

# PATHOZYME® BREAST CANCER ANTIGEN 15-3

**Ref OD297** Inmuno análisis (EIA) de enzima para la determinación cuantitativa de CA 15-3 en el suero humano. Almacenar entre 2°C y 8°C. No congelar. Para uso exclusivo en diagnóstico in vitro.

## INTRODUCCION

El cáncer de seno es la forma más frecuente de cáncer (excluyendo los cánceres de la piel no melanomas) entre mujeres y es la causa líder de muerte por cáncer en mujeres cuyas edades oscilan entre los 40 y los 55 años. Uno de los marcadores clave para esta enfermedad es el Antígeno del Cáncer 15-3; hay otros marcadores como el CA549.

La CA15-3 es una glicoproteína del tipo Mucin con un alto peso molecular. Está localizada en el lado apical del alveolo y conduce en las glándulas mamarias y está presente como un antígeno circulante. El CA15-3 se encuentra en una cantidad mayor a 80% de los casos de cáncer del seno metastásico. Puede elevarse en condiciones benignas especialmente en los que son de origen hepático. Sin embargo, estos niveles elevados del CA15-3 rara vez pasan de 100 U/ml. El CA15-3 sólo se encuentra elevado en un 5% de los controles de salud.

No existe ninguna correlación entre los niveles de suero CA15-3, el estado de la enfermedad y la prognosis. Sin embargo, los niveles demasiado altos del CA15-3 (5 a 10 veces lo normal), tienden a indicar enfermedad avanzada y posiblemente la presencia de enfermedad metastásica. Los estudios han sugerido que hay una muy buena y general correlación entre los niveles cambiantes de CA15-3 y la respuesta a la terapia en el cáncer metastásico, pero no se puede confiar en esto último sin la presencia de datos clínicos confirmados.

También se aumentan los niveles de antígeno de cáncer 15-3 en tumores del colon, el pulmón y el hígado.

## USO PRETENDIDO

El antígeno PATHOZYME 15-3 del cáncer del seno es un inmunoensayo de enzima (EIA) para la determinación cuantitativa del antígeno 15-3 del cáncer del seno en suero humano. Es para uso profesional únicamente.

## PRINCIPIO DEL ENSAYO

La prueba ELISA CA15-3 está basada en el principio del análisis inmunoabsorbente de fase sólida de enzima conectada. El sistema del análisis usa un anticuerpo monoclonal dirigido contra un determinante antígeno distintivo. (sobre la placa de microtitration). Un anticuerpo de conejo anti CA15-3 conjugado a peroxidasa HORSERADISH (HRP) está en la solución conjugada de enzima-anticuerpo. Se le permite reaccionar a la muestra de prueba de forma secuencial con los dos anticuerpos dando como resultado que las moléculas CA15-3 sean emparejadas entre la fase sólida y los anticuerpos de enzima conectados. Después de dos pasos separados de incubación, se lavan los pozos con agua destilada para retirar los anticuerpos no unidos y marcados. Se añade una solución de reactivo TMB y se desarrollará un color sólo en los pozos en los cuales se encuentra la enzima, indicando así la presencia del antígeno del Cáncer 15-3. Se para el desarrollo del color al añadir solución de paro y así cambiarlo a amarillo. La concentración del CA15-3 es directamente proporcional a la intensidad del color en la muestra de prueba. En seguida, se mide la absorción de forma espectrofotométrica y a 450nm.

La prueba ha sido calibrada contra los estándares de la casa. No existe un estándar internacional para esta prueba.

## MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

Micropipetas: 100µl, 200µl and 1000µl  
Puntas de pipeta desechables  
Mezclador Vortex  
Incubadora con temperatura de 37°C +/- 1°C  
Papel absorbente  
Lector de microplaca con filtro 450nm.  
Papel gráfico  
Cristalería de laboratorio completamente limpia.

## PRECAUCIONES

El antígeno PATHOZYME 15-3 del cáncer del seno contiene materiales de origen humano los cuales han sido probados como negativo para los anticuerpos HCV, HIV I y II y el HBSAg por un procedimiento aprobado a nivel de donante único. Puesto que ninguna prueba puede asegurar con absoluta certeza que los productos derivados de origen humano no transmitan agentes infecciosos, se recomienda que los reactivos incluidos en este kit sean manejados con precaución y atención extrema durante su uso y su disposición. Todos los reactivos, sin embargo, deben tratarse como biopeligrosos potenciales tanto en su uso como en su eliminación. No se deben ingerir.

Los reactivos del antígeno PATHOZYME 15-3 del cáncer del seno no contienen sustancias peligrosas según se define en las regulaciones actuales sobre químicos (Información sobre peligros y empaque para el suministro) en el Reino Unido. Todos los reactivos deben, sin embargo, tratarse como biopeligrosos tanto en su utilización como en su eliminación. La eliminación final se debe efectuar en concordancia con la legislación local.

La solución de paro del antígeno PATHOZYME 15-3 del cáncer del seno es ácido clorhídrico diluido y por consiguiente es corrosivo. Maneje con cuidado. En caso de contacto, lave con abundante agua.

Los reactivos del antígeno PATHOZYME 15-3 del cáncer del seno contienen un 1% de Proclin™ 300\* como preservativo el cual puede ser tóxico si se ingiere. En caso de contacto, lave muy intensamente con agua corriente y busque atención médica.

\*Proclin™ 300 es una marca registrada de ROHM & HAAS

## ALMACENAMIENTO

Los reactivos deben almacenarse dentro de un rango de temperatura entre los 2°C y los 8°C.

La fecha de vencimiento del kit es el último día del mes indicado en la botella y en la etiqueta del kit. Este funcionará según las especificaciones hasta la fecha de vencimiento según se determina por la fecha de fabricación del producto la cual está indicada claramente en el kit y en sus componentes. No use los reactivos después de la fecha de vencimiento.

Evite la exposición de los reactivos a temperaturas extremas y no los exponga a la luz solar directa.

NO CONGELE NINGUNO DE LOS REACTIVOS. (a excepción de los estándares de almacenamiento). Esto puede causar daño irreversible.

## RECOLECCION Y PREPARACION DE LA MUESTRA

Obtenga una muestra de sangre venosa del paciente y permita que se forme un coágulo y que se retraiga. Enseguida centrifuge la muestra de sangre coagulada y recolecte el suero claro. Se requieren muestras de suero frescas.

No use suero contaminado ni HAEMOLYSED ni LIPAEMIC para las pruebas, ya que estas situaciones afectan adversamente los resultados.

El suero puede almacenarse dentro de un rango de temperaturas entre 2°C y 8°C hasta por un periodo de 48 horas antes de efectuar la prueba. Si se requiere un almacenamiento de mayor duración, hágalo a -20°C hasta por un año. Las muestras derretidas deben mezclarse antes de efectuar la prueba.

No use la azida de sodio como preservativo ya que esto puede inhibir el sistema de enzima peroxidasa

No repita el ciclo de congelar/descongelar de los especímenes ya que esto causará resultados falsos.

## PREPARACION DE LOS REACTIVOS

Todos los reactivos deben estar a temperatura ambiente (20°C a 25°C) y deben mezclarse suavemente antes de su uso. No induzca la formación de espuma

Para preparar el conjugado del antígeno anti(cáncer 15-3 HRP a su fuerza de trabajo, añada una parte de conjugado concentrado a 21 partes de diluyente conjugado (dilución 1/22). Se requieren 200µl para cada pozo. El reactivo diluido permanece estable a 2°C a 8°C por un periodo de cuatro meses.

## LIMITACIONES PARA EL USO

Se ha validado para esta prueba el uso de muestras diferentes al suero. Tampoco existe un protocolo de reutilización para este producto.

Al efectuar una interpretación de esta prueba se aconseja vehementemente tener en cuenta todos los datos clínicos. El diagnóstico no debe efectuarse basados únicamente en los resultados de un solo análisis clínico.

## CONTENIDO

Ref  
OD297



<b>Microtitre Plate</b>	12 x 8 pozos x 1
Pozos rompibles cubiertos con anticuerpo específico contenidos en una bolsa de hojilla metálica resellable con desecante.	
<b>Cal A</b> 0 U/ml	2 ml
Estándar de referencia: Suero humano libre de antígeno de cáncer 15-3. Listo para su uso. (Incoloro)	
<b>Cal B</b> 15 U/ml	2 ml
Estándar de referencia: Antígeno de cáncer 15-3 diluido en suero humano. Listo para su uso. (Incoloro)	
<b>Cal C</b> 30 U/ml	2 ml
Estándar de referencia: Antígeno de cáncer 15-3 diluido en suero humano. Listo para su uso. (Incoloro)	
<b>Cal D</b> 60U/ml	2 ml
Estándar de referencia: Antígeno de cáncer 15-3 diluido en suero humano. Listo para su uso. (Incoloro)	
<b>Cal E</b> 120U/ml	2 ml
Estándar de referencia: Antígeno de cáncer 15-3 diluido en suero humano. Listo para su uso. (Incoloro)	
<b>Cal F</b> 240U/ml	2 ml
Estándar de referencia: Antígeno de cáncer 15-3 diluido en suero humano. Listo para su uso. (Incoloro)	
<b>Conj</b> 22X	1 ml
Conjugado concentrado Antígeno anti-cáncer 15-3 HRP: Antígeno anti-cáncer 15-3 concentrado y conjugado a HORSERADISH peroxidasa. (Incoloro)	
<b>DIL</b> SPEC	2 X 50ml
Diluyente de muestra: Buffer basado en Fosfatasa con proteínas estabilizadoras. Fuerza de Trabajo. (Amarillo)	
<b>DIL</b> Conj	21 ml
Diluyente conjugado: Buffer basado en fosfato con proteínas estabilizadoras. Fuerza de trabajo (Rosado)	
<b>Subs</b> TMB	11 ml
Solución de sustrato: 3,3', 5,5'-Tetrametil bencidina en un citrato de BUFFER. Listo para su uso. (Incoloro)	
<b>Soln</b> Stop HCl 1M	11 ml
Solución de paro: Ácido clorhídrico diluido en agua purificada. Listo para su uso (Incoloro).	
Folleto de instrucciones y hoja de registro de datos EIA.	1 + 1

### PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

- Permita que todos los componentes del kit así como el suero de la prueba lleguen a la temperatura ambiente de 20°C a 25°C.
- Se deben usar un juego de estándares con cada grupo de suero de prueba. Asegure el número deseado de pozos cubiertos en el recipiente. Registre la posición de los estándares y del suero de prueba en la hoja de registro de datos EIA suministrada.
- Las tiras no utilizadas deben resellarse en la bolsa de hojilla metálica con disecante y usando el sello zip-lock antes de volverse a colocar a 2°C hasta 8°C.
- Test serum should be diluted before use. Mix 20µl of test serum with 1000µl of sample diluent. The CA 15-3 standards are pre-diluted and are ready for use.
- Distribuya 200µl de estándares y la muestra diluida a los pozos asignados y mezcle por 10 segundos.
- Incube por 60 minutos a 37°C.
- Al final de periodo de incubación elimine el contenido de los pozos sacudiendo el contenido a un contenedor biopeligroso. Luego, golpee los pozos firmemente contra papel absorbente. Asegúrese de que hay suficiente desinfectante en el contenedor biopeligroso.
- Lavada manual: Llene cada pozo con un mínimo de 300µl de agua destilada. Sacuda el contenido de la placa a un contenedor biopeligroso. Luego golpee los pozos firmemente contra papel absorbente.
- Golpee los pozos firmemente contra papel absorbente o contra una toalla de papel para quitar toda agua residual en gotitas.
- Lavado a Máquina Asegure que se distribuya en cada pozo 300µl de agua destilada y que un desinfectante apropiado es añadido a la botella recolectora de desperdicios. Lave los pozos vacíos 5 veces. Después de lavar, quite el exceso de líquido golpeando los pozos firmemente contra papel absorbente o contra una toalla de papel para retirar toda agua residual en gotitas.
- Distribuya 200µl de antígeno anti-cáncer 15.3 HRP conjugado a cada pozo y mezcle por 10 segundos.
- Incube la placa por 60 minutos a 37°C.
- Lave la placa según se indica arriba.
- Distribuya 100µl de solución de sustrato a cada pozo y mezcle suavemente por 10 segundos.
- Incube en la oscuridad por 20 minutos a temperatura ambiente (20°C-25°C).
- Pare la reacción añadiendo 100µl de solución D para a cada pozo.
- Mezcle suavemente por 30 segundos para asegurar que el color azul cambia completamente a color amarillo.
- Lea la densidad óptica inmediatamente (no mas tarde de 10 minutos). Usando el lector de microplaca con filtro 450nm.

### PREVENCIÓN DE INCONVENIENTES

Para ser usado por operarios con un mínimo de entrenamiento básico de laboratorio.

No use los componentes del kit que estén dañados ni contaminados.

Use una punta desechable y separada para cada muestra para prevenir contaminación cruzada.

Se recomienda, aunque no es absolutamente necesario, duplicar todos los estándares y especímenes.

Deben correrse los especímenes y los estándares al mismo tiempo para mantener las condiciones de la prueba iguales.

Se recomienda que no se usen mas de 32 pozos para cada tiraje de análisis si se usa una medición manual, ya que toda la medición de los estándares y los especímenes debe ser completada dentro de tres minutos. Si se usa una medición automática, puede usarse una placa completa de 96 pozos.

Tape todos los reactivos inmediatamente después de usarse.

Evite la medición con pipeta repetida desde los reactivos guardados ya que esto puede causar contaminación.

No mezcle los reactivos ni las tiras cubiertas de anticuerpo de diferentes kits. Al eliminar, hay que tener cuidado de no tocar la superficie del pozo.

No permita que los reactivos se escurran a los lados del pozo. Antes de comenzar el análisis los reactivos deben estar a temperatura ambiente (20°C-25°C). Mezcle suavemente los reactivos por inversión o por giro.

Una vez que se haya iniciado un análisis, no se debe permitir que los pozos se sequen durante el análisis.

No contamine la solución de sustrato ya que ésto tomará todo el kit inoperante.

Revise la precisión y exactitud del equipo de laboratorio utilizado durante el procedimiento para así garantizar resultados reproducibles.

Las tiras no usadas deben resellarse en la bolsa de hojilla metálica con disecante. Use el cierre zip.lock antes de almacenar a 2°C a 8°C.

### CALCULO DE LOS RESULTADOS

Calcule el valor de absorción medio (A450) para cada juego de estándares y de especímenes. Construya una curva estándar sobre papel gráfico plotando la absorción media de cada suero contra su concentración en ng/ml. Use los valores medios de absorción para cada espécimen para determinar la correspondiente concentración de AFP en ng/ml de la curva estándar. Si los niveles de controles o de las muestras de los usuarios conocidas no arrojan los resultados esperados, éstos deben considerarse no válidos.

Si usa un paquete de software, escoja una curva de regresión cuadrática que encaje.

### VALORES ESPERADOS Y SENSIBILIDAD

La gráfica producida por los calibradores debe ser hiperbólica en su forma con el OD450 de los calibradores proporcional a su concentración. El OD del calibrador A debe ser inferior a 0.5 y el OD del calibrador F mayor que 1.1 para que los resultados del análisis sean válidos.

Se espera que las mujeres saludables tengan valores de análisis del antígeno de cancer 15-3 por debajo de 35 U/ml. Se estima que la concentración mínima detectable del antígeno del cáncer 15-3 por antígeno PATHOZYME 15-3 del cancer del seno es de 5U/ml.

### DATOS EVALUATIVOS

Calibrado contra los competidores principales y contra los estándares de la casa.

El coeficiente de variación del antígeno PATHOZYME 15-3 del cancer del seno es menos o igual a 10%.

Se generaron los siguientes datos en una evaluación efectuada entre el kit Omega Pathozyme CA 15-3 y el kit Abbott AxSym en muestras con niveles entre 8.0 U/ml y 2000 U/ml:

Número de muestras	63
Correlación del coeficiente	0.97
Pendiente	0.93
Intercepción	10.2
Medio del Omega	209.9 U/ml
Medio del Abbott	197 U/ml

Los kits demostraron arrojar Buena correlación.

### REFERENCIAS

- Aziz D. C. Quantitation of estrogen and progesterone receptors by immunocytochemical and image analysis. *AJ. Clin. Pathol.* 1992;98:105-11.
- Aziz DC, Peter J. B. DNA ploidy and cell cycle analysis. Tools for assessment of cancer prognosis. *J. Clin. Pathol.* 1991;5:422-38.
- Clark GM, Dressler LG, Owens MA, Dounds G, Oldaker T, McGuire W.L. Prediction of relapse or survival in patients with node-negative breast cancer by DNA flow cytometry. *N. Engl. J. Med.* 1989;320:627-33.
- Elledge RM, McGuire W. L. Prognostic factors and therapeutic decisions in axillary node-negative breast cancer. *Annu. Rev. Med.* 1993;44:201-10.
- Foekens JA, Rio C, Seguin P. et al. Prediction of relapse and survival in breast cancer patients by p52 protein. *Cancer. Res.* 1990 50:3832-7.
- Isola H, Visakorpi T, Holli K, Kallioniemi D. Association of p53 expression with other prognostic factors and long term survival in node-negative breast cancer. *J. Cell. Biochem.* 1992;(Suppl 16D):101.
- Kute TE, Shao ZM, Snugg NK, Long RT, Russell GB, Case L. D. Cathepsin D as a prognostic indicator for node-negative breast cancer patients using both immunoassays and enzymatic assays. *Cancer. Res.* 1992;52:198-203.
- McGuire WL, Tandon AK, Allred D, Charnes G.C., Clark, G. M. How to use prognostic factors in axillary node-negative patients. *J. Natl. Cancer Inst.* 1990;82:1006-7.
- Nicholson S, Richard J, Sainsbury C. et al. Epidermal growth factor receptor (EGFR): results of a 6 year follow up study in operable breast cancer with emphasis on the node-negative subgroup. *Br. J. Cancer* 1991;63:146-50.
- Somerville JE, Clarke LA, Biggart J. D. C-erb B-2 overexpression and histological type of in-situ and invasive breast carcinoma. *J. Clin. Pathol.* 1992;45:16-20.
- Ueronesi S, Gambocorta M. Detection of Ki-67 rate in breast cancer. *Am. J. Clin. Pathol.* 1991;95:30-4.
- Lotnick M, Pavesi F, Scarabelli M. Tumour associated antigens CA-15-3 and CA-125 in ovarian cancer. *Int. J. Biolog. Markers* 1991;6:115.

### GUIA RAPIDA DEL PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

- Dispense en cada pozo 200 µL de los Estándares diluidos y mezcle adecuadamente por espacio de 10 segundos.
- Incube durante 60 minutos a temperatura ambiente.
- Descarte el contenido de los pozos y lave 5 veces con agua destilada.
- Dispense en cada pozo 200 µL del conjugado Anti-Cancer Antigen 15-3 HRP y mezcle adecuadamente por espacio de 10 segundos.
- Incube durante 60 minutos a temperatura ambiente.
- Descarte el contenido de los pozos y lave 5 veces con agua destilada.
- Dispense 100 µL de sustrato en cada pozo. Mezcle adecuadamente por espacio de 10 segundos.
- Incube en la oscuridad por 20 minutos a temperatura ambiente.
- Adicione en cada pozo 100 µL de Solución de Parada y agite por 30 segundos.
- Lea inmediatamente, (antes de transcurridos 10 minutos) la densidad óptica de cada pozo utilizando un filtro de 450nm.

8079 ISSUE 5A Revised January 2007 SPANISH  
© Omega Diagnostics Ltd 2007.



OMEGA DIAGNOSTICS LTD.  
Omega House, Hillfoots Business Village  
Alva FK12 5DQ, Scotland, United Kingdom  
odl@omegadiagnostics.co.uk  
www.omegadiagnostics.com  
AN ISO 9001 AND ISO 13485 CERTIFIED COMPANY