

CA125 [I-125] IRMA KIT

Código RK-125CT - Estuche para 100 determinaciones.

Código RK-125CT50 – Estuche para 50 determinaciones.

Análisis inmunoradiométrico para la determinación cuantitativa *in vitro* del antígeno asociado al cáncer CA125 en suero humano, en el rango de 1,9-500 U/mL.

Introducción

El CA125 es una glicoproteína de alto peso molecular (200 – 1000 kDa), definida originalmente por el anticuerpo monoclonal OC125, producido con los linfocitos procedentes de un ratón inmunizado con OVCA433, línea celular derivada de un cistadenocarcinoma papilar seroso del ovario.

El CA125 se expresa en un alto porcentaje de tumores ováricos epiteliales no mucinosos y se encuentra elevado en el suero de mujeres con dichos tumores. Por otra parte, se pueden observar niveles elevados de CA125 en otras neoplasias (mama, colon, pulmón, páncreas, útero, endometrio), en algunos cuadros no malignos (endometriosis, pericarditis, cirrosis) y en ciertas condiciones fisiológicas (menstruación, primer trimestre de embarazo).

La determinación de CA125 no es útil para el pesquizado del cáncer de ovario en mujeres asintomáticas. El interés clínico fundamental de este ensayo se encuentra en las siguientes aplicaciones: ayuda en el diagnóstico diferencial del cáncer de ovario en mujeres postmenopáusicas con masas pélvicas de origen desconocido, monitorización de la eficacia del tratamiento, detección de carcinoma ovárico residual en pacientes sometidas a terapia de primera línea y seguimiento a largo plazo.

Principio del ensayo

Este ensayo utiliza el principio del análisis inmunoradiométrico (IRMA) en fase sólida. Para ello emplea dos anticuerpos monoclonales que reconocen dos epítomos diferentes de la molécula: un anticuerpo “señal” marcado con radioyodo (OC125*) y otro, conjugado a biotina, funciona como anticuerpo “captura” (M11*).

El inmunocomplejo formado por el antígeno con los dos anticuerpos se inmoviliza en la superficie de los tubos de ensayo recubiertos con streptavidina durante un periodo de incubación de 2 horas bajo agitación constante. Después se decantan los tubos y se mide la radiactividad enlazada en un contador gamma. La radiactividad presente en los tubos es directamente proporcional a la concentración del antígeno presente en el sistema. Utilizando calibradores de concentración conocida de CA125 se prepara una curva de calibración a partir de la cual se determina por interpolación la concentración de CA125 presente en las muestras.

*anticuerpos de Fujirebio Diagnostics Inc. (FDI)



Contenido del juego

1. TRAZADOR, 1 frasco (11 mL), listo para usar, contiene < 980 kBq de anti-CA125 marcado con ¹²⁵I y anti-CA125 biotinilado en solución tampón con 0,1 % NaN₃ y colorante rojo.
2. CALIBRADOR CERO (S0), 1 frasco (10 mL) listo para usar, contiene suero equino y 0,1% NaN₃.
3. CALIBRADORES (S1-S5), 5 frascos (5 x 1 mL) listos para usar, contienen suero humano con 0,1% NaN₃. Los calibradores contienen: 15-30-80-200-500 U/mL de CA125 y están calibrados según el CA125II RIA de FDI.
4. SUEROS CONTROL, 2 frascos (2 x 1 mL) listos para usar, contienen CA125 en suero humano con 0,1% NaN₃. El rango de concentración está especificado en el certificado de calidad incluido.
5. SOLUCIÓN DE LAVADO, 1 frasco, contiene 20 mL de solución concentrada. Diluir con 700 mL de agua destilada. Contiene 0,2 % NaN₃.
6. TUBOS RECUBIERTOS: 2x50 (RK-125CT) ó 1x50 (RK-125CT50) tubos de 12x75 mm, empaquetados en cajas plásticas, listos para usar.

Materiales y equipos necesarios

Gradilla para tubos de ensayo, pipeta de precisión con puntas desechables (100 µL), agitador horizontal u orbital, lámina de polietileno, papel absorbente, contador gamma.

Materiales y equipos recomendados:

Pipeta de repetición (100 µL). Jeringa automática (dispensador) o pipeta de repetición (2 mL) para el lavado.

Recolección y almacenamiento de las muestras

Las muestras de suero deben colectarse de acuerdo a los procedimientos habituales que se practican en los laboratorios clínicos. Las muestras pueden conservarse entre 2 y 8 °C si el análisis habrá de efectuarse dentro de las 24 horas siguientes, de lo contrario deben conservarse congeladas a una temperatura igual o menor que -20 °C hasta seis meses. Las muestras congeladas deben descongelarse y mezclarse completamente antes de su uso. Evitar la congelación y descongelación repetida de las muestras. Las muestras hemolizadas, turbias o lipémicas pueden dar resultados falsos, evite su uso. *Las muestras con valores superiores a 500 U/mL deben ser diluidas con el calibrador cero (S0) y reanalizadas. Se recomienda una dilución de 1:10 (450 µL S0 + 50 µL muestra).*

Preparación y conservación de los reactivos

Conservar los reactivos entre 2 y 8 °C después de abiertos. A esta temperatura cada reactivo es estable hasta la fecha de vencimiento del juego. La fecha de caducidad exacta se especifica en la etiqueta del estuche y en el certificado de calidad.

La solución concentrada de lavado debe diluirse con 700 mL de agua destilada. Así diluida esta solución se conserva entre 2 y 8 °C hasta la fecha de vencimiento del juego.

¡PRECAUCIÓN! Permitir que todos los reactivos y muestras alcancen la temperatura ambiente. Homogenizar completamente todos los reactivos y muestras antes de su uso, evitando la formación de espuma.

Procedimiento para el ensayo

(Ver Tabla 1.)

1. Marcar los tubos recubiertos por duplicado para la actividad total (T), calibradores (S0-S5), controles (CI-CII) y muestras (M).
2. Añadir por duplicado 100 µL de calibrador, suero control y muestras en los tubos apropiados, cuidando de no arañar el fondo del tubo.
3. Añadir 100 µL de trazador en cada tubo.
4. Fijar la gradilla con los tubos de ensayo firmemente en el agitador horizontal. Cubrir los tubos con una lámina de polietileno. Encender el agitador y ajustar la velocidad de manera tal que el líquido en los tubos esté rotando o agitándose constantemente. Incubar 2 horas en el agitador a temperatura ambiente.
5. Añadir 2 mL de solución de lavado a cada tubo. Aspirar o decantar el líquido de todos los tubos (excepto T) mediante la inversión de la gradilla. Colocar la gradilla sobre un papel absorbente por 2 minutos manteniendo la posición invertida.
6. Repetir dos veces el procedimiento de lavado según el punto 5.
7. Medir la radiactividad de cada tubo por 60 segundos en un contador gamma y calcular la concentración de CA125 en las muestras como se describe a continuación.

Tabla 1. Protocolo del ensayo (volúmenes en microlitros)

	T	S0-S5	CI-CII	M
Calibrador		100		
Control			100	
Muestra				100
Trazador	100	100	100	100
Agitar 2 horas a temperatura ambiente				
Solución de lavado		2000	2000	2000
Decantar y secar en papel absorbente				
Solución de lavado		2000	2000	2000
Decantar y secar en papel absorbente				
Solución de lavado		2000	2000	2000
Decantar y secar en papel absorbente				
Medir la radiactividad (60 s/tubo)				
Procesar los datos				

Protocolo opcional

Es posible utilizar un tiempo de incubación de 1 hora. La tabla a continuación muestra ejemplos de los resultados (cpm) que se obtienen al utilizar un trazador fresco y uno cerca de la fecha de caducidad.

trazador	en vencimiento		fresco	
	2 horas	1 hora	2 horas	1 hora
T	206237	210354	409715	410542
S0	584	560	770	636
S1	2038	1607	3736	3001
S2	3358	2769	6684	5844
S3	7744	6548	16940	15032
S4	17810	16225	41371	36454
S5	42288	35869	96341	84572

Cálculo de los resultados

En la Tabla 2 se muestran a manera de ejemplo los cálculos y una curva estándar típica de un ensayo. Para los cálculos: Hallar la media de los conteos por minuto (cpm) para cada par de tubos. Restar de cada media el promedio de cpm obtenido para el calibrador de concentración cero (S0 = enlace no específico, NSB). Los valores así corregidos se dividen por la actividad total (T) como se muestra a continuación:

$$B/T (\%) = \frac{S1-5/Mx/ (cpm) -S0(cpm)}{T (cpm)} \times 100$$

Construir una curva estándar plotando las medias de cpm o, alternativamente, los valores B/T% contra la concentración de CA125 de cada calibrador.

Determinar la concentración de CA125 en las muestras basándose en las respectivas medias de cpm o en los valores B/T%, por interpolación de la curva estándar. No extrapolar valores fuera del rango de la curva. Para el procesamiento automatizado de los datos, recomendamos el uso del programa de ajuste tipo spline, desarrollado especialmente para el análisis inmunoradiométrico. Existen programas que interpolan los valores que se encuentran entre el calibrador de concentración cero y el primer calibrador. Entre las concentraciones así calculadas, solo aquellas mayores que el límite de detección del ensayo pueden considerarse como reales (ver sensibilidad).

Tabla 2. Resultados característicos del ensayo

Tubos	Media (cpm)	B/T%	CA125 (U/mL)
T	291557		
S0	278	0,1	
S1	2177	0,7	
S2	3610	1,2	
S3	8361	2,9	
S4	20729	7,1	
S5	46876	16,1	
CI	5642	1,9	51,7
CII	10973	3,8	105,9

Características del ensayo

Especificidad

Los anticuerpos monoclonales utilizados en este ensayo garantizan la medición específica del CA125.

Sensibilidad

Los Límites del Blanco (LoB), de Detección (LoD) y de Cuantificación (LoQ) fueron determinados según la guía del CLSI, documento EP17-A2.

LoB: 0,30 U/mL
LoD: 0,99 U/mL
LoQ) 1,90 U/mL

Precisión

La precisión de un solo sitio se calculó utilizando cinco muestras a diferentes concentraciones de CA125, de acuerdo con el documento EP05-A3 del CLSI. Las muestras se midieron en veinte días, con dos ensayos por día y utilizando dos réplicas por muestra.

Muestra	Media (U/mL)	Repetibilidad		Precisión intra-laboratorio	
		SD	CV%	SD	CV%
Pool 1	15,59	0,47	2,99	0,58	3,73
Pool 2	34,05	0,54	1,59	0,75	2,19
Pool 3	68,57	1,07	1,57	1,39	2,03
Pool 4	147,91	1,68	1,13	2,53	1,71
Pool 5	294,14	2,24	0,76	2,93	1,00

La precisión multi-sitio se calculó utilizando 5 muestras a diferentes concentraciones de CA125, de acuerdo con el documento EP05-A3 del CLSI. Las muestras se midieron en tres sitios diferentes, en cada sitio se realizaron cinco corridas, una corrida por día y utilizando cinco réplicas por corrida.

Muestra	Media (U/mL)	Repetibilidad		Precisión intra-laboratorio		Reproducibilidad	
		SD	CV%	SD	CV%	SD	CV%
Pool 1	16,36	0,33	2,04	0,41	2,50	0,46	2,79
Pool 2	35,44	0,67	1,88	0,76	2,14	0,83	2,34
Pool 3	70,94	1,28	1,81	1,46	2,06	1,57	2,21
Pool 4	149,43	1,92	1,28	2,66	1,78	3,01	2,02
Pool 5	293,00	4,27	1,46	4,28	1,46	5,82	1,99

Linealidad

La linealidad se evaluó de acuerdo con el documento EP06-A del CLSI. El método resultó lineal desde 0,56 U/mL hasta 528,1 U/mL, con un margen de error <10 % en este intervalo.

Prueba de recuperación

La recuperación se determinó como la diferencia porcentual entre el incremento observado y el incremento esperado, luego de añadir cantidades conocidas (a 3 niveles) de CA125 a 3 muestras de suero diferentes. La recuperación media obtenida fue de 103,37%, con un rango del 99% al 107%.

Interferencias:

Las pruebas de interferencia se realizaron de acuerdo con el documento EP07-A2 del CLSI. No se observa interferencia hasta las siguientes concentraciones:

Bilirrubina	359 μmol/L
Triglicéridos	11,9 mmol/L
Hemoglobina	3,63 g/L
Biotina	100 ng/mL
Factor Reumatoide	400 IU/mL
Paracetamol	15,6 mg/dL
Ácido acetilsalicílico	3,0 mg/dL
Acido ascórbico	5,25 mg/dL
Diclofenaco	2,4 mg/dL
Ibuprofeno	21,9 mg/dL
Anastrozol	1 mg/dL
Capecitabina	150 mg/dL
Carboplatino	100 mg/dL
Cisplatino	20 mg/dL
Docetaxel	10 mg/dL
Doxorubicina	100 mg/dL
Exemestano	50 mg/dL
Fluorouracilo	200 mg/dL
Leucovorina	50 mg/dL
Gemcitabina	150 mg/dL
Ifosfamida	300 mg/dL
Letrozole	1 mg/dL
Oxaliplatino	20 mg/dL
Paclitaxel	20 mg/dL
Tamoxifeno	50 mg/dL
Topotecan	1 mg/dL

Efecto Hook

No se observa efecto Hook con el uso del presente producto en concentraciones de CA125 hasta 25000 U/mL.

Valores de referencia

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios intervalos de referencia. Los valores que se proporcionan a continuación deben considerarse solo como informativos.

Se evaluaron muestras de suero de mujeres donantes de sangre, presumiblemente sanas y no embarazadas con los siguientes resultados:

Número de muestras	408
Media (U/mL)	16,53
Mediana (U/mL)	14,03
Muestras < 35 U/mL	386 (94,6%)
Muestras < 55 U/mL	404 (99,0%)

Notas acerca del procedimiento

- El no respeto de las instrucciones del presente inserto puede afectar los resultados significativamente.
- No se deben mezclar los componentes de lotes diferentes o con productos de otro fabricante.
- Para asegurar la agitación eficiente de los tubos se debe utilizar una gradilla que los ajuste firmemente. Una agitación inadecuada puede provocar un rendimiento deficiente del ensayo y falsos resultados.

Limitaciones del procedimiento

- La determinación del CA125 no debe utilizarse como un test de pesquizado.
- En algunos individuos sanos y pacientes con enfermedades no malignas se pueden encontrar valores de CA125 iguales o superiores a 35 U/mL.
- Los valores de CA125 inferiores a 35 U/mL no indican la ausencia de cáncer de ovario residual.
- Los resultados deben interpretarse a la luz del cuadro clínico total del paciente, incluyendo su historia clínica y los datos de otras pruebas diagnósticas adicionales.
- Las muestras de pacientes que han recibido inmunoglobulinas de ratón con objetivo diagnóstico o terapéutico pueden contener anticuerpos humanos anti-ratón (HAMA), cuya interferencia puede ocasionar resultados erróneos.

Precauciones

Material radiactivo

Este producto contiene material radiactivo. Es responsabilidad de cada laboratorio cumplir con las regulaciones locales referentes a la manipulación, conservación y desecho de materiales radiactivos.

















Material potencialmente infeccioso

El suero humano utilizado en este producto ha sido analizado con métodos aprobados y no ha presentado positividad para anticuerpos frente a los virus de Inmunodeficiencia Humana (Anti-HIV-1/2) y Hepatitis-C (HCV), anticuerpos anti-Treponema y el antígeno de superficie de la Hepatitis-B (HBsAg). Ninguno de los métodos analíticos disponibles actualmente puede garantizar por completo la eliminación de posibles riesgos biológicos. Se deben manipular todos los reactivos y muestras de sangre como *material potencialmente infeccioso*.

Peligro químico

Algunos componentes de este juego contienen azida sódica como preservante. Al verter los desechos no radiactivos al sistema de desagüe se debe diluir con grandes cantidades de agua, para evitar la acumulación de azidas metálicas explosivas en las tuberías de plomo y cobre. Este producto contiene en total 67 mg de azida sódica.

MSDS: La hoja de datos de seguridad está disponible públicamente en el sitio web www.izotop.hu/immunoassay.

	Fecha de vencimiento		Número de lote
	Almacenar entre 2 y 8 °C		Suero Control
	Precaución		Calibrador
	Peligro biológico		Tubos recubiertos
	Consulte las instrucciones		Trazador
	Dispositivo para diagnóstico <i>in vitro</i>		Tampón de lavado
	Fabricante		Material radiactivo
	Número de referencia		

Sitio WEB: <http://www.izotop.hu>
E-mail técnico: immuno@izotop.hu
E-mail comercial: commerce@izotop.hu

IZOTOP
INSTITUTE OF ISOTOPES Ltd.
1535 Budapest. Pf.: 851.
Tel.: (36-1)392-2577, Fax: (36-1)395-9247

Nota legal

CA125™ es una marca registrada de Fujirebio Diagnostics Inc. (FDI). El presente ensayo de CA125 IRMA está basado en el uso de los anticuerpos monoclonales OC125 y M11, los cuales solo pueden ser adquiridos a través de FDI y sus distribuidores autorizados.

Literatura

- 1: Sölétormos G et al. *Clinical Use of Cancer Biomarkers in Epithelial Ovarian Cancer: Updated Guidelines from the European Group on Tumor Markers*. *Int J Gynecol Cancer*. 2016 Jan;26(1):43-51.
- 2: Ledermann JA et al. *Newly diagnosed and relapsed epithelial ovarian carcinoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up*. *Ann Oncol*. 2013 Oct;24 Suppl 6:vi24-32.
- 3: Vanderpuye VD et al. *Assessment of Adult Women with Ovarian Masses and Treatment of Epithelial Ovarian Cancer: ASCO Resource-Stratified Guideline*. *JCO Glob Oncol*. 2021 Jun;7:1032-1066.
- 4: Sturgeon CM et al. *National Academy of Clinical Biochemistry laboratory medicine practice guidelines for use of tumor markers in testicular, prostate, colorectal, breast, and ovarian cancers*. *Clin Chem*. 2008 Dec;54(12):e11-79.
- 5: Sturgeon CM, Duffy MJ, Walker G. *The National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE) guidelines for early detection of ovarian cancer: the pivotal role of the clinical laboratory*. *Ann Clin Biochem*. 2011 Jul;48(Pt 4):295-9.
- 6: *Ovarian cancer: identifying and managing familial and genetic risk*. London: National Institute for Health and Care Excellence (NICE); 2024 Mar 21.
- 7: *Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline—Second Edition*. CLSI document EP17-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.
- 8: *Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline—Third Edition*. CLSI document EP05-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.
- 9: *Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline*. CLSI document EP6-A. Wayne, PA; 2003.
- 10: *Clinical and Laboratory Standards Institute. Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline—Second Edition*. CLSI document EP7-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA; 2005.