

# CA 15-3

## (Antígeno Carbohidrato 15-3)

### Uso Previsto:

El ensayo CA 15-3 es un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) para la determinación cuantitativa in vitro de antígeno carbohidrato 15-3 (CA 15-3) en suero humano.

### Resumen:

El antígeno carbohidrato 15-3 (CA 15-3) es un fragmento de epítipo MUC-1 de células de cáncer de mama, que es una glicoproteína. CA 15-3 presente en una variedad de cáncer, como el cáncer de mama, pulmón y ovario.

La prueba de CA 15-3 se utiliza para determinar la progresión y la metástasis del cáncer de mama, y el tratamiento de pruebas clínicas y las recaídas. Se ha reportado que cuando CA 15-3 > 100 kU/L, se pueden considerar lesiones metastásicas de cáncer de mama. Cuando el tratamiento es efectivo, alrededor del 50% de los pacientes, las concentraciones de CA 15-3 se redujeron significativamente; Las concentraciones de CA 15-3 son más sensibles que los criterios radiológicos y clínicos en el 96% de recurrencia local.

Este reactivo se utiliza principalmente para el control dinámico de pacientes con cáncer para determinar la progresión de la enfermedad o el efecto terapéutico auxiliar, pero su concentración no se correlaciona con el tamaño del tumor, el crecimiento y el grado de clasificación/estadificación de la malignidad. En algunas enfermedades benignas (como la enfermedad benigna de las mamas, la cirrosis, la hepatitis, etc.) también se puede observar que el índice aumenta en mayor o menor medida. Por lo tanto, el CA 15-3 no debe considerarse una prueba de detección general efectiva para la población general de detección de cáncer, diagnóstico temprano y otros fines.

### Principio de Prueba:

Duración total de la prueba: 75 minutos.

La prueba de CA 15-3 es un inmunoensayo que utiliza el "principio de sándwich", ligado a enzimas. Ensayo inmunológico de adsorción CA 15-3 en suero, se suministran en el kit pocillos de plástico recubiertos con anticuerpos monoclonales de CA 15-3. Se agrega la muestra del paciente y, durante la incubación, CA 15-3, si está presente, se fija al anticuerpo en fase sólida, cuando se agrega el monoanticuerpo marcado con HRP, se crea un "sándwich" de anticuerpo HRP-anticuerpo CA 15-3. Después de agregar el sustrato TMB, la densidad óptica de las muestras coloreadas se lee con un lector de microplacas a 450 nm.

### Materiales Proporcionados:

- Microplaca recubierta, 8 x 12 tiras, 96 pocillos, recubierta previamente con anticuerpos CA 15-3.
- Conjugado enzimático, 1 vial, 11 ml de HRP (peroxidasa de rábano picante) etiquetado. Contiene de conservante ProClin300.
- Calibradores, 5 viales de 0.5 ml cada uno, listos para usar; con concentraciones indicadas en cada envase.
- Control, 1 vial de 0.5 ml cada uno, listo para usar; con concentraciones indicadas en el envase.
- Cromógeno A: 1 vial de 7 ml. Listo para usar.
- Cromógeno B: 1 vial de 7 ml. Listo para usar.
- Solución de parada, 1 vial, 7 ml. Listo para usar.
- Concentrado de solución de lavado, 1 vial, 15 ml (concentrado 20X), Contiene fosfato, NaCl y Tween-20.
- Inserto: 1 copia.
- Tapa Placa: 1 pieza.

### Materiales Requeridos (Pero no provistos):

- Lector de microplacas con capacidad absorbente de longitudes de ondas de 450 nm y 620 nm.
- Micropipetas y micropipetas multicanal que suministran 50 µl y 100 µl con una precisión superior al 1,5%.
- Lavador de microplacas.
- Papel absorbente.
- Agua destilada o desmineralizada.

### Precauciones y Advertencias:

- Sólo para uso diagnóstico in vitro.
- Tome las precauciones normales requeridas para el manejo de todos los reactivos de laboratorio.
- La eliminación de todos los materiales de desecho debe realizarse de acuerdo con las pautas locales.
- No utilice reactivos más allá de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- No mezcle ni utilice componentes de kits con diferentes códigos de lote.
- Todos los desechos de muestras y reacciones deben considerarse potencialmente biopeligrosos. La manipulación de las muestras y los residuos de la reacción debe realizarse de acuerdo con las normativas y directrices locales.
- La solución de parada contiene ácido sulfúrico, que puede causar quemaduras graves. En caso de contacto con los ojos, lávense inmediata y abundantemente con agua y acúdate a un médico.
- Los ácidos neutralizados y otros desechos líquidos deben descontaminarse agregando un volumen suficiente de hipoclorito de sodio para obtener una concentración final de al menos 1,0%. Puede ser necesaria la exposición a hipoclorito de sodio al 1,0 % durante 30 minutos para garantizar una descontaminación eficaz.
- Algunos reactivos contienen 0,05 % o 0,1 % de ProClin 300 que puede causar sensibilización por contacto con la piel, por lo que debe evitarse. Los reactivos y sus recipientes deben desecharse de forma segura. En caso de ingestión, acúdate inmediatamente al médico y muéstrele la etiqueta o el envase.
- El sustrato tiene un efecto irritante sobre la piel y las mucosas. En caso de posible contacto, lavar los ojos con abundante agua y la piel con jabón y abundante agua. Lave los objetos contaminados antes de reutilizarlos. Si es inhalado, lleve a la persona al aire libre.
- Para obtener información sobre las sustancias peligrosas incluidas en el kit, consulte la Hoja de datos de seguridad de materiales (MSDS), que está disponible a pedido.

### Almacenamiento y Estabilidad:

- Almacenar a 2-8°C.
- Selle y devuelva los reactivos no utilizados a 2-8°C, en cuyas condiciones se mantendrá la estabilidad durante 2 meses o hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, lo que ocurra primero.

### Recolección y Preparación de Muestras:

- Se recomienda suero humano para esta prueba.
- Tapar y almacenar las muestras a 18-25°C por no más de 8 horas. Estable durante 7 días a 2-8°C y 1 mes a -20°C. Congelar una sola vez.
- No utilice muestras inactivadas por calor.
- Los sedimentos y los sólidos en suspensión en las muestras pueden interferir con el resultado de la prueba, por lo que se deben eliminar mediante centrifugación. Asegúrese de que se haya formado completamente el coágulo en las muestras de suero antes de la centrifugación.
- Evite muestras muy hemolíticas, lipémicas o turbias.
- Las muestras de suero con concentraciones esperadas superiores a 250 U/ml deben diluirse con solución salina normal.

### Control de Calidad:

Cada laboratorio debe tener controles de ensayo a niveles en el rango bajo, normal y elevado para monitorear el rendimiento del ensayo. Los controles deben tratarse como desconocidos y los valores deben determinarse en cada procedimiento de prueba realizado. El requisito de control recomendado para este ensayo es utilizar un control de veracidad por separado y analizarlos junto con las muestras en la misma serie. El resultado es válido si los valores de control se encuentran dentro de los rangos de concentración impresos en las etiquetas.

### Solución de Lavado (Dilución 20X):

Diluya 50 ml de Solución de Lavado Concentrada en 950 ml de agua desionizada, para un volumen final de 1000 ml. Estable por 1 semana temperatura ambiente.

### Procedimiento de Prueba:

- Utilice sólo el número de pocillos necesarios e identifique los pocillos de las microplacas para cada calibrador y muestra a realizar. Todos los calibradores y los controles deben establecer duplicado.
- Dispense 100 µl de calibrador/controles. Dispense 100 µl de dilución de muestra y 10 µl de muestra en los pocillos respectivos.
- Agite suavemente la microplaca durante 30 segundos para mezclar.
- Cubra la placa con la tapa placa e incuba a 37°C durante 30 minutos.
- Agregue 300 µl de solución de lavado, 10 segundos por cada lavado, decante (golpee y seque) o aspire. Repetir 2 veces adicionales para un total de 3 lavados. Un lavador automático de tiras de microplacas puede ser usado. Al final del lavado, invierta la placa y elimine cualquier residuo solución de lavado sobre papel absorbente.
- Agregue 100 µL de enzima conjugada a cada pocillo.
- Agite suavemente la microplaca durante 30 segundos para mezclar.
- Cubra la placa con la tapa placa e incuba a 37°C durante 30 minutos.
- Desechar el contenido de la microplaca por decantación o aspiración. Si decanta, golpee y seque la placa con papel absorbente.
- Agregue 300 µl de solución de lavado, 10 segundos por cada lavado, decante (golpee y seque) o aspire. Repetir 2 veces adicionales para un total de 3 lavados. Al final del lavado, invierta la placa y elimine cualquier residuo solución de lavado sobre papel absorbente.
- Dispense 50 µl de cromógeno A en cada pocillo.
- Dispense 50 µl de cromógeno B en cada pocillo.
- Agite suavemente la microplaca durante 30 segundos para mezclar.
- Cubra la placa con la tapa placa e incuba a 37°C durante 15 minutos
- Agregue 50 µl de solución de parada a cada pocillo.
- Agite de 15 a 20 segundos para mezclar el líquido dentro de los pocillos. Importante: Asegúrese de que el color cambie a amarillo por completo.
- Lea la absorbancia de cada pozo dentro de los primeros 10 minutos a 450nm (usando 620 a 630nm como longitud de onda secundaria para minimizar las imperfecciones del pocillo) en un lector de microplacas.

### Cálculo:

- Registre la absorbancia obtenida de la impresión del lector de microplacas.
- Calcule la absorbancia media de cualquier medición duplicada y utilice la media para el siguiente cálculo.
- Grafique el logaritmo común de absorbancia frente a la concentración en ng/mL para cada calibrador.
- Dibuje la curva que mejor se ajuste a través de los puntos trazados en papel cuadrículado lineal. Se sugiere el método punto a punto para generar una curva de calibración. Los siguientes datos son solo para demostración y no se pueden usar en lugar de las generaciones de datos en el momento del ensayo.

### Valores Esperados:

Pacientes saludables: 0~40U/ml.

### Precisión:

Interensayos≤20%

Intraensayos≤15%

La tasa de recuperación es del 85%~115%.

### Sensibilidad Funcional:

El límite de detección del ensayo es de aproximadamente 3.8 U/ml.

### Efecto de Gancho de Dosis Alta:

No se observó efecto gancho en esta prueba hasta 8000 U/ml.

