerdt Verlag München, pp 401-405.
4. Nustad K. et al., (1996) Specificity and affinity of 26 monoclonal antibodies against the CA125 antigen: First report from the ISOBM TD-1 Workshop. *Tumor Biol* 17:196-219.
5. Bonfrer J., Duffy M., Radtke, M., Segurado O., Torre G., van Dalen A., Zwirner M. (1999) Tumor markers in gynaecological cancers-EGTM recommendations. *Anticancer Research* 19:2785-2820.
6. Tuxen M., Sölétormos, G., Rustin, G., Nelstrop A., Dombernowsky, P. (2000) Biological variation and analytical imprecision of CA125 in patients with ovarian cancer. *Scand J Clin Invest* 60:713-722.
7. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices. Approved Guideline EP5-A (1999).
8. National Committee for Clinical Laboratory Standards, National Evaluation Protocols for Interference Testing, Evaluation protocol Number 7, Vol. 6, No 13, August (1986).



CanAg[®] es una marca registrada de Fujirebio Diagnostics AB

Fujirebio Diagnostics AB

Elof Lindälvs gata 13

SE-414 55 Gotemburgo

Suecia

Teléfono + 46 31 85 70 30

Fax + 46 31 85 70 40

info@fdab.com

www.fdab.com

