

## CA15-3 [I-125] IRMA KIT

Código RK-153CT (RK-153CT50).  
Estuche para 100 (50) determinaciones.

Análisis inmunoradiométrico para la determinación cuantitativa *in vitro* del antígeno asociado al cáncer CA15-3 en suero humano, en el rango de 0-300 U/mL.

### Introducción

El CA15-3 es una glicoproteína de alto peso molecular codificada por el gen MUC-1. Este antígeno se ha caracterizado con anticuerpos monoclonales desarrollados contra extractos purificados de una fracción enriquecida con membrana de un carcinoma del seno humano (DF3) y contra antígenos de membranas de glóbulos de grasa láctea humana (115D8).

La concentración del CA15-3 se encuentra frecuentemente elevada en el suero de pacientes con cáncer de mama. Se pueden medir niveles elevados también en otras enfermedades malignas (ej. ovario y pulmón) y en afecciones no malignas de mama, endometriosis, inflamación pélvica y hepatitis. Además el embarazo y la lactancia pueden aumentar los niveles de CA15-3.

La determinación de CA15-3 no es útil para el pesquizado del cáncer de mama en mujeres asintomáticas. Su aplicación fundamental radica en la monitorización del tratamiento y el seguimiento post-terapéutico de pacientes con un cáncer confirmado y un nivel inicial elevado.

### Principio del ensayo

Este ensayo utiliza el principio del análisis inmunoradiométrico (IRMA) en fase sólida. Para ello emplea, en dos etapas de incubación, dos anticuerpos monoclonales que reconocen dos epítopes diferentes de la molécula: un anticuerpo "señal" marcado con radioyodo (DF3\*) y otro, conjugado a biotina, funciona como anticuerpo "captura" (115D8\*).

El inmunocomplejo formado por el antígeno con el anticuerpo "captura" se inmoviliza en la superficie de los tubos de ensayo recubiertos con streptavidina durante un primer paso de incubación de 1 hora bajo agitación constante. Luego se decantan y lavan los tubos para adicionar el anticuerpo "señal", el cual se enlaza al antígeno inmovilizado durante una segunda incubación de 1 hora bajo agitación constante. Después se decantan y lavan 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. Utilizando calibradores de concentración conocida de CA15-3 se prepara una curva de calibración a partir de la cual se determina por interpolación la concentración de CA15-3 presente en las muestras.

\*anticuerpos de Fujirebio Diagnostics Inc.



### Contenido del juego

1. TRAZADOR, 1 frasco (21 mL), listo para usar, contiene < 980 kBq de anti-CA15-3

marcado con <sup>125</sup>I en solución tampón con 0,1 % NaN<sub>3</sub> y colorante rojo.

2. ANTISUERO, 1 frasco (21 mL), listo para usar, contiene anti-CA15-3 conjugado a biotina, en solución tampón con 0,1 % NaN<sub>3</sub> y colorante azul.

3. DILUENTE (DIL), 1 frasco (10 mL) listo para usar, contiene suero equino tamponado y 0,1% de NaN<sub>3</sub>.

4. CALIBRADORES (S0-S5), 6 frascos (6 x 0,5 mL) listos para usar, contienen CA15-3 en suero humano y 0,1% de NaN<sub>3</sub>. La concentración se especifica en el certificado de calidad incluido. *La calibración de este ensayo se realizó utilizando como referencia el sistema Fujirebio Diagnostics Inc. CA15-3 RIA.*

5. SUEROS CONTROL, 2 frascos (2 x 0,5 mL) listos para usar, contienen CA15-3 en suero humano con 0,1% de NaN<sub>3</sub>. El rango de concentración se especifica en el certificado de calidad incluido.

6. SOLUCIÓN DE LAVADO, 1 frasco (40 mL) de solución concentrada a diluir con 1400 mL de agua destilada. Contiene 0,2 % de NaN<sub>3</sub>.

7. TUBOS RECUBIERTOS: 2x50 (RK-153CT) ó 1x50 (RK-153CT50) 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 (10 µL), agitador horizontal u orbital, lámina de polietileno, papel absorbente, contador gamma.

#### Materiales y equipos recomendados:

Pipeta de repetición (200 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 20 semanas. 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 300 U/mL deben ser diluidas con el diluyente y reanalizadas. Se recomienda una dilución de 1:10 (450 µL DIL + 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 (40 mL) debe diluirse con 1400 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.)

- Rotular los tubos recubiertos por duplicado para los calibradores (S0-S5), controles (CI-CII) y muestras (M). Marcar dos tubos no recubiertos para los totales (T).
- Añadir por duplicado 10 µL de calibrador, suero control y muestras en los tubos apropiados.
- Añadir 200 µL de antisuero en cada tubo (excepto T).
- 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. Agitar 1 hora a temperatura ambiente.
- Añadir 2.0 mL de solución de lavado a cada tubo. Aspirar o decantar el líquido de todos los tubos mediante la inversión de la gradilla. Colocar la gradilla sobre un papel absorbente por 2 minutos manteniendo la posición invertida.
- Repetir dos veces el procedimiento de lavado según el punto 5.
- Añadir 200 µL de trazador en cada tubo.
- 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 1 hora en el agitador a temperatura ambiente.
- Añadir 2.0 mL de solución de lavado a cada tubo. Aspirar o decantar el líquido de todos los tubos mediante la inversión de la gradilla. Colocar la gradilla sobre un papel absorbente por 2 minutos manteniendo la posición invertida.
- Repetir dos veces el procedimiento de lavado según el punto 9.
- Medir la radiactividad de cada tubo por 60 segundos en un contador gamma y calcular la concentración de CA15-3 en las muestras como se describe a continuación.

Tabla 1. Protocolo del ensayo (volúmenes en microlitros)

Tubos	T	S0-S5	CI-CII	M
Calibrador		10		
Control			10	
Muestra				10
Antisuero		200	200	200
Agitar 1 hora a temperatura ambiente				
Solución de lavado		2000	2000	2000
Decantar y secar en papel absorbente				
Repetir el proceso de lavado 2 veces más				
Trazador	200	200	200	200
Agitar 1 hora a temperatura ambiente				
Solución de lavado		2000	2000	2000
Decantar y secar en papel absorbente				
Repetir el proceso de lavado 2 veces más				
Medir la radiactividad (60 s/tubo)				
Procesar los datos				

## Cálculo de los resultados

En la Tabla 2 y la figura 1 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:

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

Construir una curva estándar ploteando las medias de cpm o, alternativamente, los valores B/T% contra la concentración de CA15-3 de cada calibrador.

Determinar la concentración de CA15-3 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%	CA15-3 U/mL
T	342248		
S0	161	0,05	
S1	6136	1,8	15
S2	12336	3,6	30
S3	24193	7,1	65
S4	42404	12,4	130
S5	76043	22,2	300
CI	10039	2,9	24,1
CII	19442	5,7	49,6

## Características del ensayo

### Especificidad

Los anticuerpos monoclonales utilizados en este ensayo garantizan la medición específica del CA15-3.

### Sensibilidad

En base a 120 determinaciones (60 de calibrador cero y 60 de muestras con baja concentración) y con un 95% de probabilidad, los límites de medición son:

Límite del Blanco (LoB): 0,24 U/mL

Límite de Detección (LoD): 1,35 U/mL

Para resultados por debajo del LoB, se debe reportar como "analito no detectado" y para resultados entre el LoB y el LoD se debe reportar "analito detectado, concentración menor que 1,35 U/mL".

### Precisión

La precisión intra-ensayo se determinó a partir de 20 réplicas de 4 muestras, medidas en una serie. Para determinar la precisión inter-ensayo se midieron por duplicado 4 muestras, en 15 series independientes. Los valores obtenidos se muestran a continuación.

Intra-ensayo		Inter-ensayo	
Media (U/mL)	CV%	Media (U/mL)	CV%
14,32	1,62	15,59	3,44
31,14	1,33	33,33	3,95
87,50	1,84	88,44	4,66
217,15	1,36	221,16	3,12

### Prueba de dilución (linealidad)

Se diluyeron al 1:10 cinco muestras de alta concentración (200 - 300 U/mL), utilizando el diluyente incluido y fueron sometidas a ensayo. Se obtuvieron los siguientes resultados, expresados como el porcentaje de la concentración medida sobre la esperada: 83,9%, 85,6%, 84,1%, 92,1% y 90,6%, respectivamente.

### 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 CA15-3 a 5 muestras de suero diferentes. La recuperación media obtenida fue de 105,9%, con un rango del 104% al 108%.

### Efecto Hook

No se observa efecto Hook con el uso del presente producto en concentraciones de CA15-3 hasta 7500 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	295
Media (U/mL)	14,67
Mediana (U/mL)	14,24
Muestras < 30 U/mL	294 (99,7%)
Muestras < 25 U/mL	287 (97,3%)

## Notas acerca del procedimiento

1. El no respeto de las instrucciones del presente inserto puede afectar los resultados significativamente.
2. No se deben mezclar los componentes de lotes diferentes o con productos de otro fabricante.
3. 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 CA15-3 no debe utilizarse como un test de pesquijaje.
- En algunos individuos sanos y pacientes con enfermedades no malignas se pueden encontrar valores de CA15-3 iguales o superiores a 30 U/mL.
- Los valores de CA15-3 inferiores a 30 U/mL no indican la ausencia de cáncer de mama 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 136 mg de NaN<sub>3</sub>.

	Fecha de vencimiento	<b>LOT</b>	Número de lote
	Almacenar entre 2 y 8 °C	<b>CONTROL</b>	Suero Control
	Precaución	<b>CAL</b>	Calibrador
	Peligro biológico	<b>CT</b>	Tubos recubiertos
	Consulte las instrucciones	<b>TRAC</b>	Trazador
	Dispositivo para diagnóstico <i>in vitro</i>	<b>WASHB</b>	Tampón de lavado
	Fabricante	<b>DIL</b>	Diluyente
<b>REF</b>	Número de referencia	<b>AS</b>	Antisuero
	Material radiactivo		

Sitio WEB: <http://www.izotop.hu>

E-mail técnico: [immuno@izotop.hu](mailto:immuno@izotop.hu)

E-mail comercial: [commerce@izotop.hu](mailto:commerce@izotop.hu)

**IZOTOP**

INSTITUTE OF ISOTOPES Ltd.

1535 Budapest. Pf.: 851.

Tel.: (36-1)392-2577, Fax: (36-1)395-9247

## Nota legal

CA15-3<sup>®</sup> es una marca registrada de Fujirebio Diagnostics Inc. (FDI). El presente ensayo de CA15-3 IRMA está basado en el uso de los anticuerpos monoclonales DF3 y 115D8, los cuales solo pueden ser adquiridos a través de FDI y sus distribuidores autorizados.

## Literatura

Ver sitio web: [www.izotop.hu](http://www.izotop.hu)